

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
Faculdade de Veterinária
Programa de Pós-Graduação em Veterinária



Tese

Terapia Antirretroviral no Controle do Vírus da Imunodeficiência Felina

Fábio da Silva e Silva

Pelotas, 2017

Fábio da Silva e Silva

Terapia Antirretroviral no Controle do Vírus da Imunodeficiência Felina

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Veterinária da Faculdade de Veterinária da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Doutor em Ciências (área de concentração: Sanidade Animal).

Orientadora: Silvia de Oliveira Hübner

Coorientador: Marcelo de Lima

Pelotas, 2017

S586t Silva, Fábio da Silva e

Terapia Antirretroviral no Controle do Vírus da Imunodeficiência Felina. / Fábio da Silva e Silva ; Sílvia de Oliveira Hübner, orientadora ; Marcelo de Lima, coorientador. — Pelotas, 2017.

50 f.

Tese (Doutorado) — Programa de Pós-Graduação em Veterinária, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas, 2017.

1. Gatos. 2. Vírus da imunodeficiência felina. 3. Antirretroviral. 4. Raltegravir. I. Hübner, Sílvia de Oliveira, orient. II. Lima, Marcelo de, coorient. III. Título.

CDD : 636.089

Fábio da Silva e Silva

Terapia Antirretroviral no Controle do Vírus da Imunodeficiência Felina

Tese aprovada como requisito parcial para obtenção do grau de Doutor em Ciências, Programa de Pós-Graduação em Veterinária, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas.

Data da Defesa: 30/08/2017

Banca examinadora:

Prof. Dra. Silvia de Oliveira Hübner (Orientadora)
Doutora em Ciência Veterinária pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Prof. Dr. Antonio Sergio Varelo Junior
Doutor em Aquicultura pela Universidade Federal do Rio Grande

Dra. Ana Paula Neuschrack Albano
Doutora em Veterinária pela Universidade Federal de Pelotas

Dra. Paula Fonseca Finger
Doutora em Veterinária pela Universidade Federal de Pelotas

Dedico esse trabalho a meus pais (*in memoriam*).

Agradecimentos

Agradeço primeiramente à minha esposa Débora Scopel e Silva (Dedé) e meu filho Francisco Scopel e Silva (Kiko), por serem a grande motivação da minha vida, amo vocês.

Agradeço também aos meus pacientes felinos e seus respectivos tutores que participaram do meu estudo e dessa maneira contribuíram para o desenvolvimento do meu projeto de doutorado. Gigi, Miguinha, Rodrigo, Chivita, Guina, Mimosinho, Beto, Das Neves, Minerva e Pantera vocês estão de parabéns, pois deram o sangue (literalmente) para que tudo isso acontecesse.

E por último agradeço aos meus orientadores Silvia e Marcelo, que me auxiliaram ao longo dessa trajetória, compartilhando comigo seus conhecimentos e suas vivências na área da virologia e imunologia. Muito obrigada pela paciência, compreensão e amizade.

Que nunca falte: el camino que lleva, la fuerza que levanta, el amor que humaniza y la razón que equilibra.

Resumo

SILVA, Fábio da Silva e. **Terapia Antirretroviral no Controle do Vírus da Imunodeficiência Felina**. 2017. 50f. Tese (Doutorado em Ciências) – Programa de Pós-Graduação em Veterinária, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2017.

O vírus da imunodeficiência felina (FIV) apresenta estrutura molecular similar ao vírus da imunodeficiência humana (HIV) e pode assim causar síndrome de imunodeficiência adquirida em gatos, estando o tratamento antirretroviral indicado em animais acometidos por infecções recorrentes, neuropatias e gengivoestomatite crônica. Entretanto, a zidovudina, apresenta-se como o único fármaco anti-HIV recomendado para tratamento de gatos infectados pelo FIV, sendo a ação da maioria das drogas antirretrovirais desconhecida diante do agente. Dessa maneira, o presente trabalho teve como objetivo avaliar a ação terapêutica do fármaco raltegravir em gatos naturalmente infectados por FIV, mediante a análise de imunofenotipagem e carga viral plasmática pré, trans e pós terapia. A pesquisa foi conduzida a partir da avaliação de nove gatos com infecção por FIV provenientes da rotina de atendimento médico do Hospital de Clínicas Veterinária da UFPel durante o ano de 2016. Esses animais foram classificados em dois grupos: o grupo 1 (G1) composto de cinco animais FIV positivos submetidos ao tratamento com o fármaco raltegravir e o grupo 2 (G2) constituído de quatro animais FIV positivos não tratados com o antirretroviral. Cada animal foi submetido a 3 avaliações em momentos distintos, a 1ª avaliação (pré-terapia) foi realizada até 2 dias antes do início do tratamento, a 2ª avaliação (trans-terapia) entre o 10º e 12º dia de tratamento e a 3ª avaliação (pós-terapia) realizada até dois dias após a suspensão do medicamento. A dose de 40mg/ gato a cada 12h, via oral, administrada por 21 dias demonstrou-se tolerável e segura nos gatos, pois não induziu nenhuma reação adversa durante o tratamento. Contudo a contagem de linfócitos CD4⁺ e o quociente CD4⁺/CD8⁺ não demonstrou elevação de valores, assim como a carga viral plasmática não apresentou supressão após o tratamento com raltegravir pelo mesmo período. Sendo assim, não foi possível estabelecer atividade antiviral *in vivo* do antirretroviral raltegravir diante do FIV.

Palavras-chave: gatos; vírus da imunodeficiência felina; antirretroviral; raltegravir

Abstract

SILVA, Fábio da Silva e. **Antiretroviral therapy in the control of feline immunodeficiency virus**. 2017. 50f. Thesis (Doctor Degree in Sciences) - Programa de Pós-Graduação em Veterinária, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2017.

Feline immunodeficiency virus (FIV) presents molecular structure similar to the human immunodeficiency virus (HIV) and can cause acquired immunodeficiency syndrome in cats, this way the antiretroviral therapy is encouraged in animals affected by recurrent infections, neuropathy and chronic gingivostomatitis. However, zidovudine is the only anti-HIV drug recommended for the treatment of FIV infected cats, being unknown the action of most of the antiretroviral drugs against the virus. In that way, the present work had the objective of evaluating the therapeutic action of raltegravir in cats naturally infected by FIV, through immunofenotyping and plasma viral load before, trans and after-therapy. The research was conducted by evaluating 9 cats naturally infected by FIV from the medical routine of the Veterinary Clinics Hospital (UFPel) during the year of 2016. These animals were classified in two groups: group 1 (G1) composed by 5 FIV positive animals treated with raltegravir and group 2 (G2) with 4 FIV positive animals non-treated with the antiretroviral. Each animal was submitted to 3 evaluations in distinct moments, the first evaluation (before therapy) was performed until two days before the beginning of the treatment, the second evaluation (trans-therapy) was between the 10th and the 12th day of treatment and the third evaluation (after-therapy) was performed until two days after the suspension of the drug. The dose of 40mg/ cat q 12h, PO, administered for 21 days has showed to be tolerable and safe in the cats, because it did not induce any adverse reaction during the treatment. However, the CD4⁺ lymphocyte count and the CD4⁺/CD8⁺ quotient did not show elevation of values, as well as the plasma viral load did not present suppression after the treatment with raltegravir for the same period. Thus, it was not possible to establish *in vivo* antiviral activity of the antiretroviral raltegravir against FIV.

Keywords: cats; feline immunodeficiency virus; antiretroviral; raltegravir

Lista de Tabelas

Artigo 1

Tabela 1	Principais drogas antirretrovirais aprovadas pela Food and Drug Administration.....	18
----------	---	----

Artigo 2

Tabela 1	Escala clínica de Gil et al. (2013) modificada.....	35
Tabela 2	Média \pm erro padrão das análises de imunofenotipagem dos animais pertencentes ao grupo G1.....	36
Tabela 3	Média (amplitude) das análises de escore clínico e carga viral plasmática dos animais pertencentes aos grupos G1 e G2.....	38

Lista de Abreviaturas e Siglas

ABCD	European Advisory Board on Cat Disease
AIDS	Síndrome da imunodeficiência adquirida
AZT	Zidovudina
FeLV	Vírus da leucemia felina
FDA	Food and Drug Administration
FIV	Vírus da imunodeficiência felina
HAART	Highly active antiretroviral therapy
HIV	Vírus da imunodeficiência humana
IN	Integrase
IP	Inibidor de protease
ITRN	Inibidor da transcriptase reversa análogo de nucleosídeos
ITRNt	Inibidor da transcriptase reversa análogo de nucleotídeos
ITRNN	Inibidor da transcriptase reversa não-análogo de nucleosídeos
PCR	Reação em cadeia da polimerase
PIF	Peritonite infecciosa felina
PR	Protease
TARV	Terapia antirretroviral
RT	Transcriptase reversa

Lista de Símbolos

<	Menor
>	Maior
™	<i>Trademark</i>
®	Marca registrada
μl	Microlitro
ng	Nanograma
mg	Miligrama

Sumário

1 Introdução.....	12
2 Artigos.....	15
2.1 Artigo 1.....	15
2.2 Artigo 2.....	30
3 Considerações Finais.....	41
Referências.....	42
Anexo.....	49

1 Introdução

O vírus da imunodeficiência felina pertence à família *Retroviridae*, gênero *Lentivirus* e apresenta estrutura molecular e patogenia similar ao vírus da imunodeficiência humana (HIV), entretanto, não é transmissível ao homem, sendo suscetíveis somente os felinos domésticos e selvagens (HOSIE et al., 2009).

O genoma do FIV é composto de três grandes regiões denominadas de *Gag*, *Pol* e *Env*. A região *Gag* codifica as proteínas estruturais internas, representadas pela matriz (MA), capsídeo (CA) e nucleocapsídeo (NC). A porção *Pol* é responsável pela síntese das enzimas transcriptase reversa (RT), integrase (IN) e protease (PR). E a região *Env* codifica as proteínas do envelope viral, sendo elas a glicoproteína de superfície (SU), gp120 e a glicoproteína de transmembrana (TM), gp41. Além das três grandes regiões genômicas, o FIV também apresenta os genes acessórios *Vif*, *OrfA* e *Rev*, responsáveis pela neutralização de citocinas da célula hospedeira, ativação da transcrição e exportação do núcleo viral durante a replicação (KENYON; LEVER, 2011).

A partir da análise da sequência de nucleotídeos do gene *Env* das regiões variáveis 3-5, o FIV é classificado em cinco subtipos filogeneticamente diferentes, de A a E, além de cepas recombinantes. Os subtipos A, B e C estão mundialmente distribuídos, sendo o subtipo D encontrado somente no Japão e Vietnã e o subtipo E identificado na Argentina (PECORARO et al., 1996; BACHMANN et al., 1997; TEIXEIRA et al., 2010). Recentemente dois novos subtipos foram descritos, o subtipo F identificado nos Estados Unidos e Portugal, e o subtipo U-NZenv encontrado na Nova Zelândia (HAYWARD et al., 2009; GRACE et al., 2011). No Brasil pouco se conhece sobre a diversidade genética do FIV. Até o momento a caracterização filogenética foi realizada nos estados de Minas Gerais, São Paulo, Rio de Janeiro e Rio Grande do Sul, identificando-se somente o subtipo B (CAXITO et al., 2006; LARA et al., 2007; MARTINS et al., 2008; SILVA et al., 2014).

A imunossupressão observada nos animais infectados pelo FIV é o resultado da depleção dos linfócitos T auxiliares (CD4⁺), que leva a uma inversão da relação CD4/CD8. Paralelo a diminuição da contagem de linfócitos T CD4⁺ o FIV determina

um quadro de hipergamaglobulinemia decorrente da elevação de linfócitos B CD21 (TAKANO et al., 2012).

As infecções crônicas, secundárias ou associadas, causadas por agentes infecciosos comensais ou patogênicos são frequentes em felinos com FIV, levando a complicações representadas por quadros de enterite, dermatite, gengivite e doença respiratória crônica (ZANUTTO et al., 2011). Gatos FIV positivos também apresentam cinco vezes mais chance de desenvolver linfoma ou leucemia do que gatos não infectados, e os pacientes em viremia podem apresentar uveíte e glomerulonefrite por deposição de imunocomplexos (HARTMANN et al., 2011). Aproximadamente 5% dos felinos infectados por FIV apresentam encefalite, podendo desenvolver distúrbios de comportamento, demência, convulsão e déficit motor (MURPHY et al., 1999).

Os sinais clínicos de gatos com FIV não são suficientes para confirmar a infecção. Portanto, o diagnóstico deve ser realizado pela detecção de anticorpos pelo teste de imunoabsorção enzimática (ELISA) e confirmado pela técnica de reação em cadeia da polimerase (PCR) ou Western blotting (TIZARD, 2009), pois reações positivas falsas são comuns no teste de ELISA (VEIR et al., 2010).

O tratamento de gatos FIV positivos é efetuado somente em animais com manifestação clínica e direcionado ao controle da doença relacionada, porém em gatos acometidos por infecções recorrentes, neuropatias e gengivoestomatite crônica a terapia antirretroviral (TARV) deve ser considerada (HARTMANN, 2015).

A maioria dos antirretrovirais testados em gatos FIV positivos foram desenvolvidos para tratamento da infecção por HIV, baseando-se no fato de que as enzimas de replicação desses retrovírus apresentam homologia molecular (HARTMANN, 2015). Entretanto, o antirretroviral zidovudina (AZT) pertencente à classe dos inibidores da transcriptase reversa análogos de nucleosídeos (ITRN), apresenta-se como o único fármaco anti-HIV recomendado pela ABCD (European Advisory Board on Cat Disease) para o tratamento do FIV (HOSIE et al., 2009).

Recentemente o antirretroviral raltegravir foi testado em gatos com retrovirose experimental induzida pelo vírus da leucemia felina (FeLV) e demonstrou supressão de carga viral plasmática sem a ocorrência de efeitos adversos nos animais submetidos ao tratamento (BOESCH et al., 2015).

Considerando-se que a ação da maioria das drogas antirretrovirais disponíveis para tratamento do HIV é desconhecida diante do FIV no modelo *in vivo* (SILVA et al., 2016), o presente trabalho teve como objetivo avaliar a ação terapêutica do fármaco

raltegravir em gatos naturalmente infectados pelo FIV, mediante a análise de imunofenotipagem e carga viral plasmática pré, trans e pós terapia.

2 Artigos

2.1 Artigo 1

Terapia Antirretroviral no Controle da Infecção pelo Vírus da Imunodeficiência Felina: Revisão e Perspectivas

Fábio da Silva e Silva; Débora Scopel e Silva; Gilberto D'Avila Vargas; Geferson
Fischer; Marcelo de Lima; Silvia de Oliveira Hübner

Artigo publicado na Revista Science and Animal Health, v.4, n.3 (2016)

TERAPIA ANTIRRETROVIRAL NO CONTROLE DA INFECÇÃO PELO VÍRUS DA IMUNODEFICIÊNCIA FELINA: REVISÃO E PERSPECTIVAS

SILVA, Fábio da Silva e¹;
SILVA, Débora Scopel e²;
VARGAS, Gilberto D'Avila³;
FISCHER, Geferson³;
LIMA, Marcelo de³;
HÜBNER, Sílvia de Oliveira³.

¹Médico Veterinário, Mestre, Faculdade de Veterinária, UFPEL;

²Médica Veterinária, Doutoranda do Programa de Pós-Graduação em Veterinária, UFPEL;

³Médico(a) Veterinário(a), Professor(a), Doutor(a), Departamento de Veterinária Preventiva, UFPEL.

RESUMO

O vírus da imunodeficiência felina (FIV) pertence à família *Retroviridae* e apresenta estrutura molecular e patogenia similar ao vírus da imunodeficiência humana (HIV). A infecção pelo FIV pode determinar síndrome de imunodeficiência adquirida em gatos (AIDS felina). A eficácia do tratamento em humanos com HIV é obtida com uma combinação de drogas com diferentes mecanismos de ação que promovem a inibição de fases críticas do ciclo de replicação dos retrovírus, sendo tal esquema terapêutico denominado pela sigla HAART (Highly Active Antiretroviral Therapy). Antirretrovirais como zidovudina, lamivudina, fozivudina, estampidina, TL3 e plerixafor foram testados *in vivo* frente ao FIV no regime de monoterapia e induziram supressão de carga viral. Seguindo a tendência de tratamento anti-HIV, futuros estudos devem testar fármacos antirretrovirais em regime de associação, com o propósito de desenvolver-se um protocolo HAART em medicina felina. A presente revisão tem o objetivo de discutir e propor condutas na terapia antirretroviral (TARV) em felinos, além de apresentar os principais fármacos antirretrovirais com eficácia comprovada frente ao FIV.

Palavras-chave: Gato. Lentivirus. Terapêutica.

INTRODUÇÃO

O vírus da imunodeficiência felina (FIV) pertence à família *Retroviridae*, gênero *Lentivirus* e apresenta estrutura molecular e patogenia similar ao vírus da imunodeficiência humana (HIV), entretanto, somente os felinos domésticos e selvagens são suscetíveis (HOSIE et al., 2009). O FIV é considerado um agente cosmopolita e apresenta prevalência variável de acordo com a área geográfica, com o comportamento e o estado de saúde dos gatos estudados. Nos Estados Unidos e Canadá, valores de prevalência de 1 a 7% foram encontrados, enquanto que no Japão a taxa de prevalência reportada foi de 44% (HAYWARD; RODRIGO, 2009). Um estudo realizado no estado de São Paulo, incluindo 454 felinos oriundos de 13 cidades, demonstrou que 14,7% (67/454) dos gatos estavam infectados (LARA et al., 2007) e no Rio Grande do Sul, uma investigação epidemiológica realizada na cidade de Pelotas e adjacências constatou uma frequência de infecção de 15,7% (11/70) nos gatos analisados (SILVA et al., 2014).

O FIV é classificado em sete subtipos distribuídos mundialmente, sendo eles o subtipo A, B, C, D, E, F e U-NZenv, além de cepas recombinantes (HAYWARD; RODRIGO, 2009; GRACE, 2011). No Brasil, pouco se conhece sobre a diversidade genética do FIV. Até o momento a caracterização molecular foi realizada nos estados de Minas Gerais, São Paulo, Rio de Janeiro e Rio Grande do Sul, identificando-se somente o subtipo B (CAXITO et al.; 2006; LARA et al., 2007; MARTINS et al., 2008; SILVA et al., 2014).

Assim como ocorre em humanos infectados pelo HIV, a infecção pelo FIV pode determinar síndrome de imunodeficiência adquirida em gatos (AIDS felina), caracterizada pela ocorrência de infecções oportunistas, doença neurológica e neoplasmas (HARTMANN, 2012a). O tratamento de rotina é direcionado ao controle da doença relacionada ao FIV, porém em gatos acometidos por infecções recorrentes, neuropatias e gengivoestomatite o uso de antirretrovirais deve ser considerado (HARTMANN, 2015).

A maioria dos antirretrovirais testados em gatos com FIV são licenciados para uso humano no tratamento do HIV, pois as enzimas de replicação do FIV e do HIV apresentam homologia molecular e similar sensibilidade a esses fármacos (HARTMANN, 2015). Em humanos infectados pelo HIV a eficácia terapêutica é obtida com uma combinação de drogas que promovem a inibição de fases críticas do ciclo de replicação dos retrovírus. Tal protocolo de associação de fármacos é denominado pela sigla HAART (Highly Active Antiretroviral Therapy), popularmente conhecido como “coquetel anti-AIDS” (PEÇANHA; ANTUNES, 2002; GRANICH et al., 2010), terapia antirretroviral combinada de alta potência. A HAART promove maior

eficácia antiviral e menor indução de resistência, em comparação ao tratamento com fármaco antirretroviral único (GÜNTARD et al., 2014).

Ainda que experimentos *in vivo* já tenham demonstrado atividade de alguns fármacos antirretrovirais diante do FIV, o esquema HAART necessita de evidência médica para ser adotado no tratamento de gatos infectados, pois os estudos realizados foram conduzidos em regime de monoterapia e em curto período de tempo (HARTMANN, 2015). Seguindo a tendência dos protocolos de tratamento anti-HIV, futuros ensaios clínicos referentes ao tratamento de gatos infectados pelo FIV devem priorizar o esquema de tratamento antirretroviral combinado.

A presente revisão tem o objetivo de descrever o mecanismo de ação dos antirretrovirais, propor recomendações futuras na terapia antirretroviral (TARV) em felinos e apresentar os principais fármacos antirretrovirais com eficácia comprovada frente ao FIV.

MECANISMO DE AÇÃO DOS ANTIRRETROVIRAIS

Tabela 1. Principais drogas antirretrovirais aprovadas pela *Food and Drug Administration*.

Classe farmacológica	Drogas antirretrovirais
ITRN	Abacavir, Didanosina, Emtricitabina, Estavudina, Lamivudina, Zalcitabina, Zidovudina
ITRnt	Tenofovir
ITRNN	Delavirdina, Efavirenz, Etravirina, Idinavir, Nelfinavir, Nevirapina, Ritonavir, Saquinavir
IP	Atazanavir, Darunavir, Fosamprenavir, lopinavir, Tipranavir
Inibidor da integrase	Raltegravir
Inibidor de fusão	Enfuvirtida, maraviroc

Fonte: Mohammadi e Bienzle, 2012

Os retrovírus sintetizam três enzimas fundamentais para a sua replicação na célula hospedeira, são elas a transcriptase reversa (TR), integrase (IN) e protease (PR) (KENYON;

LEVER, 2011). Com o objetivo de interromper o ciclo replicativo do vírus a maioria das drogas antirretrovirais atua inibindo essas enzimas (PEÇANHA; ANTUNES, 2002).

Em torno de 30 medicamentos antirretrovirais, com mecanismos de ação diferentes, já foram aprovados nos Estados Unidos pela FDA (*Food and Drug Administration*) para tratamento do HIV. Esses fármacos estão distribuídos em seis classes principais (Tab. 1): inibidores da transcriptase reversa análogos de nucleosídeos (ITRN), inibidores da transcriptase reversa análogos de nucleotídeos (ITRNT), inibidores da transcriptase reversa não-análogos de nucleosídeos (ITRNN), inibidores da protease (IP), inibidores da integrase e inibidores de fusão (MOHAMMADI; BIENZLE, 2012).

Os retrovírus apresentam duas fitas de RNA de polaridade positiva, mas o RNA genômico ao invés de ser traduzido pelos ribossomos, é convertido em uma molécula de DNA fita dupla, pela enzima TR presente nos vírions. Essa molécula de DNA (provírus) é integrada ao genoma da célula hospedeira, e posteriormente transcrita pela RNA polimerase II. A transcrição resulta em mRNAs para a síntese de proteínas estruturais e da enzima TR, e em cópias do RNA genômico, que são então incluídos nas novas partículas víricas (KENYON; LEVER, 2011). Diante da ausência de uma enzima análoga à TR em células humanas, a inibição da TR tornou-se o principal alvo terapêutico para o tratamento da infecção por HIV (MOHAMMADI; BIENZLE, 2012).

Os ITRN atuam basicamente bloqueando a síntese de DNA pró-viral por uma ação competitiva com os nucleosídeos naturais. Um destes inibidores, a zidovudina (AZT), atua competindo com a incorporação de timidina induzindo o término precoce da replicação da cadeia de DNA viral. Os ITRNT apresentam estrutura similar a dos ITRN, mas ao contrário desses, apresentam um grupo fosforado em sua composição, não requerendo fosforilação enzimática intracelular (PEREIRA; PARIDAEN, 2004). Já os ITRNN são pequenas moléculas que atuam por ligação em sítios específicos da transcriptase reversa de forma não competitiva (AUWERX et al., 2004).

A enzima protease é responsável pela clivagem das poliproteínas *gag* e *gag-pol* durante a maturação viral, transformando-as em proteínas estruturais e enzimas virais. Os antirretrovirais IP são compostos peptidomiméticos que se ligam no sítio ativo da enzima protease e impedem a clivagem das poliproteínas virais, dessa maneira não há formação das proteínas estruturais, das enzimas transcriptase reversa, integrase e da própria protease. Consequentemente ocorre apenas a produção de vírions não infectivos (ANDERSON et al., 2009).

A classe dos inibidores da integrase e dos inibidores de fusão são os mais recentes fármacos antirretrovirais incorporados a HAART. Os inibidores da integrase impedem a inserção do DNA viral no genoma do hospedeiro, interrompendo o ciclo de replicação (ZHAN et al. 2010; BRITO, 2011). Os inibidores de fusão são moléculas que impedem a entrada do vírus no interior da célula hospedeira e atuam por bloqueio dos receptores das células alvo, ou a partir de adesão a glicoproteína (gp40) do envelope viral, impedindo a fusão vírus-célula (RAY et al., 2010; GHOSH et al., 2011).

MANEJO TERAPÊUTICO ANTIRRETROVIRAL

A variabilidade genética do FIV permite sua rápida adaptação ao sistema imunológico e aos fármacos antirretrovirais, constituindo-se em um mecanismo de escape viral (ROBERTS et al., 1998). Diante disso, se faz necessário o desenvolvimento de um protocolo HAART para felinos infectados, uma vez que minimizaria a ocorrência de resistência ao tratamento. Além disso, a terapia antirretroviral combinada de alta potência reduz a morbidade e mortalidade dos pacientes infectados, melhora a qualidade de vida, favorece a recuperação do sistema imunológico e resulta em supressão sustentada da replicação viral. Porém a instituição de um esquema de tratamento antirretroviral em felinos necessita considerar critérios de adesão à terapia, escolha racional de fármacos, e condutas na ocorrência de falha terapêutica e de efeitos tóxicos (GÜNTHARD et al., 2014).

Em indivíduos com HIV a TARV é indicada nos pacientes com sintomatologia relacionada à infecção e em pacientes assintomáticos com contagem de linfócitos T CD4⁺ em declínio (GILL et al., 2002). A adesão ao tratamento deve ser realizada no curso inicial da infecção, pois aumenta a possibilidade de obtenção de supressão máxima de carga viral e elevação de linfócitos T CD4⁺ em indivíduos imunodeprimidos (SCHIMID et al., 2010). Entretanto evidências apontam que mesmo em indivíduos assintomáticos e com contagens elevadas de linfócitos T CD4⁺ a adesão precoce ao tratamento promove diminuição da morbimortalidade e redução da transmissão viral (GÜNTHARD et al., 2014). Gatos infectados pelo FIV regularmente podem desenvolver disfunção imunológica, caracterizada por depleção de linfócitos T CD4⁺ (MURPHY et al., 2012; TAKANO et al., 2012), e por isso a contagem de linfócitos T CD4⁺ pode servir como critério de adesão a TARV e parâmetro de resposta terapêutica, assim como ocorre na terapia anti-HIV.

O início da TARV em humanos infectados pelo HIV contempla a combinação de no mínimo três drogas. Como regra geral o esquema de primeira linha adotado no Brasil é composto de dois ITRN/ ITRNt associado a um ITRNN, pois reações adversas em humanos, particularmente dislipidemias e distúrbios gastrintestinais (diarreia) são menos frequentes quando comparado a esquemas terapêuticos utilizando um fármaco IP associados a dois ITRN/ ITRNt. Em contrapartida os esquemas de associação com IP oferecem maior barreira genética às mutações de resistência da transcriptase reversa do que os esquemas com ITRNN (BRASIL, 2013). O desenvolvimento de um protocolo HAART próprio para felinos, requer criteriosa análise dos fármacos a serem utilizados, pois estudos demonstraram ineficácia dos ITRNN diante do FIV, por ausência de sítio de ligação viral a essa classe de drogas (AUWERX et al., 2004), e ocorrência de toxicidade dos ITRNt em gatos (JUSTA et al., 2012), restringindo dessa maneira o arsenal de fármacos a serem incorporados a um esquema de associação de fármacos antirretrovirais para a espécie felina.

Em relação ao desenvolvimento de efeitos adversos associados ao uso da TARV, a síndrome metabólica é a maior complicação relatada em humanos, manifestada pelo desenvolvimento de dislipidemias, resistência insulínica, hipertensão e obesidade, fatores esses que aumentam o risco de alterações cardiovasculares (JERICÓ, 2005). Na espécie felina a ocorrência de neurotoxicidade e supressão medular, foram os eventos adversos mais relatados em animais submetidos ao tratamento antirretroviral (ZHU et al., 2007; JUSTA et al., 2012). A síndrome metabólica, efeito adverso mais frequente em humanos submetidos à TARV, não foi descrita em gatos, provavelmente porque a maioria dos estudos com uso de antirretrovirais *in vivo* na espécie felina realizou-se em curto período de tempo.

Embora as taxas de sucesso da terapia antirretroviral sejam elevadas em humanos com HIV, pacientes com carga viral plasmática detectável pós-terapia, normalmente necessitam de alteração em seus protocolos antirretrovirais, sendo o novo tratamento denominado de “esquema de resgate”. Na ocorrência de supressão viral incompleta diante da HAART, a genotipagem viral permite identificar resistência aos antirretrovirais em uso e possibilita o redirecionamento da terapia. Em situações de falha terapêutica, os fármacos inibidores da integrase e inibidores de fusão célula-vírus considerados antirretrovirais de terceira linha, podem ser incluídos nos esquemas de resgate (BRASIL, 2013).

ANTIRRETROVIRAIS COM ATIVIDADE ANTIVIRAL RECONHECIDA FRENTE AO FIV

Os antirretrovirais zidovudina e lamivudina demonstraram atividade antiviral *in vivo* diante do FIV e encontram-se disponíveis no Brasil, porém o uso desses fármacos em felinos é restrito a projetos de pesquisa, sendo vedada pela ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária) a prescrição dessa classe de medicamentos por médico veterinário (ANVISA, 1998). Abaixo são descritos os medicamentos já testados diante do FIV.

- Zidovudina (AZT)

O AZT é um análogo da timidina e apresenta-se como o único antirretroviral aprovado pelo FDA recomendado pela ABCD (*European Advisory Board on Cat Disease*) para o tratamento do FIV, pois promove inibição da replicação viral *in vivo*. A TARV com AZT está associada com redução de carga viral plasmática, elevação da contagem de linfócitos T CD4⁺, melhora de condição clínica e aumento de sobrevida em gatos infectados pelo FIV, mas desenvolvimento de resistência viral ao fármaco foi observado em tratamentos de período superior a seis meses. A dose recomendada é de 5 mg/Kg q12h por via oral (VO) ou subcutânea (SC). Alguns gatos podem desenvolver anemia durante as três primeiras semanas de tratamento, mas na maioria dos casos a recuperação da contagem de eritrócitos ocorre sem a interrupção da terapia. A suspensão do tratamento está indicada quando houver diminuição do hematócrito abaixo de 20% (HOSIE et al., 2009).

- Lamivudina (3TC)

O 3TC é um análogo nucleosídeo associado frequentemente ao AZT para tratamento do HIV (TISDALE et al., 1993). A combinação AZT (5 mg/Kg q12h) com 3TC (25 mg/Kg q12h) pela VO, testada em gatos infectados por FIV durante o período de 12 meses, resultou em significativa supressão de carga viral e recuperação da relação CD4⁺/ CD8⁺ quando comparado a animais tratados somente com AZT (GÓMEZ et al., 2012). Entretanto, Medeiros (2015) observou que gatos com FIV submetidos ao protocolo combinado de AZT (5 mg/Kg q12h) e 3TC (4 mg/Kg q12h) VO, durante 3 anos, apresentaram baixa relação CD4⁺/ CD8⁺, diminuição na contagem de eritrócitos e desenvolvimento de mutação viral de resistência a TARV.

- Fozivudina (FZD)

O FZD é um composto precursor da zidovudina e tem como vantagem a ausência de efeito mielotóxico, não induzindo anemia mesmo em alta dosagem, diferentemente do AZT. O fármaco apresentou efeito supressor da carga viral na fase aguda da infecção pelo FIV na dose

de 45 mg/Kg q 12h VO, mas seu uso em período superior a quatro semanas foi associado ao desenvolvimento de resistência (FOGLE et al., 2011).

- Estampidina (STAMP)

A estampidina é um nucleosídeo derivado da estavudina (D4T) e demonstrou-se efetivo em gatos FIV positivos em estágio crônico administrado na dose de 50-100 mg/kg q12h VO, determinando queda de carga viral em células sanguíneas mononucleares. Animais tratados experimentalmente durante quatro semanas, não manifestaram nenhum efeito adverso (UCKUN et al., 2003).

-TL3

Atualmente a molécula TL3 apresenta-se como o único inibidor de protease com atividade *in vivo* comprovada frente ao FIV. O TL3 impediu a ocorrência de degeneração neurológica em animais inoculados com a cepa FIV-PPR, mas não foi capaz de prevenir a viremia em animais desafiados experimentalmente. A dose utilizada foi de 20 mg/animal por VO, duas vezes ao dia (HUITRON-RESENDIZ et al., 2004).

-Plerixafor (AMD3100)

Em relação aos antirretrovirais que atuam por inibição da fusão vírus-célula, o AMD3100 também é o único medicamento da categoria com eficácia comprovada em felinos infectados pelo FIV. O fármaco atua promovendo a ligação específica com os co-receptores CXCR4, impedindo o ingresso do vírus na célula alvo. O AMD3100 demonstrou diminuição da carga de DNA proviral em gatos naturalmente infectados e ausência de efeitos adversos. A dose recomendada é de 0,5 mg/Kg q12h, via SC (HARTMANN et al., 2012b).

ANTIRRETROVIRAIS CONTRA INDICADOS PARA A ESPÉCIE FELINA

Os antirretrovirais didanosina (DDI), adefovir e tenofovir análogo (PMPDAP), apresentam atividade antiviral frente ao FIV, mas demonstram alta toxicidade quando administrados em gatos. O antirretroviral DDI da classe dos ITRN induziu neurotoxicidade (ZHU et al., 2007) e os antirretrovirais adefovir e o PMPDAP, ambos da classe dos ITRNt, foram associados ao desenvolvimento de anemia moderada a severa (JUSTA et al., 2012; TAFFIN et al., 2015).

ANTIRRETROVIRAIS COM POTENCIAL ATIVIDADE ANTIVIRAL *IN VIVO* DIANTE DO FIV

Os fármacos abacavir (ABC), emtricitabina (FTC), estavudina (D4T) e zalcitabina (DDC) da classe dos ITRN e os inibidores de protease (IP) atazanavir, lopinavir e tipranavir

demonstraram atividade antiviral *in vitro* diante do FIV e apresentam-se como antirretrovirais potenciais para futuros estudos *in vivo* em gatos FIV positivos (BALZARINI et al., 1996; MEDLIN et al. 1996; BISSET et al., 2002; NORELLI et al., 2008; SCHWARTZ et al., 2014). O fármaco raltegravir da classe dos inibidores de integrase, demonstrou atividade antiviral *in vitro* diante do FIV (TOGAMI et al., 2013) porém ainda não foi testado *in vivo*. Entretanto, de acordo com Boesch (2015) o uso do raltegravir em felinos infectados pelo vírus da leucemia felina (FeLV) induziu redução da viremia e apresentou-se seguro, não observando-se ocorrência de efeitos adversos durante 15 semanas de tratamento na dose de 40mg/ animal, VO, duas vezes ao dia. Dessa maneira o raltegravir apresenta-se como mais um antirretroviral a ser testado futuramente em gatos FIV positivos.

CONCLUSÃO

O desenvolvimento de um protocolo de tratamento antirretroviral efetivo e seguro em medicina felina requer maiores estudos, pois a maioria dos antirretrovirais licenciados para tratamento do HIV carece de informação quanto à atividade antiviral e nível de toxicidade em gatos infectados pelo FIV. Além disso, a proibição da prescrição dessa classe de medicamentos por médicos veterinários, imposta pela legislação brasileira, também impede a elaboração e consequente difusão de um esquema de terapia de combinação na rotina clínica. Em relação ao manejo terapêutico, também se faz necessário o estabelecimento de critérios de adesão à TARV e a determinação de métodos de identificação de falha terapêutica e ocorrência de efeitos adversos.

ANTIRETROVIRAL THERAPY TO CONTROL FELINE IMMUNODEFICIENCY VIRUS INFECTIONS: REVIEW AND PERSPECTIVES

ABSTRACT

Feline immunodeficiency virus (FIV) belongs to the family *Retroviridae* and presents molecular structure and pathology similar to the human immunodeficiency virus (HIV). FIV infection can determine the acquired immunodeficiency syndrome in cats (feline AIDS). The efficiency of the treatment of humans with HIV is obtained with a combination of drugs with different mechanisms of action that promote the inhibition of critical phases of the retrovirus replicative cycle, this therapeutic protocol is named HAART (Highly Active Antiretroviral

Therapy). Antiretrovirals like zidovudine, lamivudine, fozivudine, stampidine, TL3 and plerixafor were already tested *in vivo* against FIV, as monotherapy and induced viral load suppression. Following anti-HIV treatment tendencies, future studies must test antiretroviral drugs in combination, with the purpose of developing a HAART protocol in feline medicine. The present review has the objective to discuss and propose future aspects of handling in the antiretroviral therapy in cats and present the main antiretroviral drugs with proved efficacy against FIV.

Key words: Cat. Lentivirus. Therapeutic.

TERAPIA ANTIRRETROVIRAL EN EL CONTROL DE LA INFECCIÓN DEL VIRUS DE INMUNODEFICIENCIA FELINA: REVISIÓN Y PERSPECTIVAS

RESUMEN

El virus de inmunodeficiencia felina (VIF) pertenece a la familia *Retroviridae* y presenta estructura molecular y patogenia semejante al virus de inmunodeficiencia humana (VIH). La infección puede determinar síndrome de inmunodeficiencia adquirida en gatos (SIDA felina). La eficacia del tratamiento en personas con VIH es obtenida con una combinación de fármacos con distintos mecanismos de acción que producen la inhibición de fases críticas del ciclo replicativo de los retrovirus, siendo esto esquema terapéutico conocido por la sigla HAART (Highly Active Antiretroviral Therapy). Antirretrovirales como zidovudina, lamivudina, fozivudina, estampidina, TL3 e plerixafor fueron testeados *in vivo* frente al VIF en régimen de monoterapia e indujeron supresión viral. Seguiendo la tendencia del tratamiento de la infección por VIH, futuros estudios deben testear drogas antirretrovirales en régimen de asociación, con el propósito de desarrollarse un esquema HAART en medicina de felina. La dicha revisión tiene el objetivo de discutir y proponer recomendaciones en el tratamiento antirretroviral (ARV) de gatos, además de describir los principales medicamentos antirretrovirales con eficacia frente al VIF.

Palavras clave: Gato. Lentivirus. Terapéutica.

REFERÊNCIAS

ANDERSON, J.; SCHIFFER, C.; LEE, S.K. et al. Viral protease inhibitors. **Handb. Exp. Pharmacol.**, v. 189, p. 85–110, 2009.

ANVISA – AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Portaria nº 344, de 12 de maio de 1998. Aprova o Regulamento Técnico sobre substâncias e medicamentos sujeitos a controle especial. In: Diário Oficial da União, Brasília, seção 1, n. 93, p. 37-49, 19 de maio de 1998.

AUWERX, J.; ESNOUF, R.; DE CLERCQ, E. et al. Susceptibility of feline immunodeficiencyvirus/human immunodeficiency virus type 1 reverse transcriptase chimeras to non-nucleoside RT inhibitors. **Mol. Pharmacol.**, v. 65, p. 244–251, 2004.

BALZARINI, J.; EGBERINK, H.; HARTMANN, K. et al. Antiretrovirus specificity and intracellular metabolism of 2',3'-didehydro-2', 3'-dideoxythymidine (stavudine) and its 5'-monophosphate triester prodrug So324. **Mol. Pharmacol.**, v. 50, p.1207-1213, 1996.

BISSET, L. R.; LUTZ, H.; BONI, J. et al. Combined effect of zidovudine (ZDV), lamivudine (3TC) and abacavir (ABC) antiretroviral therapy in suppressing *in vitro* FIV replication. **Antivir. Res.**, v. 53, p. 35–45, 2002.

BOESCH, A.; CATTORI, V.; RIOND, B. et al. Evaluation of the effect of short-term treatment with the integrase inhibitor raltegravir on the course of progressive feline leucemia vírus infection. **Veterinary Microbiology**, v. 175, p. 167-178, 2015.

BRASIL. **Protocolo clínico e diretrizes terapêuticas para manejo da infecção pelo HIV, 2013.** Brasília: Ministério da Saúde. Disponível em: <http://www.aids.gov.br>.

BRITO, M. Fármacos recentes usados para o tratamento da infecção pelo HIV-1: enfuvirtida, maraviroc, raltegravir e etravirina. **Rev. Ciênc. Fárm. Básica Apl.**, v. 32, n. 2, p. 159-168, 2011.

CAXITO, F. A.; COELHO, M. E.; RESENDE, M. Phylogenetic analysis of feline immunodeficiency virus strains from State of Minas Gerais, Brazil. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v. 58, n. 6, p. 1222-1225, 2006.

FOGLE, J. E.; TOMPKINS, W. A.; CAMPBELL, B. et al. Fozivudine tidoxil as single-agent therapy decreases plasma and cell-associated viremia during acute feline immunodeficiency virus infection. **J. Vet. Intern. Med.**, v. 25, p. 413–418, 2011.

GHOSH, R. K.; GHOSH, S. M.; CHAWLA, S. Recent advances in antiretroviral drugs. **Expert Opin. Pharmacother.**, v. 12, p. 31–46, 2011.

GILL, C.; GRIFFITH, J.; JACOBSON, D. et al. Relationship of HIV viral loads, CD4 counts, and HAART use to health-related quality of life. **JAIDS**, v. 30, n. 5, p. 485-92, 2002.

GÓMEZ, N. V.; FONTANALS, A.; CASTILLO, V. et al. Evaluation of different antiretroviral drug protocols on naturally infected feline immunodeficiency virus (FIV) cats in the late phase of the asymptomatic stage of infection. **Viruses**, v. 4, n. 6, p. 924-939, 2012.

GRACE, S. F. Feline immunodeficiency virus infection. In: NORSWARTHY, G. D.; GRACE, S. F.; CRISTAL, M. A.; TILLEY, LP. **The Feline Patient – 4th ed.** USA: Black Well Publishing Ltd., 2011. Cap. 75, p. 179-180.

GRANICH, R.; CROWLEY, S.; VITORIA, M. et al. Highly active antiretroviral treatment as prevention of HIV transmission: review of scientific evidence and update. **Curr Opin HIV AIDS**, v. 5, n. 4, p. 298-304, 2010.

GÜNTHARD, H.; ABERG, J.; ERON, J. et al. Antiretroviral treatment of adult HIV Infection. **JAMA**, v. 312, n. 4, p. 410-425, 2014.

HARTMANN, K. Clinical aspects of feline retroviruses: A review. **Viruses**, v. 4, n. 11, p. 2684-2710, 2012a.

HARTMANN, K. Efficacy of antiviral chemotherapy for retrovirus-infected cats. **J. Feline Med. Surg.**, v.17, p. 925-939, 2015.

HARTMANN, K.; STENGEL, C.; KLEIN, D. et al. Efficacy and adverse effects of the antiviral compound plerixafor in feline immunodeficiency virus-infected cats. **J. Vet. Intern. Med.**, v. 26, p. 483-490, 2012b.

HAYWARD, J.; RODRIGO, A. G. Molecular epidemiology of feline immunodeficiency virus in the domestic cat. **Vet. Immunol. Immunopathol.**, v. 134, p. 68-74, 2009.

HOSIE, M. J.; ADDIE, D.; BELÁK, S. et al. Feline immunodeficiency : ABCD guidelines on prevention and management. **J. Feline Med. Surg.**, v. 11, p. 575-584, 2009.

HUITRON-RESENDIZ, S.; DE ROZIERES, S.; SANCHEZ-ALAVEZ, M. et al. Resolution and prevention of feline immunodeficiency virus-induced neurological deficits by treatment with the protease inhibitor TL-3. **J. Virol.**, v. 78, p. 4525–4532, 2004.

JERICÓ C. Metabolic Syndrome Among HIV-Infected Patients: prevalence, characteristics, and related factors. **Diabetes Care**, v. 28, p. 132-137, 2005.

JUSTA, N.; WEBER, D.; KLEIN, D.; MUELLER, R. S. et al. Efficacy and adverse effects of (R)-9-(2-phosphonylmethoxypropyl)-2,6-diaminopurine in feline immunodeficiency virus-infected cats. **J. Vet. Intern. Med.**, v. 26, p. 1267-1273, 2012.

KENYON, J. C.; LEVER, A. M. L. The molecular biology of feline immunodeficiency virus. **Viruses**, n. 3, p. 2193-2213, 2011.

LARA, M. V.; TANIWAKI, S. A.; ARAÚJO Jr., J. P. Caracterização filogenética de amostras do vírus da imunodeficiência felina (FIV) do Estado de São Paulo. **Pesq. Veter. Bras.**, v. 27, n. 11, p. 467-470, 2007.

MARTINS, A. N.; MEDEIROS, S. O.; SIMONETTI, J. P. et al. Phylogenetic and genetic analyses of feline immunodeficiency virus gag, pol and env genes from domestic cats undergoing nucleoside reverse transcriptase inhibitor treatment or treatment-naïve Cats in Rio de Janeiro, Brazil. **Journal of Virology**, p. 7863-7874, 2008.

MEDEIROS, S. O.; ABREU, C. M.; DELVECCHIO, R. et al. Follow-up on long-term antiretroviral therapy for cats infected with feline immunodeficiency virus. **J. Feline Med. Surg.**, first published on April 8, 2015.

MEDLIN, H. K.; ZHU, Y. Q.; REMINGTON, K. M. et al. Selection and characterization of a mutant of feline immunodeficiency virus resistant to 2',3'-dideoxycytidine. **Antimicrob Agents Chemother**, v.40, p. 953-957, 1996.

MOHAMMADI, H.; BIENZLE, D. Pharmacological Inhibition of Feline Immunodeficiency Virus (FIV). **Viruses**, v. 4, n. 5, p. 708-724, 2012.

MURPHY, B.; VAPNIARSKY, N.; HILLMAN, C. et al. Fiv establishes a latent infection in feline peripheral blood cd4+ t lymphocytes *in vivo* during the asymptomatic phase of infection. **Retrovirology**, v. 9, n. 12, 2012.

NORELLI, S.; EL DAKER, S.; D'OSTILIO, D. et al. Response of feline immunodeficiency virus (FIV) to tipranavir may provide new clues for development of broad-based inhibitors of retroviral proteases acting on drug-resistant HIV-1. **Curr. HIV Res.**, v.6, p.306–317, 2008.

PEÇANHA, E. P.; ANTUNES, O. A. C. Estratégias farmacológicas para a terapia anti-AIDS. **Quim. Nova**, v. 25, n. 6B, 1108-1116, 2002.

PEREIRA, C. F.; PARIDAEN, J. T. Anti-HIV drug development—An overview. **Curr. Pharm. Des.**, v. 10, p.4005–4037, 2004.

RAY, S.; FATIMA, Z.; SAXENA, A. Drugs for AIDS. Mini Rev. **Med. Chem.**, v. 10, p. 147–161, 2010.

ROBERTS, J. D.; BEBENEK, K.; KUNKEL, T. A. The accuracy of reverse transcriptase from HIV. **Science**, v. 242, n. 4882, p. 1171-1173, 1998.

SCHIMID, A.; GIANELLA, S.; WYL, V. et al. Profound depletion of HIV-1 transcription in patients initiating antiretroviral therapy during acute infection. **PLoS One**, v. 5, 2010.

SCHWARTZ, A. M.; MCCRACKIN, M. A. ; SHINAZI, R.F. et al. Antiviral efficacy of nine nucleoside reverse transcriptase inhibitors against feline immunodeficiency virus in feline peripheral blood mononuclear cells. **Am. J. Vet. Res.**, v. 75, p. 273-281, 2014.

SILVA, F. S.; CASTRO, C. C.; FINGER, P. F. et al. Ocorrência do subtipo B do vírus da imunodeficiência felina em gatos domésticos da região sul do estado do Rio Grande do Sul. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v. 66, n. 1, p. 1-6, 2014.

TAFFIN, E.; PAEPE, D.; GORIS, N. et al. Antiviral treatment of feline immunodeficiency virus-infected cats with (R)-9-(2-phosphonylmethoxypropyl)-2,6-diaminopurine. **J. Feline Med. Surg.**, v.17, n.2, p.79-86, 2015.

TAKANO, T.; HOSOYA, S.; SHIBAO, A. et al. Comparative study of the plasma globulin level, CD21⁺ B-cell counts and FOXP3 mRNA expression level in CD4⁺ T-cells for different clinical stages of feline immunodeficiency virus infected cats. **Res. Vet. Sci.**, v.92, p.157-161, 2012.

TISDALE, M.; KEMP, S.D.; PARRY, N.R. Rapid *in vitro* selection of human immunodeficiency virus type 1 resistant to 3'-thiacytidine inhibitors due to a mutation in the YMDD region of reverse transcriptase. **Proc Natl Acad Sci USA**, v. 90, p.5653-5656, 1993.

TOGAMI, H.; SHIMURA, K.; OKAMOTO, M. et al. Comprehensive *in vitro* analysis of simian retrovirus type 4 susceptibility to antiretroviral agents. **J. Virol.**, v. 87, p. 4322-4329, 2013.

UCKUN, F. M.; CHEN, C. L.; SAMUEL, P. et al. *In vivo* antiretroviral activity of stampidine in chronically feline immunodeficiency virus-infected cats. **Antimicrob. Agents Chemother.**, v.47, p. 1233-1240, 2003.

ZHAN, P.; LIU, X.; DE CLERCQ, E. Blocking nuclear import of pre-integration complex: An emerging anti-HIV-1 drug discovery paradigm. **Curr. Med. Chem.** v. 17, p. 495–503, 2010.

ZHU, Y.; ANTONY J.M.; MARTINEZ, J.A. Didanosine causes sensory neuropathy in an HIV/AIDS animal model: impaired mitochondrial and neurotrophic factor gene expression. **Brain**, v. 130, p. 2011-2023, 2007.

2.2 Artigo 2

Avaliação do Fármaco Raltegravir na Terapia Antirretroviral de Gatos Naturalmente Infectados pelo Vírus da Imunodeficiência Felina

Fábio da Silva e Silva; Débora Scopel e Silva; Tanise Pacheco Fortes; Gilberto D'Avila Vargas; Geferson Fischer; Marcelo de Lima; Antonio Sergio Varela Jr.; Silvia de Oliveira Hübner

Será submetido ao periódico Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia

Avaliação do fármaco raltegravir na terapia antirretroviral de gatos naturalmente infectados pelo vírus da imunodeficiência felina

F.S. Silva*, D.S. Silva, T.P. Fortes, G.D. Vargas, G. Fischer, M. Lima, A.S. Varela Jr., S.O.

Hübner

Programa de Pós-Graduação em Veterinária, Universidade Federal de Pelotas, Capão do Leão, RS 96010-900, Brasil; E-mail; silvamedvet@hotmail.com*

RESUMO

O vírus da imunodeficiência felina (FIV) apresenta estrutura molecular similar ao vírus da imunodeficiência humana (HIV) e pode assim causar síndrome de imunodeficiência adquirida em gatos, estando o tratamento antirretroviral indicado em animais acometidos por infecções recorrentes, neuropatias e gengivostomatite crônica. Entretanto, a zidovudina, apresenta-se como o único fármaco anti-HIV recomendado para tratamento de gatos infectados pelo FIV, sendo a ação da maioria das drogas antirretrovirais desconhecida diante do agente. Dessa maneira, o presente trabalho teve como objetivo avaliar a ação terapêutica do fármaco raltegravir em cinco gatos naturalmente infectados por FIV, mediante a análise de imunofenotipagem e carga viral plasmática pré, trans e pós terapia. A dose de 40mg/ gato a cada 12h, via oral, administrada por 21 dias demonstrou-se tolerável e segura nos gatos, pois não induziu nenhuma reação adversa durante o tratamento. Contudo a contagem de linfócitos CD4⁺ e o quociente CD4⁺/CD8⁺ não demonstrou elevação de valores, assim como a carga viral plasmática não apresentou supressão após o tratamento com raltegravir pelo mesmo período. Sendo assim, não foi possível estabelecer atividade antiviral *in vivo* do antirretroviral raltegravir diante do FIV.

Palavras-chave: gatos, vírus da imunodeficiência felina, terapia antirretroviral, raltegravir

ABSTRACT

Feline immunodeficiency virus (FIV) presents molecular structure similar to the human immunodeficiency virus (HIV) and can cause acquired immunodeficiency syndrome in cats, this way the antiretroviral therapy is encouraged in animals affected by recurrent infections, neuropathy and chronic gingivostomatitis. However, zidovudine is the only anti-HIV drug

recommended for the treatment of FIV infected cats, being unknown the action of most of the antiretroviral drugs against the virus. In that way, the present work had the objective of evaluating the therapeutic action of raltegravir in cats naturally infected by FIV, through immunofenotyping and plasma viral load before, trans and after-therapy. The dose of 40mg/ cat q 12h, PO, administered for 21 days has showed to be tolerable and safe in the cats, because it did not induce any adverse reaction during the treatment. However, the CD4⁺ lymphocyte count and the CD4⁺/CD8⁺ quotient did not show elevation of values, as well as the plasma viral load did not present suppression after the treatment with raltegravir for the same period. Thus, it was not possible to establish *in vivo* antiviral activity of the antiretroviral raltegravir against FIV.

Keywords: cats; feline immunodeficiency virus; antiretroviral; raltegravir

INTRODUÇÃO

O vírus da imunodeficiência felina (FIV) pertence à família *Retroviridae* e apresenta estrutura molecular similar ao vírus da imunodeficiência humana (HIV), podendo assim causar síndrome de imunodeficiência adquirida em gatos (AIDS felina), caracterizada pela depleção de linfócitos T CD4⁺ e desenvolvimento de doenças oportunistas (Takano *et al.*, 2012). Embora o FIV estabeleça infecção persistente, a taxa de letalidade observada é baixa (Silva *et al.*, 2014) e em geral não compromete a expectativa de vida dos gatos infectados (Liem *et al.*, 2013), sendo que a maioria dos animais permanece assintomática por longos períodos, mesmo na ausência de terapia antirretroviral (TARV) (White e Norris, 2011). O tratamento de gatos FIV positivos é efetuado somente em animais com manifestação clínica e direcionado ao controle da doença relacionada, porém em gatos acometidos por infecções recorrentes, neuropatias e gengivoestomatite crônica a TARV deve ser considerada (Hartmann, 2015).

A maioria dos antirretrovirais testados em gatos FIV positivos foi desenvolvida para tratamento da infecção por HIV, baseando-se no fato de que as enzimas de replicação desses retrovírus apresentam homologia molecular (Hartmann, 2015). Entretanto, o antirretroviral zidovudina (AZT) pertencente à classe dos inibidores da transcriptase reversa análogos de nucleosídeos (ITRN), apresenta-se como o único fármaco anti-HIV recomendado pela ABCD (*European Advisory Board on Cat Disease*) para o tratamento do FIV (Hosie *et al.*, 2009). A TARV com AZT está associada com redução de carga viral plasmática, elevação da contagem de linfócitos T CD4⁺ e melhora da condição clínica em gatos infectados por FIV, porém o desenvolvimento de resistência viral ao fármaco foi observado em tratamentos com período superior a seis meses

(Hosie *et al.*, 2009). Recentemente o fármaco raltegravir foi testado em gatos com retrovírose experimental induzida pelo vírus da leucemia felina (FeLV) e foi capaz de promover redução de carga viral plasmática sem a ocorrência de efeitos adversos nos animais submetidos ao tratamento (Boesch *et al.*, 2015). O raltegravir é um antirretroviral da classe dos inibidores da integrase, e atua impedindo a inserção do DNA pró-viral no genoma do hospedeiro, interrompendo assim o ciclo de replicação do vírus (Brito, 2011). A ação antiviral diante do FIV já foi evidenciada em cultivo de células da linhagem TE671 (rabdomiossarcoma humano) e MT-2 (linfócito T humano), contudo a sensibilidade do FIV ao fármaco foi menor em comparação ao HIV na análise *in vitro* (Togami *et al.*, 2013).

Considerando-se que a ação da maioria das drogas antirretrovirais disponíveis para tratamento do HIV é desconhecida diante do FIV no modelo *in vivo* (Silva *et al.*, 2016), o presente trabalho teve como objetivo avaliar a ação terapêutica do fármaco raltegravir em gatos naturalmente infectados pelo FIV, mediante a análise de imunofenotipagem e carga viral plasmática pré, trans e pós terapia.

MATERIAIS E MÉTODOS

O estudo foi desenvolvido de acordo com os princípios éticos de experimentação animal, sendo aprovado pelo CEEA-UFPel, com o código de cadastro 9154.

A pesquisa foi conduzida a partir da avaliação de nove gatos naturalmente infectados por FIV provenientes da rotina de atendimento médico do Hospital de Clínicas Veterinária da UFPel durante o ano de 2016. Esses animais foram classificados em dois grupos: o grupo 1 (G1) composto de cinco animais FIV positivos submetidos ao tratamento com o fármaco raltegravir e o grupo 2 (G2) constituído de quatro animais FIV positivos não tratados com o antirretroviral.

A identificação dos pacientes infectados foi realizada por teste rápido de imunocromatografia, a partir de detecção de anticorpos anti-FIV p24 (FIV Ab/ FeLV Ag, AlereTM). Com o propósito de padronizar a avaliação dos animais FIV positivos foram excluídos do estudo gatos com neoplasia, co-infectados por FeLV e PIF (vírus da peritonite infecciosa felina), gatas gestantes e animais tratados com corticoide no período inferior a 30 dias.

A apresentação comercial do raltegravir testada foi o Isentress[®] 400mg (Merck Sharp e Dhome Farmacêutica Ltda.). Os comprimidos foram submetidos a manipulação farmacêutica e

fracionados em cápsulas contendo 40mg do princípio ativo. A dose utilizada foi de 40mg/ gato a cada 12h, via oral (Boesch *et al.*, 2015), durante 21 dias.

Cada animal foi submetido a 3 avaliações em momentos distintos, a avaliação 1 (pré-terapia) foi realizada até 2 dias antes do início do tratamento, a avaliação 2 (trans-terapia) entre o 10º e 12º dia de tratamento e a 3 (pós-terapia) realizada até dois dias após a suspensão do medicamento. Durante as avaliações para realização das análises, os animais foram submetidos a exame físico e colheita sanguínea por punção venosa, sendo as amostras de sangue acondicionadas em tubos contendo EDTA.

O estadiamento clínico foi determinado por escore baseado na escala clínica de Gil *et al.* (2013) modificada, tal escala contemplou achados clínicos frequentemente associados com infecção retroviral felina (Tab. 1), sendo as avaliações realizadas pré, trans e pós terapia.

A carga RNA viral (RNA_v) plasmática foi quantificada em cópias/ ml de plasma pré, trans e pós tratamento antirretroviral através da técnica de PCR real time (qPCR). A extração do RNA total das amostras foi obtida a partir de 100 µl de plasma utilizando-se o *Kit SV Total RNA Isolation System* (Promega Corporation, EUA). Após isolamento do RNA total as amostras foram quantificadas em ng/ µl mediante fluorometria no aparelho Qubit[®] 3.0 (Thermo Fischer Scientific, EUA), e logo após armazenadas a -70°C. Posteriormente as amostras foram processadas em termociclador (StepOne[™] System – Thermo Fischer Scientific) pelo método da RT-qPCR a partir de 5 µl de RNA total utilizando-se o *Feline Immunodeficiency Virus Standard Kit* (Genesig[®]), para amplificação de segmento específico do gene *gag*.

A imunofenotipagem foi realizada pré e pós terapia para a contagem da subpopulação sanguínea de linfócitos T CD4⁺ e CD8⁺ e também obtenção da relação CD4⁺/CD8⁺ pela técnica de citometria de fluxo. O processamento da amostra foi efetuado a partir de 50 µl de sangue total acrescido de 5 µl de anticorpo monoclonal anti-CD4⁺-FITC e anti-CD8⁺-PE (AbD Serotec). Após 15 minutos de incubação no escuro em temperatura ambiente, acrescentava-se à amostra 450 µl de solução de lise (Facslysing Solution- Becton and Dickinson) e realizava-se homogeneização em vórtex e incubação por mais 15 minutos. Em seguida procedia-se a leitura em citômetro de fluxo (Attune- Life Thecnologies), aonde os dados gerados em números relativos eram então convertidos em valores absolutos de linfócitos T CD4⁺ e CD8⁺ por µl, a partir da contagem total de linfócitos do leucograma.

As análises estatísticas foram realizadas no programa GraphPad Prism 7 for Windows 7.02. Os dados de carga RNAv plasmática e escore clínico foram analisados pelo Teste de Friedman e os resultados provenientes da imunofenotipagem avaliados pelo Teste T de Student, fixando-se o valor de 5% para o nível de rejeição da hipótese de nulidade.

Tabela 1. Escala clínica de Gil *et al.* (2013) modificada.

Parâmetro clínico	Classificação
1. Gengivite	0- Sem evidência de gengivite 1- Hiperemia gengival moderada 2- Hiperemia gengival severa
2. Estomatite caudal	0- Sem evidência de estomatite caudal 1- Moderada estomatite caudal 2- Severa estomatite caudal e disfagia
3. Linfadenomegalia	0- Sem evidência de linfadenomegalia 1- Linfadenomegalia localizada 2- Linfadenomegalia generalizada
4. Oftalmopatia	0- Sem evidência de oftalmopatia 1- Secreção ocular e/ou ceratite 2- Ceratite ulcerativa e/ou uveíte
5. Rinosinusite	0- Sem evidência de secreção nasal 1- Secreção nasal serosa 2- Secreção nasal mucopurulenta
6. Gastroenterite	0- Ausência de gastroenterite 1- Ocorrência de vômito ou diarreia 2- Ocorrência de vômito e diarreia
7. Dermatite	0- Ausência de dermatite 1- Lesão cutânea localizada 2- Lesão cutânea generalizada
8. Condição corpórea	0- Peso normal ou sobrepeso 1- Condição de magreza 2- Condição de caquexia
9. Citopenia	0- Hemograma normal 1- Decréscimo de um tipo celular (anemia, trombocitopenia, neutropenia ou linfopenia) 2- Decréscimo de dois ou mais tipos celulares

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A descrição do uso de um antirretroviral da classe dos inibidores da integrase em gatos infectados pelo FIV ainda não havia sido descrita (Silva *et al.*, 2016), com isso a dose do medicamento adotada em nosso experimento foi a proposta por Boesch *et al.* (2015) para o tratamento de gatos infectados por FeLV. A dose de 40mg/ gato a cada 12h, VO administrada por 21 dias no presente estudo demonstrou-se tolerável e segura nos gatos pertencentes ao grupo G1, pois não induziu nenhuma reação adversa durante o período de tratamento, estando de acordo com o trabalho de Boesch *et al.* (2015) que constatou a ausência de efeitos colaterais em gatos tratados com raltegravir na mesma dose e frequência durante 15 semanas.

Em gatos com FIV a relação $CD4^+/CD8^+$ encontra-se como marcador de progressão da infecção, estando sua diminuição ($< 0,9$) associada ao desenvolvimento de síndrome de imunodeficiência (Gómez *et al.*, 2012), já a contagem de linfócitos T $CD4^+$ apresenta-se como o parâmetro laboratorial preditivo no prognóstico da infecção pelo HIV e indicador de resposta terapêutica ao tratamento antirretroviral em humanos (Schmid *et al.*, 2010). Considerando que parâmetros de restabelecimento da função imune mediante o uso da TARV em gatos com FIV ainda não foram estabelecidos, a mensuração de linfócitos T $CD4^+$ e $CD8^+$ em conjunto com o quociente foram avaliados. Após 21 dias de tratamento os valores médios dos animais tratados com raltegravir foram $CD4^+ = 656$ células/ μl , $CD8^+ = 431$ células/ μl e $CD4^+/CD8^+ = 1.8$, não diferindo estatisticamente dos valores pré-terapia (Tab. 2). Dessa maneira não foi possível evidenciar resposta terapêutica com o uso do raltegravir em gatos FIV positivos a partir da análise da imunofenotipagem.

Tabela 2. Média \pm erro padrão das análises de imunofenotipagem dos animais pertencentes ao grupo G1.

Variáveis	Pré-terapia	Pós-terapia	Valor de P
Linfócitos $CD4^+$ (células/ μl)	894 \pm 228.1	656 \pm 155.8	0.2533
Linfócitos $CD8^+$ (células/ μl)	641 \pm 219.9	431 \pm 143.1	0.3571
$CD4^+/CD8^+$ (quociente)	1.8 \pm 0.366	1.8 \pm 0.325	0.3602

Quanto à condição clínica dos animais analisados, dois estavam hígidos e sete apresentavam doença relacionada ao FIV de acordo com Hartmann (2012), sendo linfopenia (3/7), neutropenia (1/7), gengivostomatite crônica (1/7), dermatite (1/7) e perda de peso (1/7) as alterações clínicas observadas. A partir da análise da escala de Gil *et al.* (2013) constatou-se que os animais não apresentaram diferença estatisticamente significativa de escore pré, trans e pós terapia com raltegravir (Tab. 3), não sendo possível estabelecer melhora da condição clínica dos animais com doença relacionada ao FIV a partir do uso da TARV.

A quantificação do RNAv plasmático dos gatos naturalmente infectados por FIV foi realizada com o objetivo de analisar a atividade antiviral *in vivo* do raltegravir e servir de parâmetro principal de resposta terapêutica. O nível de carga RNAv plasmática é um marcador clínico importante em humanos infectados pelo HIV pois permite avaliar a progressão da infecção e monitorar a eficácia da TARV (Brasil, 2013).

O tratamento com raltegravir em humanos HIV positivos vem demonstrando efetiva supressão de carga RNAv plasmática, porém o seu uso está sempre condicionado ao regime de terapia antirretroviral combinada, sendo tal protocolo politerapico conhecido pela sigla HAART (*Highly Active Antiretroviral Therapy*) (Merck, 2007). No presente estudo a análise intragrupo da carga RNAv plasmática não apresentou diferença estatística durante o período de experimentação, tanto no grupo G1, quanto no grupo G2 (Tab. 3), não sendo possível inferir atividade antiviral *in vivo* do raltegravir diante do FIV. Ressalta-se, que dos nove gatos com anticorpos anti-FIV p24 positivos, quatro (44,4%) não apresentaram carga RNAv plasmática detectável pela técnica de qPCR, estando tal achado de acordo com o estudo de coorte conduzido por Eckstrand *et al.* (2017), aonde gatos com infecção crônica por FIV não tratados, demonstraram replicação viral contínua em órgãos linfoides e carga viral plasmática indetectável. Em contrapartida, indivíduos infectados pelo HIV apresentam viremia plasmática persistente, sendo que situações de carga RNAv indetectável ocorrem somente em pessoas que fazem uso de terapia antirretroviral combinada ou em controladores de elite (indivíduos que mantêm carga viral < 50 cópias/ ml e linfócito T CD4⁺ elevado sem uso de TARV) (Brasil, 2013).

Considerando-se, que o FIV apresenta a capacidade de manter transcrição inativa (latência) em linfócitos T CD4⁺ de gatos com infecção crônica (McDonnel *et al.*, 2013), sugere-se que a quantificação do DNA pró-viral associado a células sanguíneas mononucleares, possa ser uma análise mais apropriada como parâmetro de resposta a TARV, devendo tal método laboratorial ser avaliado em estudos futuros. Além disso, ensaios *in vivo* posteriores também devem

contemplar um número maior de animais testados, tempo de tratamento mais prolongado e uso do raltegravir em regime HAART.

Tabela 3. Média (amplitude) das análises de escore clínico e carga viral plasmática dos animais pertencentes aos grupos G1 e G2.

Variáveis	Avaliação	G1: média (amplitude)	G2: média (amplitude)
Escore clínico	1	1 (0-2)	1.5 (0-4)
	2	0.8 (0-2)	1.25 (0-4)
	3	0.4 (0-2)	1 (0-4)
		$P= 0.2222$	$P= 0.6667$
Cópias/ml de RNA _v	1	90 (0-200)	335 (0-1100)
	2	112 (0-540)	200 (0-740)
	3	60 (0-170)	105 (0-420)
		$P= 0.3611$	$P= 0.1667$

CONCLUSÃO

A administração do raltegravir na dose de 40mg/ gato a cada 12h, vo, durante 21 dias, não demonstrou atividade antirretroviral em gatos naturalmente infectados pelo FIV, pois não foi capaz de promover supressão de carga viral plasmática, nem aumento da contagem de células alvo (linfócitos T CD4⁺).

REFERÊNCIAS

- BOESCH, A.; CATTORI, V.; RIOND, B. *et al.* Evaluation of the effect of short-term treatment with the integrase inhibitor raltegravir on the course of progressive feline leukemia virus infection. *Veterinary Microbiology*, v.175, p. 167-178, 2015.
- BRASIL. *Protocolo clínico e diretrizes terapêuticas para manejo da infecção pelo HIV*, 2013. Brasília: Ministério da Saúde. Disponível em: <http://www.aids.gov.br>.
- BRITO, M. Fármacos recentes usados para o tratamento da infecção pelo HIV-1. *Revista de ciências farmacêuticas básica e aplicada*, v.32, n.2, p.159-168, 2011.
- ECKSTRAND, C.D.; SPARGER, E.E.; PITT, K.A. *et al.* Peripheral and central immune cell reservoirs in tissues from asymptomatic cats chronically infected with feline immunodeficiency virus. *PLoS ONE*, v.12, n.4, e0175327, 2017.

- GIL, S.; LEAL, R.O., DUARTE, A. *et al.* Relevance of feline interferon omega for clinical improvement and reduction of concurrent viral excretion in retrovirus infected cats from a rescue shelter. *Research in Veterinary Science*, n.94, p.753-763, 2013.
- GÓMEZ, N.V.; FONTANALS, A.; CASTILLO, V. *et al.* Evaluation of different antiretroviral drug protocols on naturally infected feline immunodeficiency virus cats in the late phase of the asymptomatic stage of infection. *Viruses*, v.4, n.6, p.924-939, 2012.
- HARTMANN, K. Clinical aspects of feline retroviruses: A review. *Viruses*, v.4, n.11, p.2684-2710, 2012.
- HARTMANN, K. Efficacy of antiviral chemotherapy for retrovirus-infected cats. *J. Feline Med. Surg.*, v.17, p.925-939, 2015.
- HOSIE, M.J.; ADDIE, D.; BELÁK, S. *et al.* Feline immunodeficiency: ABCD guidelines on prevention and management. *J. Feline Med. Surg.*, v.11, p.575-584, 2009.
- LIEM, B.P.; DHAND, N.K.; PEPPER, A.E. *et al.* Clinical findings and survival in cats naturally infected with feline immunodeficiency virus. *J. Vet. Intern. Med.*, v.27, p.798-805, 2013.
- MCDONNELL, S.J.; SPARGER, E.E.; MURPHY, B.G. Feline immunodeficiency virus latency. *Retrovirology*, v.10, n.69, p.1-8, 2013.
- MERCK. *Isentress*[®] (raltegravir) 400mg for treatment of HIV (NDA). In: FDA Antiviral Drugs Advisory Committee Meeting, 2007.
- SCHMID, A.; GIANELLA, S.; WYL, V. *et al.* Profound depletion of HIV-1 transcription in patients initiating antiretroviral therapy during acute infection. *PLoS ONE*, v.5, n.10, e13310, 2010.
- SILVA, F.S.; CASTRO, C.C.; FINGER, P. F. *et al.* Ocorrência do subtipo B do vírus da imunodeficiência felina em gatos domésticos da região sul do estado do Rio Grande do Sul. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v.66, n.1, p.1-6, 2014.
- SILVA, F.S.; SILVA, D.S.; GILBERTO, D. V. *et al.* Terapia antirretroviral no controle da infecção pelo vírus da imunodeficiência felina: Revisão e perspectivas. *Science and Animal Health*, v.4, n.3, p.268-282, 2016.

WHITE, J.; NORRIS, J.M. Feline immunodeficiency virus: disease association versus causation in domestic and nondomestic felids. *Vet. Clin. Small Anim.*, v.41, p.1197-1208, 2011.

TAKANO, T.; HOSOYA, S.; SHIBAO, A. *et al.* Comparative study of the plasma globulin level, CD21- B-cell counts and FOXP3 mRNA expression level in CD4+ T-cells for different clinical stages of feline immunodeficiency virus infected cats. *Res. Vet. Sci.*, v.92, p.157-161, 2012.

TOGAMI, H.; SHIMURA, K.; OKAMOTO, M. *et al.* Comprehensive *in vitro* analysis of simian retrovirus type 4 susceptibility to antiretroviral agents. *Journal of Virology*, v.87, p.4322-4329, 2013.

3 Considerações Finais

A administração do raltegravir na dose de 40mg/ gato a cada 12h, vo, durante 21 dias, não demonstrou atividade antirretroviral em gatos naturalmente infectados pelo FIV, pois não foi capaz de promover supressão de carga viral plasmática, nem aumento da contagem de células alvo (linfócitos T CD4⁺).

Além disso, o uso da quantificação de carga viral plasmática como marcador de resposta terapêutica, não se mostrou adequado na avaliação dos gatos FIV positivos submetidos a terapia antirretroviral, pois 40% (2/5) dos animais do grupo G1 e 50% (2/4) dos animais do grupo G2 demonstraram carga RNAv plasmática indetectável.

Referências

ANDERSON, J.; SCHIFFER, C.; LEE, S.K. et al. Viral protease inhibitors. **Handb. Exp. Pharmacol.**, v. 189, p. 85–110, 2009.

ANVISA- AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Portaria nº 344, de 12 de maio de 1998. Aprova o Regulamento Técnico sobre substâncias e medicamentos sujeitos a controle especial. In: **Diário Oficial da União**, seção 1, n.93, p.37-49, 19 de maio de 1998.

AUWERX, J.; ESNOUF, R.; DE CLERCQ, E. et al. Susceptibility of feline immunodeficiencyvirus/human immunodeficiency virus type 1 reverse transcriptase chimeras to non-nucleoside RT inhibitors. **Mol. Pharmacol.**, v. 65, p. 244–251, 2004.

BACHMANN, M.H.; MATHIASON-DUBARD, C.; LEARN, G.H.; RODRIGO, A.G.; SODORA, D.L. et al. Genetic diversity of feline immunodeficiency vírus: Dual infection, recombination, and distinct evolutionary rates among envelope sequence clades. **Journal of Virology**, p. 4241-4252, 1997.

BALZARINI, J.; EGBERINK, H.; HARTMANN, K. et al. Antiretrovirus specificity and intracellular metabolism of 2',3'-didehydro-2', 3'-dideoxythymidine (stavudine) and its 5'-monophosphate triester prodrug So324. **Mol. Pharmacol.**, v. 50, p.1207-1213, 1996.

BISSET, L. R.; LUTZ, H.; BONI, J. et al. Combined effect of zidovudine (ZDV), lamivudine (3TC) and abacavir (ABC) antiretroviral therapy in suppressing *in vitro* FIV replication. **Antivir. Res.**, v. 53, p. 35–45, 2002.

BOESCH, A.; CATTORI, V.; RIOND, B. et al. Evaluation of the effect of short-term treatment with the integrase inhibitor raltegravir on the course of progressive feline leucemia vírus infection. **Veterinary Microbiology**, v. 175, p. 167-178, 2015.

BRASIL. **Protocolo clínico e diretrizes terapêuticas para manejo da infecção pelo HIV, 2013**. Brasília: Ministério da Saúde. Disponível em: <http://www.aids.gov.br>.

BRITO, M. Fármacos recentes usados para o tratamento da infecção pelo HIV-1: enfuvirtida, maraviroc, raltegravir e etravirina. **Rev. Ciênc. Fárm. Básica Apl.**, v. 32, n. 2, p. 159-168, 2011.

CAXITO, F. A.; COELHO, M. E.; RESENDE, M. Phylogenetic analysis of feline immunodeficiency virus strains from State of Minas Gerais, Brazil. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v. 58, n. 6, p. 1222-1225, 2006.

ECKSTRAND, C.D.; SPARGER, E.E.; PITT, K.A. et al. Peripheral and central immune cell reservoirs in tissues from asymptomatic cats chronically infected with feline immunodeficiency virus. **PLoS ONE**, v.12, n.4, e0175327, 2017.

FOGLE, J. E.; TOMPKINS, W. A.; CAMPBELL, B. et al. Fozivudine tidoxil as single-agent therapy decreases plasma and cell-associated viremia during acute feline immunodeficiency virus infection. **J. Vet. Intern. Med.**, v. 25, p. 413–418, 2011.

GHOSH, R. K.; GHOSH, S. M.; CHAWLA, S. Recent advances in antiretroviral drugs. **Expert Opin. Pharmacother.**, v. 12, p. 31–46, 2011.

GILL, C.; GRIFFITH, J.; JACOBSON, D. et al. Relationship of HIV viral loads, CD4 counts, and HAART use to health-related quality of life. **JAIDS**, v. 30, n. 5, p. 485-92, 2002.

GIL, S.; LEAL, R.O., DUARTE, A. et al. Relevance of feline interferon ômega for clinical improvement and reduction of concurrent viral excretion in retrovirus infected cats from a rescue shelter. **Research in Veterinary Science**, n.94, p.753-763, 2013.

GÓMEZ, N. V.; FONTANALS, A.; CASTILLO, V. et al. Evaluation of different antiretroviral drug protocols on naturally infected feline immunodeficiency virus (FIV) cats in the late phase of the asymptomatic stage of infection. **Viruses**, v. 4, n. 6, p. 924-939, 2012.

GRACE, S. F. Feline immunodeficiency virus infection. In: NORSWARTHY, G. D.; GRACE, S. F.; CRISTAL, M. A.; TILLEY, LP. **The Feline Patient – 4th ed.** USA: Black Well Publishing Ltd., 2011. Cap. 75, p. 179-180.

GRANICH, R.; CROWLEY, S.; VITORIA, M. et al. Highly active antiretroviral treatment as prevention of HIV transmission: review of scientific evidence and update. **Curr Opin HIV AIDS**, v. 5, n. 4, p. 298-304, 2010.

GÜNTHARD, H.; ABERG, J.; ERON, J. et al. Antiretroviral treatment of adult HIV Infection. **JAMA**, v. 312, n. 4, p. 410-425, 2014.

HARTMANN, K. Clinical aspects of feline immunodeficiency and feline leukemia virus infection. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v. 143, p. 190-201, 2011

HARTMANN, K. Clinical aspects of feline retroviruses: A review. **Viruses**, v. 4, n. 11, p. 2684-2710, 2012a.

HARTMANN, K. Efficacy of antiviral chemotherapy for retrovirus-infected cats. **J. Feline Med. Surg.**, v.17, p. 925-939, 2015.

HARTMANN, K.; STENGEL, C.; KLEIN, D. et al. Efficacy and adverse effects of the antiviral compound plerixafor in feline immunodeficiency virus-infected cats. **J. Vet. Intern. Med.**, v. 26, p. 483-490, 2012b.

HAYWARD, J.; RODRIGO, A. G. Molecular epidemiology of feline immunodeficiency virus in the domestic cat. **Vet. Immunol. Immunopathol.**, v. 134, p. 68-74, 2009.
HOSIE, M. J.; ADDIE, D.; BELÁK, S. et al. Feline immunodeficiency: ABCD guidelines on prevention and management. **J. Feline Med. Surg.**, v. 11, p. 575-584, 2009.

HUITRON-RESENDIZ, S.; DE ROZIERES, S.; SANCHEZ-ALAVEZ, M. et al. Resolution and prevention of feline immunodeficiency virus-induced neurological deficits by treatment with the protease inhibitor TL-3. **J. Virol.**, v. 78, p. 4525–4532, 2004.

JERICÓ C. Metabolic Syndrome Among HIV-Infected Patients: prevalence, characteristics, and related factors. **Diabetes Care**, v. 28, p. 132-137, 2005.

JUSTA, N.; WEBER, D.; KLEIN, D.; MUELLER, R. S. et al. Efficacy and adverse effects of (R)-9-(2-phosphonylmethoxypropyl)-2,6-diaminopurine in feline immunodeficiency virus-infected cats. **J. Vet. Intern. Med.**, v. 26, p. 1267-1273, 2012.

KENYON, J. C.; LEVER, A. M. L. The molecular biology of feline immunodeficiency virus. **Viruses**, n. 3, p. 2193-2213, 2011.

LARA, M. V.; TANIWAKI, S. A.; ARAÚJO Jr., J. P. Caracterização filogenética de amostras do vírus da imunodeficiência felina (FIV) do Estado de São Paulo. **Pesq. Veter. Bras.**, v. 27, n. 11, p. 467-470, 2007.

LIEM, B.P.; DHAND, N.K.; PEPPER, A.E. et al. Clinical findings and survival in cats naturally infected with feline immunodeficiency virus. **J. Vet. Intern. Med.**, v.27, p.798-805, 2013.

MARTINS, A. N.; MEDEIROS, S. O.; SIMONETTI, J. P. et al. Phylogenetic and genetic analyses of feline immunodeficiency virus gag, pol and env genes from domestic cats undergoing nucleoside reverse transcriptase inhibitor treatment or treatment-naïve Cats in Rio de Janeiro, Brazil. **Journal of Virology**, p. 7863-7874, 2008.

MCDONNELL, S.J.; SPARGER, E.E.; MURPHY, B.G. Feline immunodeficiency virus latency. **Retrovirology**, v.10, n.69, p.1-8, 2013.

MEDEIROS, S. O.; ABREU, C. M.; DELVECCHIO, R. et al. Follow-up on long-term antiretroviral therapy for cats infected with feline immunodeficiency virus. **J. Feline Med. Surg.**, first published on April 8, 2015.

MEDLIN, H. K.; ZHU, Y. Q.; REMINGTON, K. M. et al. Selection and characterization of a mutant of feline immunodeficiency virus resistant to 2',3'-dideoxycytidine. **Antimicrob Agents Chemother**, v.40, p. 953-957, 1996.

MERCK. **Isentress® (raltegravir)** 400mg for treatment of HIV (NDA). In: FDA Antiviral Drugs Advisory Committee Meeting, 2007.

MOHAMMADI, H.; BIENZLE, D. Pharmacological Inhibition of Feline Immunodeficiency Virus (FIV). **Viruses**, v. 4, n. 5, p. 708-724, 2012.

MURPHY, F.A.; GIBBS, E.P.J.; HORZINEK, M.C.; STUDDERT, M.J. Retroviridae. In: MURPHY, F. A. et al. **Veterinary Virology – 3th ed.** USA, Elsevier, c. 23, p. 363-389, 1999.

MURPHY, B.; VAPNIARSKY, N.; HILLMAN, C. et al. Fiv establishes a latent infection in feline peripheral blood cd4+ t lymphocytes *in vivo* during the asymptomatic phase of infection. **Retrovirology**, v. 9, n. 12, 2012.

NORELLI, S.; EL DAKER, S.; D'OSTILIO, D. et al. Response of feline immunodeficiency virus (FIV) to tipranavir may provide new clues for development of broad-based inhibitors of retroviral proteases acting on drug-resistant HIV-1. **Curr. HIV Res.**, v.6, p.306–317, 2008.

PEÇANHA, E. P.; ANTUNES, O. A. C. Estratégias farmacológicas para a terapia anti-AIDS. **Quim. Nova**, v. 25, n. 6B, 1108-1116, 2002.

PECORARO, M.R.; TOMONAGA, K.; MIYAZAWA, T. et al. Genetic diversity of Argentine isolates of feline immunodeficiency virus. **J. Gen. Virol.**, v. 77, p. 2031-2035, 1996.

PEREIRA, C. F.; PARIDAEN, J. T. Anti-HIV drug development—An overview. **Curr. Pharm. Des.**, v. 10, p.4005–4037, 2004.

RAY, S.; FATIMA, Z.; SAXENA, A. Drugs for AIDS. Mini Rev. **Med. Chem.**, v. 10, p. 147–161, 2010.

ROBERTS, J. D.; BEBENEK, K.; KUNKEL, T. A. The accuracy of reverse transcriptase from HIV. **Science**, v. 242, n. 4882, p. 1171-1173, 1998.

SCHIMID, A.; GIANELLA, S.; WYL, V. et al. Profound depletion of HIV-1 transcription in patients initiating antiretroviral therapy during acute infection. **PLoS One**, v. 5, 2010.

SCHWARTZ, A. M.; MCCRACKIN, M. A.; SHINAZI, R.F. et al. Antiviral efficacy of nine nucleoside reverse transcriptase inhibitors against feline immunodeficiency virus in feline peripheral blood mononuclear cells. **Am. J. Vet. Res.**, v. 75, p. 273-281, 2014.

SILVA, F. S.; CASTRO, C. C.; FINGER, P. F. et al. Ocorrência do subtipo B do vírus da imunodeficiência felina em gatos domésticos da região sul do estado do Rio Grande do Sul. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v. 66, n. 1, p. 1-6, 2014.

SILVA, F.S.; SILVA, D.S.; GILBERTO, D. V. et al. Terapia antirretroviral no controle da infecção pelo vírus da imunodeficiência felina: Revisão e perspectivas. **Science and Animal Health**, v.4, n.3, p.268-282, 2016.

WHITE, J.; NORRIS, J.M. Feline immunodeficiency virus: disease association versus causation in domestic and nondomestic felids. **Vet. Clin. Small Anim.**, v.41, p.1197-1208, 2011.

TAFFIN, E.; PAEPE, D.; GORIS, N. et al. Antiviral treatment of feline immunodeficiency virus-infected cats with (R)-9-(2-phosphonylmethoxypropyl)-2,6-diaminopurine. **J. Feline Med. Surg.**, v.17, n.2, p.79-86, 2015.

TAKANO, T.; HOSOYA, S.; SHIBAO, A. et al. Comparative study of the plasma globulin level, CD21⁻ B-cell counts and FOXP3 mRNA expression level in CD4⁺ T-cells for different clinical stages of feline immunodeficiency virus infected cats. **Res. Vet. Sci.**, v.92, p.157-161, 2012.

TEIXEIRA, B. M.; LOGAN, N.; CRUZ, J.C.M.; REIS, J.K.P.; BRANDÃO, P.E.; RICHTZENHAIN, L.J.; HAGIWARA, M.K.; WILLETT, B.J.; HOSIE, M.J. Genetic diversity of brazilian isolates of feline immunodeficiency virus. **Arch Virol**, 155: 379-384, 2010.

TISDALE, M.; KEMP, S.D.; PARRY, N.R. Rapid in vitro selection of human immunodeficiency virus type 1 resistant to 3'-thiacytidine inhibitors due to a mutation in the YMDD region of reverse transcriptase. **Proc Natl Acad Sci USA**, v. 90, p.5653-5656, 1993.

TIZARD, I.R. Retrovirus infection in cats. In: TIZARD, I.R. **Veterinary Immunology**. USA, Elsevier, c. 35, p. 467-472, 2009.

TOGAMI, H.; SHIMURA, K.; OKAMOTO, M. et al. Comprehensive *in vitro* analysis of simian retrovirus type 4 susceptibility to antiretroviral agents. **J. Virol.**, v. 87, p. 4322-4329, 2013.

UCKUN, F. M.; CHEN, C. L.; SAMUEL, P. et al. *In vivo* antiretroviral activity of stampidine in chronically feline immunodeficiency virus-infected cats. **Antimicrob. Agents Chemother.**, v.47, p. 1233-1240, 2003.

VEIR, J.K.; LAPPIN, M.R. Molecular diagnostic assay for infectious diseases in cats. **Veterinary Clinics Small Animal Practice**, v. 40, p. 1189-1200, 2010.

ZANUTTO, M.S.; FROES, T.R.; TEIXEIRA, A.L.; HAGIWARA, M.K. Características clínicas da fase aguda da infecção experimental de felinos pelo vírus da imunodeficiência felina. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.31, n. 3, p. 255-260, 2011.

ZHAN, P.; LIU, X.; DE CLERCQ, E. Blocking nuclear import of pre-integration complex: An emerging anti-HIV-1 drug discovery paradigm. **Curr. Med. Chem.** v. 17, p. 495-503, 2010.

ZHU, Y.; ANTONY J.M.; MARTINEZ, J.A. Didanosine causes sensory neuropathy in an HIV/AIDS animal model: impaired mitochondrial and neurotrophic factor gene expression. **Brain**, v. 130, p. 2011-2023, 2007.

Anexos

Pelotas, 12 de dezembro de 2013

De: Prof. Dr. Éverton Fagonde da Silva

Presidente da Comissão de Ética em Experimentação Animal (CEEA)

Para: Professora Silvia de Oliveira Hübner

Faculdade de Veterinária

Senhora Professora:

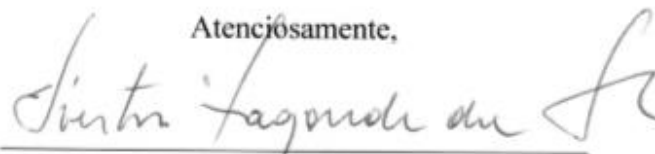
A *CEEA* analisou o projeto intitulado: **“Terapia antirretroviral em gatos naturalmente infectados pelo vírus da imunodeficiência felina”**, processo nº23110.009154/2013-48, sendo de parecer **FAVORÁVEL** a sua execução, considerando ser o assunto pertinente e a metodologia compatível com os princípios éticos em experimentação animal e com os objetivos propostos.

Solicitamos, após tomar ciência do parecer, reenviar o processo à *CEEA*.

Salientamos também a necessidade deste projeto ser cadastrado junto ao Departamento de Pesquisa e Iniciação Científica para posterior registro no *COCEPE* (código para cadastro nº **CEEA 9154**).

Sendo o que tínhamos para o momento, subscrevemo-nos.

Atenciosamente,



Prof. Dr. Éverton Fagonde da Silva

Presidente da CEEA