

Fatores Genéticos Associados à Susceptibilidade e Resistência à Infecção pelo HIV

Rogério Grimaldi
rgrimaldi@bahiana.edu.br

Prof. Dr. Rogério Grimaldi graduado pela UFBA, doutor em Biologia Celular e Molecular pela FIOCRUZ - RJ. Professor do Curso de Medicina da Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública (EBMSP), e coordenador do Núcleo de Extensão em Biologia Molecular e Celular (NEBIO).

Introdução

Os primeiros casos de AIDS (Síndrome da Imunodeficiência Adquirida - do inglês, *Acquired Immunodeficiency Syndrome*) foram detectados em 1977 nos EUA, Haiti e África Central, e isolado pela primeira vez em 1983 pela equipe do Dr. Luc Montagnier, na França, e foi denominado LAV (*lymphadenopathy vírus*) vírus associado à linfadenopatia (Barre-Sinoussi et al. 1983). Já em 1984, a equipe do Dr. Robert Gallo, nos EUA, isolou este mesmo vírus de pacientes com sintomas da AIDS e o denominou de ARV (*AIDS associated retrovirus*) (Gallo et al. 1983). Posteriormente, análises da sequência de nucleotídeos revelaram que o genoma do LAV, do ARV e do HTLV-III (*Human T Lymphotropic Vírus III*) era variante do mesmo retrovírus. Em 1985 os testes anti-HIV tornaram-se disponíveis no mercado, e no mesmo ano a OMS (Organização Mundial da Saúde), por tratar-se do mesmo vírus, denominou-o de HIV (*Human Immunodeficiency Virus*) - Vírus da Imunodeficiência Humana. Em 1987 iniciou-se a utilização do AZT, o primeiro medicamento utilizado com a finalidade de reduzir a replicação deste retrovírus. Já em 1991 a OMS anuncia que 10 milhões de pessoas estavam infectadas pelo HIV no mundo, e nesse mesmo ano iniciou-se o processo de distribuição gratuita de anti-retrovirais (medicamentos que dificultam a multiplicação do HIV) (UNAIDS, 1992).

O Vírus da Imunodeficiência Humana é um retrovírus pertencente à subfamília dos lentivírus tendo como característica a produção de infecção crônica em seu hospedeiro, causando-lhe dano progressivo ao sistema imune. O Vírus da imunodeficiência simia (SIV) parece ter evoluído de forma concomitante a seus próprios hospedeiros, por um longo período de tempo. Transmissões de símios para humanos, de chimpanzés e macacos *sooty mangabeys* provocaram o aparecimento dos HIV do tipo 1 e 2, respectivamente (Jaffar et al. 2004). Os principais alvos dessa doença em humanos são as células T, células dendríticas e macrófagos. Após ser identificada nos EUA, a AIDS foi notificada em todos os continentes do mundo, constituindo-se atualmente, numa pandemia.

Epidemiologia

A epidemia de HIV/AIDS é atualmente considerada como sendo uma ameaça à segurança mundial, segundo o Conselho Nacional de Segurança das Nações Unidas. Essa denominação ocorre a despeito da infecção aumentar a morbidade e mortalidade, destruir as estruturas familiares e comunitárias, desordenar a segurança e a ordem pública, emperrar o crescimento econômico, incapacitar os serviços de saúde e desestabilizar o contingente militar dizimando potências regionais importantes como Nigéria, Quênia, Índia, China e Federação Russa.

O número de pessoas vivendo com AIDS até 2012 continuou crescendo, perfazendo um total de 33,5 milhões de pessoas infectadas no mundo no final do ano com um total de quase três milhões de novas infecções (UNAIDS, 2012). Atualmente a epidemia está estabilizada ou em declínio na maioria dos países do mundo, porém no Leste Europeu e na Ásia Central a epidemia está se espalhando, com um aumento em mais de 150%. O número anual de casos de morte por AIDS no mundo está decrescendo em reflexo ao melhor suporte e tratamento das pessoas vivendo com

HIV. A África Subsaariana ainda é a região mais afetada do mundo e é responsável por 71% das novas infecções no mundo e mais de 75% dos óbitos associados ao HIV (UNAIDS, 2012).

O número estimado de novas infecções por HIV na América Latina no ano de 2012 foi de 100.000, significando que um total de 1,6 milhões de pessoas vivendo com HIV nesta região. Estima-se que 58.000 pessoas tenham morrido de AIDS no último ano (Weissenhorn et al. 2006). Mais recentemente o sexo desprotegido tem se tornado a principal via de transmissão do HIV em países da América do Sul, sendo que a mais alta prevalência tem sido encontrada entre homens que fazem sexo com homens.

O Brasil tem mais de um terço das pessoas que vivem com HIV na América Latina, um total de 757.042 casos de AIDS notificados até junho 2014 (Boletim Epidemiológico-MS, 2014). Os primeiros casos de AIDS no país foram notificados pelo Ministério da Saúde em 1982, e eram provenientes de São Paulo e do Rio de Janeiro. Atualmente a infecção está espalhada de forma não homogênea por todas as regiões do país.

Inicialmente a epidemia se caracterizou por atingir predominantemente os homens que possuíam relação sexual com homens (HSH) e os hemofílicos. Posteriormente, os usuários de drogas injetáveis (UDI) ganharam destaque e hoje a disseminação heterossexual apresenta-se em maior número.

Dos casos de AIDS acumulados de 1980 até junho de 2014 no Brasil, a região Sudeste é a que tem o maior percentual (54,4%). O Sul concentra 20%; Nordeste (14,3%); Centro-Oeste, (5,8%); e Norte (5,4%). Em 1985, havia uma relação de 15 casos de AIDS em homens para 1 em mulher. Atualmente, para cada 10 casos em mulheres existem 18 casos em homens. No segmento de homens que fazem sexo com homens, ocorreu um aumento na proporção de casos nos últimos 10 anos (43,2%). A principal via de transmissão do HIV ainda é a sexual, perfazendo um índice de 96,15% dos casos (Boletim Epidemiológico-MS, 2014).

Na faixa etária de 15 a 19 anos, há inversão na razão de sexo, a partir de 1998. Em ambos os sexos, a maior parte dos casos se concentra na faixa etária de 25 a 49 anos. Porém, nos últimos anos, tem-se verificado importante aumento percentual de casos na população acima de 60 anos, em ambos os sexos.

O coeficiente de mortalidade padronizado vem demonstrando uma tendência significativa de queda nos últimos dez anos o qual passou de 6,1 óbitos para cada 100 mil habitantes em 2004 para 5,7 em 2013, representando uma queda de 6,6% (Boletim Epidemiológico-MS, 2014).

Os dados segundo o critério etnia demonstram que não existe diferença estatisticamente significativa nas proporções de descendentes de europeus e asiáticos segundo sexo, exceto entre os afrodescendentes, nos quais a proporção de homens é inferior à das mulheres. No ano de 2013, 9,7% dos casos de AIDS notificados entre homens eram em afrodescendentes, enquanto que entre as mulheres esse percentual foi de 11,7%. Além disso, tem-se observado um aumento significativo na proporção de casos entre os indivíduos autodeclarados como pardos e uma queda significativa na proporção de brancos (Boletim Epidemiológico-MS, 2014).

Epidemiologia Genética do HIV

Foram identificados dois tipos de Vírus da Imunodeficiência Humana, o HIV-1 e HIV-2, embora o primeiro seja o mais prevalente no mundo e o segundo, tenha sido descrito primeiramente em pessoas da África Ocidental. O HIV-1 pode ser dividido em três grandes grupos baseados na sua variabilidade genética: M (principal), O (segregado) e N (não M – não O ou novo) (Kandathil et al. 2005). Em relação ao HIV-2 descrevem-se cinco subtipos distintos (de A a E) e está associado a infecção no continente africano e asiático. Embora ainda não conhecida, especula-se a possibilidade de variantes virais possuírem diferentes índices de transmissibilidade ou patogenicidade.

A epidemia de HIV-1 no Brasil foi inicialmente dominada pelo subtipo B e o vírus se espalhou para todos os estados do país através de diferentes rotas de transmissão. O subtipo F foi pela primeira vez identificada em Salvador, e recombinante dos subtipos B e F foram identificados no Rio de Janeiro. A mais recente epidemia heterossexual, caracterizada pela presença de vírus subtipo C, foi identificado no sul do Brasil. Outros relatos têm demonstrado que distintos subtipos (A, B, C, D, F) e formas recombinantes (B/C, B/F) estão participando ativamente da epidemia brasileira de AIDS (de Queiroz et al. 2007; Almeida, et al. 2012; Velasco-de-Castro, et al. 2014; Tarosso et al. 2014).

As frequências encontradas por alguns estudos de epidemiologia molecular do HIV-1 tem demonstrado a prevalência de subtipo B (70-95%), seguido do subtipo F1 (2-24%), as formas recombinantes circulantes (CRF – *Circulating Recombinant Forms*) CRF28_BF, CRF29_BF, CRF39_BF, CRF40_BF e CRF46_BF, além de um incontável número de formas recombinantes únicas (URF – *Unique Recombinant Forms*) envolvendo os subtipos B e F em quase todo o Brasil, exceto nos estados da região sul, onde o subtipo C e a CRF31_BC predominam (Bongertz et al. 2000; Almeida, et al. 2012; Velasco-de-Castro, et al. 2014; Tarosso et al. 2014).

Estudos mostram que pessoas infectadas com o HIV-2 vivem mais e o desenvolvimento para AIDS é menos agressivo do que o desenvolvimento para doença em pessoas com o tipo 1 do HIV (Jaffar S. et al, 2004). Apesar dessa diferença entre muitas outras, evidências moleculares apontam que o HIV-1 e o HIV-2 surgiram a partir do mesmo vírus ancestral encontrado em primatas não humanos na África.

HIV: Estrutura e Biologia Molecular

O HIV possui forma esférica com aproximadamente 100nm de diâmetro. É um retrovírus envelopado, possui duas moléculas de RNA, que estão dispostas no interior do capsídeo. O genoma de RNA contém aproximadamente

10Kb de comprimento e é caracterizado pela presença de duas LTR's (*Long Terminal Repeats*) e nove regiões, três delas codificadoras de proteínas (*gag*, *pol*, *env*), comuns a todos os retrovírus, e outras seis reguladoras (*tat*, *rev*, *nif*, *vpr*, *vif*). A região *env*, codifica a glicoproteína (gp) 160 que posteriormente é clivada em gp120 e gp41. A *gag* codifica o p24, e outro gene tão importante como os outros, *pol*, codifica as enzimas transcriptase reversa, protease e integrase (Weissenhorn et al. 1996).

Esse conjunto genético é envolto por mais uma camada protéica, formando uma estrutura denominada core. Envolvendo o core, existe o envelope, composto por uma camada dupla de fosfolipídios, na qual estão imersas as várias moléculas protéicas específicas desse vírus (Fellay et al. 2009). A p24 é o antígeno viral mais facilmente detectado e, por isso, é o alvo dos anticorpos usados para o diagnóstico da infecção por HIV no ensaio de imunoabsorção ligada a enzima (ELISA), amplamente usado. O cerne viral é circundado por uma proteína da matriz a p17, que se localiza abaixo do invólucro do vírion. O invólucro viral é composto pelas duas glicoproteínas virais, gp120 e gp41, que são cruciais para a infecção pelo HIV nas células-alvo. O genoma pró-viral do HIV contém os genes que codificam outras importantes proteínas, incluindo o *tat*, *rev*, *nif*, *vpr* e *vpu*, que regulam a síntese e montagem das partículas virais infecciosas. O produto do gene *tat* (transativador), por exemplo, é crucial para a regulação positiva da replicação viral e determina a expressão final de todos os genes virais. A proteína *tat* funciona causando um aumento de até 1.000 vezes da transcrição de genes virais. À semelhança da *tat*, a *rev* também é essencial à replicação do HIV-1, porém exerce seus efeitos a um nível pós-transcrição por regulação do transporte e processamento dos RNAm de *gag*, *pol* e *env* do núcleo para o citoplasma, além de antagonizar o papel de *tat*, *vpr*, *vpu* e *vif*. Os produtos dos genes *vpu* e *vif* atuam no fim do ciclo replicativo viral e parecem ser essenciais ao empacotamento e brotamento de vírions das células

infectadas (*vpu*) e à maturação dos vírus livres de células-alvo ativando a capacidade de infectar outras células (*vif*). Além disso, o gene *vpr* parece ajudar a aumentar a produção de vírus por diversos mecanismos. Permite que células incapazes de se dividir como macrófagos sejam infectadas pelo HIV de maneira mais impressionante, detém o ciclo celular na fase G2, durante a qual a LTR viral é mais ativa, maximizando assim a proteção viral. Por fim, a presença de *nef* parece ser essencial ao desenvolvimento da infecção por HIV progressiva *in vivo*. Cepas do Vírus da Imunodeficiência de Símios (SIV) que têm mutações do gene *nef* não causam AIDS em macacos. De modo semelhante, em casos raros, seres humanos transfundidos com sangue infectado com uma cepa de HIV-1 cujo gene *nef* é defeituoso exibem uma carga viral excepcionalmente baixa e não desenvolvem AIDS por muitos anos após a infecção. O mecanismo pelo qual o *nef* exerce seus efeitos na patogenia da AIDS ainda é obscuro (Cullen et al 1998).

Ciclo Viral

A transmissão do HIV se estabelece por via sexual, parenteral e materno-fetal. Este vírus infecta linfócitos T CD4⁺ que normalmente regulam as respostas imunes ao ativar o sistema imune e induzir um ambiente de citocinas que o vírus utiliza em proveito de sua própria replicação.

O ciclo de infecção e replicação do HIV tem início quando o vírus, através da gp120 na superfície viral, se liga à proteína CD4 e aos receptores de quimiocina na superfície da célula-alvo (Ugolini et al. 1999; Scarlata et al. 2003; Bannwarth et al. 2005), formando um complexo gp120/CD4/receptor de quimiocina. Inicialmente a gp120 se liga à molécula CD4 resultando em uma mudança conformacional da mesma que forma novos sítios de reconhecimento na gp120 para os receptores de quimiocinas. Este complexo molecular resulta em mudanças conformacionais na gp41 levando a inserção de um peptídeo desta proteína dentro da membrana celular. Após a fusão, o nucleocapsídeo do vírus contendo o genoma e enzimas virais entram no citoplasma da

célula (Doms et al. 1997; Scarlata et al 2003). No citoplasma, a enzima transcriptase reversa converte o RNA viral em DNA de fita dupla. Em células que não estão em divisão, o DNA viral é importado para o núcleo através do complexo de poro nuclear com a participação da proteína Vpr, formando o complexo de pré-integração (Le Rouzic et al. 2005). Em seguida, o DNA viral é integrado ao DNA genômico do hospedeiro pela ação da enzima integrase, que remove os dois últimos nucleotídeos 3' de ambas as regiões finais da fita dupla do DNA linear (Le Rouzic et al. 2005) e corta inespecificamente o DNA genômico do hospedeiro para inserir o DNA viral formando então o provírus. O DNA proviral pode ser transcrito sempre iniciado no sentido 5'-3' da LTR, formando vírions RNA e RNA mensageiro. Em seguida o processo de tradução gera novas proteínas virais, que sofrem ação da protease e são clivadas. Os vírions RNA e as proteínas virais são montadas formando o nucleocapsídeo, que brotam da membrana do linfócito T, utilizando fragmento dessa membrana para formar seu envelope. (Scarlata et al. 2003; Bannwarth et al. 2005; Le Rouzic et al. 2005).

Existem evidências indicando, de fato, que a ligação do HIV nos receptores de quimiocinas CCR5 e CXCR4 é importante na patogênese da AIDS (Liu et al. 1996; Connor et al. 1997; Scarlata et al. 2003; Bannwarth et al. 2005). Em 1995 as β -quimiocinas RANTES, MIP-1 α e MIP-1 β foram identificadas como sendo os principais fatores supressores da replicação viral produzidos por linfócitos T CD8⁺ (Cocchi et al. 1995, Mackewicz et al. 1996, Arenzana-Seisdedos et al. 1996) e em menor quantidade por células T CD4⁺ (Maeda et al. 1999). Estas substâncias são capazes de inibir a infecção e conseqüentemente a replicação do HIV-1 em células humanas de linhagem T CD4⁺.

Grimaldi, R. Fatores Genéticos Associados à Susceptibilidade e Resistência à infecção pelo HIV. 2014.

Correceptores Utilizados pelo HIV-1

A molécula CD4 é importante, mas não suficiente para que ocorra a entrada do HIV na célula-alvo, sendo necessário um correceptor na superfície da célula. Foram identificadas proteínas da família dos receptores de quimiocinas capazes de mediar a infecção pelo HIV-1.

O CCR5 é um receptor de quimiocina presente principalmente em células do sistema imune, como macrófagos e linfócitos T, representando um maior papel na migração destas células para sítios de inflamação (O'Brien et al. 2004). A proteína CXCR4 é um receptor de quimiocinas com sete domínios transmembranar. A etapa inicial na infecção é a ligação da glicoproteína do invólucro gp120 a moléculas CD4. Essa ligação produz uma alteração importante da configuração, que resulta na formação de um novo local de reconhecimento em gp120 para os correceptores CCR5 e CXCR4. Há fortes evidências de que a ligação do HIV a seus correceptores é importante na patogenia da AIDS. Embora com frequência menor do que as moléculas CCR5 e CXCR4, o receptor CCR2 (Doranz et al. 1996), pode ser utilizado por algumas cepas de HIV-1, inclusive na ausência de CCR5 ou CXCR4, durante a efetivação da infecção.

CCR5 (cysteine-cysteine (c-c)-linked chemokine receptor – 5)

A CCR5 é uma proteína transmembranar multipasso constituída de sete domínios (Federspiel et al. 1993, Herzog et al. 1993, Nomura et al. 1993) com características anfipáticas, associado à proteína G que se liga às β -quimiocinas RANTES, MIP-1 α e MIP-1 β (Alkhatib et al. 1996, Deng et al. 1996, Drajić et al. 1996, Sol et al. 1997). Esta proteína é utilizada como correceptor para a entrada de cepas R5 do HIV-1 na célula do hospedeiro.

O gene da CCR5, localizado no cromossomo humano 3p21 (Liu et al. 1996) foi clonado em 1996 (Samson et al. 1996) e sua estrutura genômica é composta por 4 éxons e 2 íntrons, não existindo íntron entre os éxons 2 e 3, que codifica uma proteína com peso molecular de 40.600Da

com 352 aminoácidos. Este gene tem uma identidade de 75% com o gene da CCR2 e estão separados por 14Kb. O éxon 4 é o responsável pela codificação da proteína, enquanto que o restante do gene está envolvido com o controle da regulação gênica. Existem sequências polimórficas na região promotora (responsáveis pelo grande número de haplótipos) cuja presença ou ausência de determinados alelos em conjunto definem um haplótipo específico (Martin et al. 1998).

Algumas investigações demonstram que uma deleção de 32 pares de bases compreendida entre os nucleotídeos 794 e 825 no gene que codifica a proteína CCR5 confere ao indivíduo resistência à infecção por cepas R5 do HIV-1. Relatos mostram que os caucasianos possuem alta frequência de mutação (0,092) nesse alelo, porém, negros africanos e da Ásia Central e Oeste, assim como os japoneses, apresentam muito raramente esta mutação (Samson et al. 1996; O'Brien et al. 1997). Na América do Sul e no Brasil a frequência do alelo CCR5- Δ 32 varia de zero a 0,065 (Mangano et al. 2001; Desgranges et al. 2001; Grimaldi et al. 2002).

Indivíduos com padrão homozigoto mutante no gene da CCR5 (Δ 32/ Δ 32) possuem resistência contra a infecção por cepas R5 do HIV-1, pelo menos por via sexual, corroborando o fato de que a CCR5 é o principal correceptor utilizado por cepas primárias do HIV-1 (Samson et al. 1996), e os indivíduos que possuem essa mutação em heterozigose (CCR5/ Δ 32), parecem ser parcialmente resistentes à infecção, apresentando uma progressão mais lenta para a AIDS quando comparados com os homozigotos selvagens (CCR5/CCR5) (Deng et al. 1996, Drajić et al. 1996, O'Brien et al. 1997, de RodaHusman et al. 1997). A resistência parcial atribuída à heterozigose é consequência do decréscimo do nível de expressão da CCR5 nesses indivíduos (Littman 1998).

Embora seja o principal, o alelo CCR5- Δ 32 não é o único fator responsável pela modulação da infecção pelo HIV-1. Até o momento já foram

descritas 22 mutações diferentes no gene da CCR5 (O'Brien et al 2000) e apresentam distribuições geográficas e étnicas diferentes (Zimmerman et al. 1997; O'Brien et al. 2000). Existem determinados genótipos que conferem ao indivíduo aceleração ou retardo da progressão para a doença. Martin e cols. (1998) demonstraram que indivíduos infectados pelo HIV-1 que possuem o haplótipo CCR5P1 em homozigose na região regulatória contendo o promotor, progrediram para AIDS mais rapidamente do que aqueles com outros genótipos para o promotor da CCR5 (CCR5P1-P10). Além disso, foi descrita uma variante G/T na posição 303 da região promotora, associada à rápida progressão para AIDS (McDermott et al. 1998). Dentre as 22 variantes descritas no gene da CCR5, 2 mutações (C101X e FS299) provocam expressão diminuída do correceptor na superfície celular, porém, apenas a mutação C101X teve efeito na mediação para a entrada do HIV-1 na célula (Blanpain et al. 2000), com repercussão semelhante à $\Delta 32$, ou seja, indivíduos que apresentam essa mutação possuem resistência à infecção pelo HIV-1.

Em nosso país, há poucas referências de estudos de frequência para a $\Delta 32$, envolvida na resistência à infecção pelo HIV-1 (Passos et al. 1998; Lebouté et al. 1999; Grimaldi et al. 2002; Munerato et al. 2003; De Pinho Lott Carvalhaes et al. 2004). Recentemente foi verificada a prevalência dessa deleção em doadores de sangue HIV-negativo provenientes de Joinville - Santa Catarina (0,065), em indivíduos infectados e não infectados pelo HIV-1 na população de Salvador-Bahia (0,044 e 0,026, respectivamente), e nas tribos Tiriyó e Waiampi do norte do Estado do Pará (0,0 em ambas). Além disso, a evolução clínica de pacientes heterozigotos e homozigotos selvagens foi acompanhada e o papel da deleção na resistência à infecção por cepas R5 e X4 do HIV-1 *in vitro* foi analisada (Tabela 2, pag. 12) (Grimaldi et al. 2002).

No entanto, relatos na literatura descrevem a existência de outros polimorfismos no gene da CCR5 relacionados à infecção pelo HIV-1 ou

progressão para AIDS, com frequências variáveis em diferentes grupos étnicos. Outro polimorfismo no gene da CCR5 (CCR5-m303) desempenha uma função semelhante à $\Delta 32$ na proteção contra a infecção por cepas R5 do HIV-1. Esta alteração é caracterizada pela transverso de uma timina para uma adenina no nucleotídeo 303 que tem como efeito a mudança de uma cisteína para um códon de terminação na primeira alça extracelular da proteína no aminoácido 101 (C101X) (Carrington et al. 1997).

Embora indivíduos da população afroamericana e francesa apresentem prevalência do polimorfismo m303 de 2.86% (1/35) e de 5.56% (1/18), respectivamente, detectado somente em heterozigose (Carrington et al. 1997; Quillent et al. 1998), e de 1.4% em doadores de sangue de origem étnica desconhecida (Quillent et al. 1998), esse alelo não foi detectado em estudos feitos nas populações do Kuwait (Voevodin et al. 1999), África do Sul (Williamson et al. 2000) e China (Wang et al. 2003) e brasileira (Grimaldi et al. 2005). Entretanto, uma frequência alélica de 0.007 foi detectada em indivíduos de ascendência caucasiana (Williamson et al. 2000).

Além desses polimorfismos identificados na região codificante, algumas mutações na região promotora do gene da proteína CCR5 podem também interferir no curso clínico do AIDS (Carrington et al. 1997; Martin et al. 1998) (Tabela 1, pag. 11). As alterações na região promotora da CCR5 parecem não influenciar a infecção por cepas R5 do HIV-1, porém, em alguns casos, são capazes de modificar o curso da progressão para AIDS. Estes SNPs (do inglês, *Single Nucleotide Polymorphism*) podem comprometer a regulação gênica, afetando a transcrição e/ou a expressão da proteína na superfície celular e provavelmente a patogenicidade do HIV-1 (McDermott et al. 1998). Esses efeitos causados pelos polimorfismos podem interferir aumentando o nível da expressão da CCR5 na membrana acarretando uma aceleração na progressão para AIDS. Algumas mutações descritas nessa região do gene como, por exemplo, a 29 A/G (58755 G ou -2733) e a 303 A/G (59029

A ou -2459) estão associadas à aceleração da progressão para a doença (McDermott et al, 1998; Ometto et al, 2001). Por outro lado, as variações com efeito contrário conduzem a uma progressão lenta para a doença, como a mutação 927 C/T (59653 T ou -1835) (Lewandowska et al, 2002).

Um alelo mutante do gene CCR5 que contém uma deleção em 32 nucleotídeos (CCR5 Δ 32) resulta num correceptor não funcional para a entrada do HIV. Tendo em vista que as cepas R5 do HIV que utilizam a CCR5 é a principal responsável pela infecção primária, indivíduos homozigotos para CCR5 Δ 32 estão quase integralmente protegidos da infecção pelo HIV-1. A heterozigozidade para a mutação CCR5 resulta na redução da expressão deste correceptor na superfície celular e na diminuição da infectabilidade dos linfócitos T desses pacientes, em comparação com as células de indivíduos com CCR5 do tipo selvagem. Embora a heterozigozidade para CCR5 ofereça proteção parcial contra a infecção pelo HIV-1, poderá ter como resultado o retardo da progressão da doença em indivíduos infectados. De fato, tem sido demonstrado que quando o gene humano que expressa a molécula CD4 é transfectado para células de camundongos não há infecção pelo HIV-1 (O'Brien, 1996).

Investigações para a ocorrência dessa mutação apontam que a prevalência de heterozigotos foi de 5.3% em descendentes Africanos não infectados e 8.8% em indivíduos HIV-1 positivos. Descendentes de alemães foram 11% heterozigotos e 1% homozigotos. Ameríndios foram exclusivamente CCR5/CCR5. Entretanto, observa-se que a população brasileira não possui igual distribuição de CCR5 Δ 32 quando considerado a ascendência étnica (Grimaldi et al. 2002).

Foram também identificadas outras proteínas da família dos receptores de quimiocinas capazes de mediar a infecção por HIV. Embora com frequência menor do que as moléculas de CCR5 e CXCR4 os correceptores CCR2, CCR3, STRL33/BONZO/TYMSTR, BOB/GPR15 e Apj podem ser utilizados por algumas cepas de HIV-1.

CCR2 (cysteine-cysteine (c-c)-linked chemokine receptor – 2)

A proteína CCR2 é um receptor de MCP1 (*monocyte chemoattractant protein*), e, assim como a CCR5 também é uma proteína transmembranar multipasso constituída de sete domínios, associada à proteína G, localizada no cromossomo 3p21. O gene da CCR5 e da CCR2 estão intimamente ligados e separados por aproximadamente 14 Kb (Martin et al. 1998). Análises da estrutura genômica da CCR2 mostraram que este gene é composto por 3 exons com cerca de 7 Kb de extensão, e possui as isoformas CCR2A e CCR2B, resultantes de splicing alternativo (Wong et al. 1997).

Uma transição de G para A no nucleotídeo 190 que resulta numa troca do aminoácido valina pela isoleucina na posição 64 (CCR2-64I) no primeiro domínio transmembranar da CCR2 foi descrita (Smith et al. 1997). Análises de distribuição da CCR2-64I em diferentes grupos étnicos mostraram que esse alelo é mais frequente em asiáticos (0,250), e possui uma baixa frequência na população europeia (0,098), sendo intermediária em africanos (0,151) (Smith et al. 1997; Martinson et al. 2000; Mangano et al. 2000; Acosta et al. 2003). Além disso, foi demonstrado que o SNP CCR2-64I possui associação com a diminuição da progressão para AIDS apenas em populações de origem afro-americana (Mummidi et al. 1997).

Os *loci* CCR5 e CCR2 estão em desequilíbrio de ligação, ou seja, a Δ 32 ocorre invariavelmente em um cromossomo com alelo 64V, enquanto que a mutação 64I ocorre em um cromossomo sem a mutação Δ 32 no gene da CCR5 (Smith et al. 1997).

SDF-1 (Stromal Cell-Derived Factor 1)

Desde a identificação dos receptores de quimiocinas e seus ligantes, mostrou-se uma estreita associação entre alguns polimorfismos nos respectivos genes e a susceptibilidade à infecção pelo HIV-1 ou a progressão para AIDS (Deng et al. 1996; Smith et al. 1997; Mummidi et al. 1998; O'Brien et al 2000). Littman e cols. (1998) sugeriu

que a quimiocina SDF-1, ligante natural para a CXCR4, teria participação na infecção pelo HIV-1 em células humanas. A partir desses dados, foram feitos estudos buscando a correlação da SDF-1 com a infecção pelo HIV-1 e/ou progressão para AIDS.

Identificou-se então uma mutação caracterizada pela transição de uma guanina para uma adenina no nucleotídeo 801 na região 3' UTR (*Untranslated Region*) do gene da SDF-1, chamada de SDF1-3'A. Esse polimorfismo é prevalente em todos os grupos étnicos, exceto em africanos. A SDF-1 é o principal ligante natural do receptor CXCR4, tendo uma função importante na ativação e atração linfocitária. Porém, ainda não está bem estabelecido se a SDF1-3'A não está associada com o aumento ou diminuição da progressão para AIDS (Winkler *et al.* 1998; Mummidi *et al.* 1998; van Rij *et al.* 1998; Brambilla *et al.* 2000).

Estudos mostraram que a prevalência dessa mutação em diferentes populações do mundo varia significativamente e que as frequências alélicas estão relacionadas entre grupos étnicos distintos e regiões geográficas (Grimaldi *et al.* 2010).

Pela complexidade da regulação da expressão dos genes dos correceptores e seus ligantes, assim como outros fatores relacionados à imunologia do hospedeiro e ao fenótipo viral, entender os mecanismos e identificar as variações genéticas que modulam suas expressões podem ser de significante importância para a terapêutica e/ou prevenção da AIDS.

Aspectos Gerais da Genética na População Brasileira

O Brasil possui uma das populações mais heterogêneas do mundo, resultado de cinco séculos de cruzamentos inter-étnicos de populações de três diferentes continentes: colonizadores europeus, representados principalmente por portugueses, escravos africanos, e os ameríndios (Parra *et al.* 2003). Embora os fatores genéticos do hospedeiro sejam importantes na pesquisa básica do HIV/AIDS, há poucos relatos sobre a frequência destes polimorfismos entre as populações de

indivíduos infectados e não infectados pelo HIV-1 no Brasil. Já foi demonstrado que a grande maioria dos cromossomos Y de indivíduos brasileiros brancos, desconsiderando região geográfica, tem ascendência europeia, com uma frequência muito baixa de contribuição dos africanos subsaarianos e ausência desses cromossomos herdados de ameríndios. Por outro lado, pela análise do DNA mitocondrial demonstrou-se uma contribuição de 33% e 28% de ameríndios e africanos, respectivamente. Juntos, esses resultados sugerem fortemente a participação dos homens europeus e mulheres africanas e ameríndias contribuindo com o background genético da população brasileira (Carvalho-Silva *et al.* 2001). Além disso, existe uma considerável heterogeneidade “filogeográfica” devido ao fato de diferentes grupos populacionais migrarem entre as regiões do país. Quando analisado o DNA mitocondrial de populações das quatro principais regiões do Brasil, observou-se uma concordância com o que seria esperado com base nos dados históricos: predominância de linhagem materna ameríndia no Norte, predominância de linhagem africana no Nordeste, um equilíbrio no Sudeste e, predominância europeia no Sul.

O Polimorfismo de genes clássicos de HLA-A, HLA-B, HLA-C, HLA-DR, e de HLA-DQ difere extremamente entre as populações, nas frequências e na presença dos alelos e dos haplótipos particulares aos grupos da população, fazendo destes genes ferramentas poderosas para o estudo das origens das populações e do seu grau de mistura. As estimativas genéticas da distância entre populações, e do grau de mistura, podem ser analisados através do HLA. De fato, alguns estudos utilizando os polimorfismos dos genes HLA têm demonstrado que de acordo com a classificação fenotípica, a população branca brasileira é de origem predominantemente europeia, com uma contribuição menor de genes africanos e ameríndios (Probst *et al.* 2000).

Considerando que a epidemia de HIV/AIDS é um sério problema de saúde pública em nosso país, é de grande importância obter melhor conhecimento

a respeito da genética da população assim como a influência dos diversos polimorfismos na infecção pelo HIV-1 e progressão para AIDS. Como na população de Salvador observa-se uma mistura populacional, principalmente de descendentes de africanos e portugueses, a prevalência e a distribuição das mutações nos genes CCR5 e CCR2 poderão apresentar um perfil distinto em relação a outras populações. Em relação a população de ameríndios, os Tiriyó habitam uma reserva localizada na parte Noroeste do Parque Tumucumaque, no Norte do Pará, fronteira com o Suriname. Atualmente, estão localizados junto à base da Missão Franciscana, conhecida como Missão Tiriyó. Os Waiampi vivem em ambos os lados da fronteira entre o Brasil e a Guiana Francesa, numa região bastante acidentada e de difícil acesso, na porção Noroeste do Amapá. Estes indivíduos têm como ancestrais os mongóis que migraram através do estreito de Behring há cerca de 40 mil anos e povoaram as Américas e até hoje permanece, na maioria das vezes, isolados. Essas tribos representam a população brasileira com ascendência asiática em nosso estudo. A população caucasóide brasileira, representada por doadores de sangue de Joinville, perfaz uma amostragem de um terceiro grupo étnico brasileiro. Com o estudo da distribuição dos polimorfismos no gene da CCR5, CCR2 e SDF-1 nessas diferentes populações brasileiras podemos melhor avaliá-las, obtendo-se um panorama regional das influências genéticas envolvidas na infecção pelo HIV-1 nas subpopulações que constituem a população brasileira.

Terapias para Infecção Causada pelo HIV

O tratamento da infecção causada pelo vírus da imunodeficiência humana tipo 1 (HIV-1) evoluiu com rapidez. A evolução do conhecimento e os avanços na utilização de recursos diagnósticos e terapêuticos, principalmente com o advento da terapia combinada de alta potência (HAART, do inglês *Highly Active Antiretroviral Therapy*) em 1996, têm se mostrado decisivos no aumento da sobrevida de indivíduos com infecção pelo HIV. A

eficácia das associações terapêuticas aliadas à acessibilidade aos medicamentos permite, atualmente, classificar essa infecção como uma doença crônica, deslocando progressivamente a atenção aos pacientes para a rede ambulatorial (Oliveira et al. 2009). Inicialmente foram aprovados para o tratamento da infecção causada pelo HIV inibidores da transcriptase reversa (TR), mais tarde novos agentes antirretrovirais foram apresentados, incluído os inibidores da protease do HIV, os inibidores da transcriptase reversa não-análogos de nucleosídeo (NNRTIs) e um inibidor da fusão. Atualmente, o tratamento da infecção causada pelo HIV-1 requer uma compreensão da dinâmica da replicação viral, da potência do antiviral, da farmacocinética e toxicidade de cada droga e da interação entre as drogas combinadas. Ademais, as estratégias terapêuticas apropriadas requerem o conhecimento das limitações impostas pela falha de uma droga em relação ao uso futuro da mesma ou de uma droga da mesma classe. Uma nova classe de remédios ascende à esperança no tratamento da AIDS. A aposta está nos inibidores de entrada e no uso mais inteligente dos inibidores de transcriptase reversa. O processo de entrada do HIV-1 nas células hospedeiras é complexo e requer várias etapas distintas; cada uma formando um alvo separado para a inibição da entrada. A ligação viral à célula hospedeira é alcançada através da ligação do complexo da glicoproteína do envelope viral gp160 com seu receptor celular CD4. O complexo gp160 consiste em uma glicoproteína externa gp120 e de uma glicoproteína transmembrana gp41 que ancora a gp120 no envelope viral. A gp120 se liga com alta afinidade à superfície moleculares das células CD4 do hospedeiro. A ligação provoca mudanças conformacionais na gp120 de modo a expor um sítio previamente escondido capaz de ligar com outro receptor da célula hospedeira. Esse segundo receptor (chamado correceptor para distingui-lo do receptor principal CD4) normalmente é o receptor das quimocinas CCR5 ou CXCR4. Os isolados clínicos do HIV-1 que apresentam tropismo por macrófagos, os quais são normalmente encontrados

na fase inicial da infecção, usam CCR5; isolados clínicos que apresentam tropismo e por células T que às vezes são vistos tardiamente na infecção pelo HIV-1 e são capazes de induzir sincício, usam CXCR4. Várias moléculas pequenas que inibem a ligação de gp120 a outro correceptor estão sendo investigadas como drogas antirretrovirais em potencial (Hans et al. 2008).

Allers e cols. (2010) sugeriram a possibilidade da erradicação do HIV, até mesmo em linfonodos, através de transplante de células tronco carregando a mutação $\Delta 32$ em homozigose ($\Delta 32/\Delta 32$). Esse estudo demonstrou que a carga viral, no indivíduo transplantado, permaneceu indetectável por mais de 3,5 anos após a interrupção da terapia antirretroviral.

O Brasil é um dos primeiros países a adotar políticas de saúde significativas para a melhoria do atendimento dos portadores do HIV. Entre essas políticas, destaca-se o acesso universal e gratuito da população aos medicamentos usados no tratamento de AIDS. A política brasileira sobre o acesso universal à ART alcançou bons resultados, tais como a redução da morbidade e da mortalidade e da redução do número de hospitalizações e custos de tratamento. Para a continuação e desenvolvimento deste sucesso, taxas de alta aderência devem ser mantidas em todo o país. Para que isso aconteça, além de garantir o acesso ao tratamento, é necessário melhorar a qualidade do atendimento e também investir em políticas que reduzam os problemas sociais e culturais que afetam os doentes que vivem com AIDS.

Conclusão

A infecção pelo HIV representa um dos maiores problemas de saúde pública do mundo. O aumento do número de pessoas que vivem hoje com AIDS atribui-se a dois fatores principais: alta taxa de novas infecções e aumento de benefícios relacionados a terapia antiretroviral. A AIDS continua sendo uma das principais prioridades na saúde global. Apesar de importantes evoluções no campo de pesquisa em relação à prevenção contra

novas infecções, e apesar das mortes terem sido reduzidas, o número de pessoas vivendo com AIDS continua crescendo (UNAIDS, 2014).

Vários mecanismos estão sendo estudados para inibir o reconhecimento e a entrada do HIV-1 nas células T CD4⁺. Depois da descoberta do CCR5 e de seus ligantes (MIP-1 α , MIP-1 β e RANTES), os medicamentos anti-CCR5 foram explorados e novos mecanismos de ação foram desvendados. Além disso, os estudos com transplante de células tronco carregando a mutação $\Delta 32$ em homozigose têm renovado o interesse em uma cura para a infecção pelo HIV.

Tabela 1: Variantes genéticas na região codificante descritas no gene da CCR5.

Variante	Substituição no ácido nucléico	No. de alelos observados (frequência)	
		Caucasianos	Afro- americanos
I12L	A25C	1/382 (.003)	0/664 (.0)
C20S	T58A	2/698 (.003)	0/664 (.0)
A29S	G85T	ND	1/64 (.015)
I42F	A124T	1/170 (.001)	ND
L55Q	T164A	29/708 (.041)	5/664 (.007)
R60S	G180T	ND	1/76 (.013)
A73V	C218T	3/462 (.002)	0/664 (.0)
S75S	T215C	0/212 (.0)	9/664 (.013)
C101X	T303A	ND	1/70 (.014)
I164I	C492A	1/98 (.010)	ND
Δ32 (185)	Δ32	520/5,210 (.10)	38/2,030 (.019)
R223Q	G668A	1/64 (.016)	ND
228delK	680del3	1/490 (.002)	0/494 (.0)
V300V	C900A	1/242 (.0)	0/100 (.0)
G301V	G902T	1/90 (.011)	0/268 (.0)
A335V	C1004T	1/174 (.006)	12/484 (.025)
Y339F	A1016T	0/242 (.0)	3/116 (.026)

ND = não determinado

Fonte: Carrington *et al.* 1997.

Tabela 2: Variantes genéticas na região codificante descritas no gene da CCR5.

Region/city	Population	n	Genotypes					P-value
			CCR5/CCR5 n (%)	CCR5/ Δ 32 n (%)	Δ 32/ Δ 32 n (%)	Δ 32 allelic frequency	χ^2 (df=1)	
South/Joinville	Blood donors	99	87 (87.9)	11 (11.1)	1 (1)	0.065	1.022	0.20<P<0.50
Northeast/Salvador	HIV-negative	549	520 (94.7)	29 (5.3)	0 (0)	0.026	0.404	0.50<P<0.80
	HIV-positive	113	103 (91.2)	10 (8.8)	0 (0)	0.044	0.242	0.50<P<0.80
North/Amerindian	Tiriyó	180	180 (100)	0 (0)	0 (0)	0.0	–	–
	Waiampi	221	221 (100)	0 (0)	0 (0)	0.0	–	–
Total		1.162	1.111 (95.6)	50 (4.3)	1 (0.1)	0.022	0.033	0.80<P<0.95

REFERÊNCIAS

- Acosta, A. X.; Grimaldi, R. S. *et al.* - Distribution of the CCR2-64I allele in three Brazilian ethnic groups. *Genet Mol Biol.* 26: 3, 241-3, 2003.
- Alkhatib G, Combadiere C, Berger, EA. CC-CKR5: A RANTES, MIP-1 α and MIP-1 β receptor as a fusion cofactor for macrophage-tropic HIV-1. *Science* 1996;272:1955-1958.
- Allers K, Hütter G, Hofmann J, Loddenkemper C, Rieger K, Thiel E, Schneider T. Evidence for the cure of HIV infection by CCR5 Δ 32/ Δ 32 stem cell transplantation. *Blood.* 2011 Mar 10;117(10):2791-9. doi: 10.1182/blood-2010-09-309591. Epub 2010 Dec 8.
- Almeida SE, de Medeiros RM, Junqueira DM et al. Temporal dynamics of HIV-1 circulating subtypes in distinct exposure categories in southern Brazil. *Virol J.* 2012;9:306.
- Bongertz V, Bou-Habib DC, Brigido LF, Caseiro M, Chequer PJ, Couto-Fernandez JC, et al. HIV-1 diversity in Brazil: genetic, biologic and immunologic characterization of HIV-1 strains in three potential HIV vaccine evaluation sites. Brazilian Network for HIV Isolation and Characterization. *J Acquir Immune Defic Syndr.* 2000 Feb 1;23(2): 184-93.
- Brambilla A1, Villa C, Rizzardi G, Veglia F, Ghezzi S, Lazzarin A, Cusini M, Muratori S, Santagostino E, Gringeri A, Louie LG, Sheppard HW, Poli G, Michael NL, Pantaleo G, Vicenzi E. Shorter survival of SDF1-3'A/3'A homozygotes linked to CD4+ T cell decrease in advanced human immunodeficiency virus type 1 infection. *J Infect Dis.* 2000 Jul;182(1):311-5.
- Grimaldi, R. Fatores Genéticos Associados à Susceptibilidade e Resistência à infecção pelo HIV. 2014.
- Arenzana-Seisdedos F, Virelizier JL, Rousset D, Clark-Lewis I, Loetscher P, Moser B, Baggiolini M. HIV blocked by chemokine antagonist. *Nature* 1996;383:400.
- Bannwarth S, Gatignol A. HIV-1 TAR RNA: the target of molecular interactions between the virus and its host. *Curr HIV Res.* 2005 Jan;3(1):61-71.
- Barré-Sinoussi F, Chermann JC, Rey F, Nugeyre MT, Chamaret S, Gruest J, Dauguet C, Axler-Blin C, Vézinet-Brun F, Rouzioux C, Rozenbaum W, Montagnier L. Isolation of a T-lymphotropic retrovirus from a patient at risk for acquired immune deficiency syndrome (AIDS). *Science* 1983, 220: 868-71.
- Blanpain C, Lee B, Tackoen M, Puffer B, Boom A, Libert F, Sharron M, Wittamer V, Vassart G, Doms RW, Parmentier M. Multiple nonfunctional alleles of CCR5 are frequent in various human populations. *Blood* 2000;96(5):1638-1645.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de DST, AIDS e Hepatites Virais. Boletim Epidemiológico HIV/AIDS. Brasília, 2014. ISSN 1517 1159.
- Carrington M, Kissner T, Gerrard B, Ivanov S, O'Brien SJ, Dean M. Novel alleles of the chemokine-receptor gene CCR5. *Am J Hum Genet.* 1997 Dec;61(6):1261-7.
- Carvalho-Silva DR, Santos FR, Rocha J, Pena SD. The phylogeography of Brazilian Y-chromosome lineages. *Am J Hum Genet.* 2001 Jan;68(1):281-6.
- Cocchi F, De Vico AL, Lusso P. Identification of RANTES, MIP-1 α and MIP-1 β as the major HIV-suppressive factors produced by CD8+ T cells. *Science* 1995;270:1811-1815.

Connor RI, Sheridan KE, Ceradini D, Shoe S, and Landau NR. Change in coreceptor use correlates with disease progression in HIV-1 infected individuals. *J Exp Med* 1997;185:621-628.

Cullen, B. R. - HIV-1 auxiliary proteins: making connections in a dying cell. *Cell*. 29;93(5):685-92. Review, 1998.

De Pinho Lott Carvalhaes FA, Cardoso GL, Hamoy IG, Liu YT, Guerreiro JF. Distribution of CCR5-delta32, CCR2-64I, and SDF1-3'A mutations in populations from the Brazilian Amazon region. *Hum Biol*. 2004 Aug;76(4):643-6.

de Queiroz, A. T.; Mota-Miranda, A. C. *et al.* - Remapping the molecular features of the human immunodeficiency virus type 1 and human T-cell lymphotropic virus type 1 Brazilian sequences using a bioinformatics unit established in Salvador, Bahia, Brazil, to give support to the viral epidemiology studies. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 102(2):133-9, 2007.

de Roda Husman AM, Koot M, Cornelissen M, Keet IP, Brouwer M, Broersen SM, Bakker M, Roos MT, Prins M, de Wolf F, Coutinho RA, Miedema F, Goudsmit J, Schuitemaker H. Association between CCR5 genotype and the clinical course of HIV-1 infection. *Ann Intern Med* 1997;127:882-90.

Deng H, Liu R, Ellmeier W, Choe S, Unutmaz D, Burkhart M, Di Marzio P, Marmon S, Sutton RE, Hill CM, Davis CB, Peiper SC, Schall TJ, Littman DR, Landau NR. Identification of a major co-receptor for primary isolates of HIV-1. *Nature* 1996;381: 661-66.

Desgranges C, Carvajal P, Afani A, Guzman MA, Sasco A, Sepulveda C. Frequency of CCR5 gene 32-basepair deletion in Chilean HIV-1 infected and non-infected individuals. *Immunol Lett*. 2001 Mar 1;76(2):115-7.

Grimaldi, R. Fatores Genéticos Associados à Susceptibilidade e Resistência à infecção pelo HIV. 2014.

Doms RW, Peiper SC. Unwelcomed guests with master keys: how HIV uses chemokine receptors for cellular entry. *Virology* 1997;235: 179-190.

Doranz B, Rucker J, Yi Y, Smyth RJ, Samson M, Peiper SC, Parmentier M, Collman RG and Doms RW. A dual-tropic primary HIV-1 isolate that uses fusin and β -chemokine receptors CKR-5, CKR-3 and CKR-2b as fusion cofactors. *Cell* 1996;85: 1149-1158.

Drajic T, Litwin V, Allaway GP. HIV-1 entry into CD4+ cells is mediated by the chemokine receptor CC-CKR-5. *Nature* 1996;381 (6584): 667-73.

Federspiel B, Melhado IG, Duncan AM. Molecular cloning of the cDNA and chromosomal localization of the gene for a putative seven-transmembrane segment (7-TMS) receptor isolated from human spleen. *Genomics* 1993;16(3):707-712.

Fellay, J.; Ge, D.; Shianna, K.V.; Colombo, S.; Ledergerber, B.; Cirulli, E.T.; Urban, T.J.; Zhang, K.; Gumbs, C.E.; Smith, J.P.; et al. Common genetic variation and the control of HIV-1 in humans. *PLoS Genet*. 2009, 5, e1000791.

Gallo RC, Sarin PS, Gelmann EP, Robert-Guroff M, Richardson E, Kalyanaraman VS, Mann D, Sidhu GD, Stahl RE, Zolla-Pazner S, Leibowitch J, Popovic M. Isolation of human T-cell leukemia virus in acquired immune deficiency syndrome (AIDS). *Science*. 1983 May 20;220(4599):865-7.

Grimaldi, R. S.; Shindo, S. et al. - Prevalence of the CCR5 Δ 32 mutation in Brazilian populations and cell susceptibility to HIV-1 infection. *Hum Genet*. 111: 102–4, 2002.

Grimaldi R, Acosta A, Cabral-Oliveira FC, Brites C, Galvão B. Study of the CCR5-m303 mutation in

three different ethnic groups from Brazil. *Genet. Mol. Bio.* 2005, 28, 2, 214-217.

Grimaldi, R. S.; Acosta A. X. *et al.* - Distribution of SDF1-3'A polymorphisms in three different ethnic groups from Brazil. *Braz J Infect Dis.* 14(2): 197-200, 2010.

Hans P Schlecht; Sarah Schellhorn; Bruce J Dezube; Jeffrey M Jacobson New approaches in the treatment of HIV/AIDS – focus on maraviroc and other CCR5 antagonists *Therapeutics and Clinical Risk Management* 2008;4(2) 473–485

Herzog H, Hort YJ, Shine J. Molecular cloning, characterization, and localization of the human homolog to the reported bovine NPY Y3 receptor: lack of NPY binding and activation. *DNA Cell Biol* 1993;12(6):465-71.

Jaffar, S.; Grant, A.D. *et al.* - The natural history of HIV-1 and HIV-2 infections in adults in Africa: a literature review. *Bull World Health Organ.* 82(6):462-9, 2004.

Kandathil AJ, Ramalingam S, Kannangai, R, Shoba David & G. Sridharan. Molecular Epidemiology of HIV. *Indian J Med Res* 2005; v:121, pp 333-344.

Le Rouzic E, Benichou S. The Vpr protein from HIV-1: distinct roles along the viral life cycle. *Retrovirology.* 2005;22;2(1):11.

Leboute AP, Carvalho MW, Simões AL, 1999. Absence of the Δ CCR5 mutation in indigenous population of the Brazilian Amazon. *Hum. Genet.* 105:442-443.

Lewandowska M, Jagodzinski PP, Trzeciak WH. Decreased density of the CCR5 receptor on the surface of CD4⁺ lymphocytes and monocytes/macrophages is associated with the

CCR5-59653T transition in the promoter region. *Folia Histochem Cytobiol.* 2002;40(2):101-2

Littman DR. Chemokine receptors: key to AIDS pathogenesis? *Cell* 1998;93: 677-680.

Liu R, Paxton WA, Landau NR. Homozygous defect in HIV-1 coreceptor accounts for resistance of some multiply-exposed individuals to HIV-1 infection. *Cell* 1996;86: 367-77.

Liu R, Paxton WA, Landau NR. Homozygous defect in HIV-1 coreceptor accounts for resistance of some multiply-exposed individuals to HIV-1 infection. *Cell* 1996;86: 367-77.

Mackewicz CE, Barker E, Levy JA. Role of β -chemokines in suppressing HIV replication. *Science* 1996;274:1393-1394.

Maeda N, Koyanagi Y, Misawa N, Miyano-Kurosaki N, Kira J, Yamamoto N. Acquisition of HIV type 1 resistance by β -chemokine producing CD4⁺ T cells. *AIDS res hum retrov* 1999;15:16 1453-1460.

Mangano A, Theiler G, Sala L, Capucchio M, Fainboim L, Sen L Distribution of CCR5-Delta 32 and CCR2-64I alleles in an Argentine Amerindian population. *Tissue Antigens.* 2001 Aug;58(2):99-102.

Martin MP, Dean M, Smith MW, Carrington.. Genetic acceleration of AIDS progression by a promoter variant of CCR5. *Science* 1998;282(4):1907-1911.

McDermott DH, Zimmerman PA, Guignard F, Kleeberger CA, Leitman SF, MACS and Murphy PM. CCR5 promoter polymorphism and HIV-1 disease progression. *The Lancet* 1998;352:866-870.

Grimaldi, R. Fatores Genéticos Associados à Susceptibilidade e Resistência à infecção pelo HIV. 2014.

Mummidi S, Ahuja SS, Gonzales E, Anderson SA, Santiago EN, Stephan KT, Craig FE, O'Connell P, Tryon V, Clark RA, Dolan MJ, Ahuja SK. Genealogy of the CCR5 locus and chemokine system gene variants associated with altered rates of HIV-1 disease progression. *Nature Med* 1998;4:786-793.

Mummidi S, Ahuja SS, McDaniel BL, Ahuja SK. The human CC chemokine receptor 5 (CCR5) gene. Multiple transcripts with 5'-end heterogeneity, dual promoter usage, and evidence for polymorphisms within the regulatory regions and noncoding exons. *J Biol Chem*. 1997 Dec 5;272(49):30662-71.

Munerato P, Azevedo ML, Sucupira MC, Pardini R, Pinto GH, Catroxo M, Souza IE, Diaz RS. Frequency of polymorphisms of genes coding for HIV-1 co-receptors CCR5 and CCR2 in a Brazilian population. *Braz J Infect Dis*. 2003 Aug;7(4):236-40.

Nomura H, Nielsen BW, Matsushima K. Molecular cloning of cDNAs encoding a LD78 receptor and putative leukocyte chemotactic peptide receptors. *Int Immunol* 1993;5(10):1239-49.

O'Brien SJ, Dean M. In search of AIDS-resistance genes. *Scientific American* 1997;28-36.

O'Brien, S. J. & Nelson, G. W. - Human genes that limit AIDS. *Nat Genet*. 36(6):565-74. Review, 2004.

O'Brien SJ, Moore JP. The effect of genetic variation in chemokines and their receptors on HIV transmission and progression to AIDS. *Immunol Rev*. 2000 Oct;177:99-111.

Oliveira AJ, Osti NM, Parise Filho R, Chorilli M. Novas abordagens no desenvolvimento de

fármacos antirretrovirais. *Revista da Ofil* 2009, 19; 1: 42-56.

Ometto L., Zanchetta M, Cabrelle A, Esposito G, Mainardi M, Chieco-Bianchi L, De Rossi A, 2001. Restriction of HIV type 1 infection in macrophages heterozygous for a deletion in the CC-chemokine receptor 5 gene. *AIDS Res. Hum. Retroviruses*, 15:16, 1441-1452.

Parra FC, Amado RC, Lambertucci JR, Rocha J, Antunes CM, Pena SD. Color and genomic ancestry in Brazilians. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2003 Jan 7;100(1):177-82.

Passos GA Jr, Picanço VP. Frequency of the delta ccr5 deletion allele in the urban Brazilian population. *Immunol Lett*. 1998 Apr;61(2-3):205-7.

Probst CM, Bompeixe EP, Pereira NF, de O Dalalio MM, Visentainer JE, Tsuneto LT, Petzl-Erler ML. HLA polymorphism and evaluation of European, African, and Amerindian contribution to the white and mulatto populations from Paraná, Brazil. *Hum Biol*. 2000 Aug;72(4):597-617.

Quillent C, Oberlin E, Braun J, Rousset D, Gonzalez-Canali G, Meais P, Montagnier L, Virelizier J-L, Arenzana-Seisdedos F, Bereta A, 1998. HIV-1-resistance phenotype conferred by combination of two separate inherited mutation of CCR5 gene. *Lancet* 351:14-18.

Samson M, Libert F, Doranz BJ. Resistance to HIV-1 infection in Caucasian individuals bearing mutant alleles of the CCR5 chemokine receptor gene. *Nature* 1996;382: 722-25.

Scarlata S, Carter C. Role of HIV-1 Gag domains in viral assembly. *Biochim Biophys Acta*. 2003;11;1614(1):62-72.

Smith MW, Dean M, Carrington M, Winkler C, Huttley GA, Lomb DA, O'Brien. Contrasting genetic influence of CCR2 and CCR5 variants on HIV-1 infection and disease progression. *Science* 1997;277:959-965.

Sol N, Ferchal F, Braun J, Pleskoff O, Trébouté C, Ansart I, Alizon M. Usage of the coreceptors CCR5, CCR3, and CXCR4 by primary and cell line-adapted human immunodeficiency virus type 2. *J. Virology* 1997;71: 11, 8237-8244.

Tarosso LF, Sanabani SS, Ribeiro SP, et al. HIV type 1 subtype BF leads to faster CD4⁺ T cell loss compared to subtype B. *AIDS Res Hum Retroviruses*. 2014 Feb;30(2):190-4.

Ugolini S, Mondor I, Sattentau QJ. HIV-1 attachment: another look. *Trends Microbiol* 1999;7:144-149.

UNAIDS. 1992 Report on the global AIDS epidemic.

UNAIDS. 2012 Report on the global AIDS epidemic.

van Rij RP, Broersen S, Goudsmit J, Coutinho RA, Schuitemaker H. The role of a stromal cell-derived factor-1 chemokine gene variant in the clinical course of HIV-1 infection. *AIDS*. 1998 Jun 18;12(9):F85-90.

Velasco-de-Castro CA, Grinsztejn B, Veloso VG, et al. HIV diversity and drug resistance mutations among people seeking HIV diagnosis in voluntary counseling and testing sites in Rio de Janeiro, Brazil. *PLoS One*. 2014;9(1):e87622.

Voevodin A, Samilchuk E, Dashti S. Frequencies of SDF-1 chemokine, CCR-5, and CCR-2 chemokine receptor gene alleles conferring resistance to human immunodeficiency virus type 1

and AIDS in Kuwaitis. *J Med Virol*. 1999 May;58(1):54-8.

Wang FS, Hong WG, Cao Y, Liu MX, Jin L, Hu LP, Wang Z, Feng TJ, Hou J, Zhang B, Shi M, Xu DP, Lei ZY, Wang B, Liu ZD, Ye JJ, Peng L, Qiu Y, Winkler C. Population survey of CCR5 delta32, CCR5 m303, CCR2b 64I, and SDF1 3'A allele frequencies in indigenous Chinese healthy individuals, and in HIV-1-infected and HIV-1-uninfected individuals in HIV-1 risk groups. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2003 Feb 1;32(2):124-30.

Weissenhorn W, Chen YH, Reiter C, Federle C, Weiss EH, Riethmüller G, Rieber EP. Structural diversity of monoclonal CD4 antibodies and their capacity to block the HIV gp120/CD4 interaction. *Hybridoma*. 1996 Apr;15(2):117-24.

Weissenhorn, W.; Wharton, S.A. *et al.* - The ectodomain of HIV-1 env subunit gp41 forms a soluble, alpha-helical, rod-like oligomer in the absence of gp120 and the N-terminal fusion peptide. *EMBO J*. 15(7): 1507-14, 2006.

Williamson C, Loubser SA, Brice B, Joubert G, Smit T, Thomas R, Visagie M, Cooper M, van der Ryst E. Allelic frequencies of host genetic variants influencing susceptibility to HIV-1 infection and disease in South African populations. *AIDS*. 2000 Mar 10;14(4):449-51.

Winkler C, Modi W, Smith MW, Nelson GW, Wu X, Carrington M, Dean M, Honjo T, Tashiro K, Yabe D, Buchbinder S, Vittinghoff E, Goedert JJ, O'Brien TR, Jacobson LP, Detels R, Donfield S, Willoughby A, Gomperts E, Vlahov D, Phair J, O'Brien SJ. Genetic restriction of AIDS pathogenesis by an SDF-1 chemokine gene variant. ALIVE Study, Hemophilia Growth and Development Study (HGDS), Multicenter AIDS Cohort Study (MACS), Multicenter Hemophilia

Cohort Study (MHCS), San Francisco City Cohort (SFCC). Science. 1998 Jan 16;279(5349):389-93.

Wong LM, Myers SJ, Tsou CL, Gosling J, Arai H, Charo IF. Organization and differential expression of the human monocyte chemoattractant protein 1 receptor gene: evidence for the role of the carboxyl-terminal tail in receptor trafficking. J. Biol. Chem. 1997;272:1038-1045.

Zimmerman PA, Buckler-White A, Alkhatib G, Spalding T, Kubofcik J, Combadiere C, Weissman D, Cohen O, Rubbert A, Lam G, Vaccarezza M, Kennedy PE, Kumaraswami V, Giorgi JV, Detels R, Hunter J, Chopek M, Berger EA, Fauci AS, Nutman TB, Murphy PM. Inherited resistance to HIV-1 conferred by an inactivating mutation in CC chemokine receptor 5: studies in populations with contrasting clinical phenotypes, defined racial background, and quantified risk. Mol. Med 1997;3 (1):23-36.