



**Universidade de Brasília – UNB
Faculdade de Medicina
Pós-Graduação em Patologia Molecular**

Marília Masson Loureiro dos Reis

**Caracterização de Marcadores Moleculares Relacionados à Progressão da
Infecção pelo HIV-1**

**Brasília
2019**

Universidade de Brasília – UNB
Pós-Graduação em Patologia Molecular – Faculdade de Medicina

Marília Masson Loureiro dos Reis

**Caracterização de Marcadores Moleculares Relacionados à Progressão da
Infecção pelo HIV-1**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Patologia Molecular da Universidade de Brasília – UNB, como requisito obrigatório para obtenção do título de Mestre.

Orientador: Enrique Roberto Argañaraz

Brasília

2019

Universidade de Brasília – UNB
Pós-Graduação em Patologia Molecular – Faculdade de Medicina

Marília Masson Loureiro dos Reis

**Caracterização de Marcadores Moleculares Relacionados à Progressão da
Infecção pelo HIV-1**

Banca Examinadora

Prof. Dr.

Prof. Dr.

Prof. Dr.

AGRADECIMENTOS

Talvez esta seja a parte mais difícil da tese para escrever, possivelmente porque a vida não se coloca em análise de regressão e não é pelo valor p que descobrimos a significância das pessoas em nosso caminho.

Primeiramente gostaria de agradecer aos meus pais que sempre me deram todo o amor, compreensão, carinho e o apoio necessário durante todo esse período em que estive trabalhando em meu mestrado. Às minhas amigas do laboratório que eu levo para a minha vida e que foram essenciais pela força e incentivo para nunca desistir.

Agradeço à minha família, aos meus amigos que tiveram paciência em momentos de aflição, ao Vallinoto, Joanlise, Keyla, Vinícius, Alice, Alessandra que tiveram grande importância e colaboração no desenvolvimento do meu projeto.

Ao meu orientador Enrique que me ofereceu gentilmente a oportunidade de ter essa experiência em que me trouxe não só um crescimento profissional, mas pessoal também. Finalmente, aos professores da banca o meu muito obrigada por aceitarem o convite e participarem da finalização de mais um ciclo em minha vida.

“Que todos os nossos esforços estejam sempre focados no desafio à impossibilidade. Todas as grandes conquistas humanas vieram daquilo que parecia impossível.” (Charles Chaplin)

RESUMO

Há uma grande variação na suscetibilidade à infecção pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV-1) durante a progressão da doença. A progressão da AIDS depende de complexas interações entre hospedeiro e vírus. As características mais importantes da progressão da doença são a ativação imunológica e a apoptose. Neste estudo abordamos a prevalência de polimorfismos relacionados a genes pró-inflamatórios e apoptóticos, como IFN- γ (+874 T / A), TNF- α (308G / A), IL-6 (-174 G / C), IL-8 (-251 A / T), NLRP3 (C/G), FAS (-670 A / G) e FASL (-124 A / G) em uma coorte multicêntrica altamente miscigenada composta por 84 pacientes infectados com diferentes desfechos clínico, sendo 12 controladores de elite [EC], 29 progressores lentos [LTNPs], e 43 progressores [P]. A genotipagem foi realizada por TaqMan-qPCR. Indivíduos com o genótipo AG presente no polimorfismo FAS (-670 A / G), mostraram uma carga viral significativamente maior ($p= 0,006$). Foi possível observar uma maior associação dos genótipos AG/GG com uma maior carga viral ($p= 0,012$) que a apresentada pelos genótipos AG/AA ($p=0,047$). Por outro lado, para o polimorfismo IL-8 (-251 A / T) foi possível observar um resultado próximo da significância estatística entre o genótipo AT e o grupo de pacientes progressores lentos ($P = 0,054$). Em conclusão, encontramos a variante alélica genética do polimorfismo FAS (-670 A / G) associado à alta carga viral e o polimorfismo IL-8 (-251 A / T) com baixa progressão à doença em uma coorte de pacientes HIV positivos altamente miscigenada.

ABSTRACT

There is great variation in susceptibility to human immunodeficiency virus (HIV-1) infection during disease progression. The progression of AIDS depends on complex interactions between host and virus. The most important characteristics of disease progression are immunological activation and apoptosis. In this study, the prevalence of polymorphisms related to pro-inflammatory and apoptotic genes, such as IFN- γ (+874 T / A), TNF- α (308G / A), IL-8 (-251 A / T), NLRP3 (C / G), FAS (-670 A / G) and FASL (-124 A / G) in a highly miscegenated multicentre cohort composed of 84 patients infected with different clinical outcomes 12 elite controllers [EC], 29 slow progressors [LTNPs], and 43 progressors [P]. Genotyping was performed by TaqMan-qPCR. Individuals with the AG genotype present in the FAS polymorphism (-670 A / G), showed a significantly higher viral load ($p = 0.006$). On the other hand, it was possible to observe a greater association of AG / GG genotypes with a higher viral load ($p = 0.012$) than that presented by AG / AA genotypes ($p = 0.047$). On the other hand, for the IL-8 polymorphism (-251 A / T) it was possible to observe a result near for significant association between the AT genotype and the slow progressor group ($P = 0.054$). In conclusion, we found the genetic allelic variant of FAS polymorphism (-670 A / G) associated with high viral load and IL-8 (-251 A / T) polymorphism with low disease progression in a cohort of highly miscegenated HIV positive patients.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Estrutura da partícula vira do HIV-1.	10
Figura 2. Estrutura genômica do vírus da Imunodeficiência Humana (HIV-1).	11
Figura 3. Infecção pelo HIV – Fases Clínicas (Adaptado de (An and Winkler 2010).	14
Figura 4. Ativação do inflamassoma NLRP3 (Guo, Callaway et al. 2015).	20
Figura 5. Distribuição das frequências genótípicas dos genes IFN γ (a), TNF α (b), IL-6(c), FASL (d), FAS (e) e IL-8 (f) em relação a carga viral.	42

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Presença de polimorfismos em genes de citocinas e associações encontradas e suas possíveis. Influências na progressão para AIDS.	30
Tabela 2. Principais características de pacientes HIV+ utilizados na análise das variações genéticas e alélicas de SNPs presentes em genes relacionados às citocinas inflamatórias e apoptose.	35
Tabela 2.1. Principais características dos pacientes HIV+ utilizados na análise da frequência das variações genéticas e alélicas de SNP presente no gene NLRP3.	35
Tabela 3. Principais características de pacientes HIV+ utilizados na análise da frequência das variações genéticas e alélicas relacionadas ao SNP do gene FAS - 670.	36
Tabela 4. Genes, SNPs e localização genômica.....	37
Tabela 5. Principais características de pacientes HIV+ utilizados na análise das variações genéticas e alélicas de SNPs presentes em genes relacionados às citocinas inflamatórias e apoptose.....	39
Tabela 5.1. Principais características dos pacientes HIV+ utilizados na análise da frequência das variações genéticas e alélicas de SNP presente no gene NLRP3.....	39
Tabela 6. Distribuição das frequências genotípicas e alélicas dos polimorfismos dos genes IL-6, IL-8, TNF α , IFN γ , FAS e FASL em indivíduos infectados pelo HIV com diferentes status clínicos.....	40
Tabela 6.1. Distribuição das frequências genotípicas e alélicas do polimorfismo do gene NLRP3 rs10754558.....	41
Tabela 7. Distribuição das frequências dos genótipos/alelos do polimorfismo do gene FAS -670 rs1800682.....	43

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	8
1.1 A SÍNDROME DA IMUNODEFICIÊNCIA ADQUIRIDA – AIDS	8
1.1.1 O VÍRUS DA IMUNODEFICIÊNCIA HUMANA	9
2 A INFECÇÃO PELO HIV	11
2.1 ALVOS CELULARES E O ESTABELECIMENTO DA INFECÇÃO	11
2.2 CURSO CLÍNICO DA INFECÇÃO	14
3 TRATAMENTO ANTIRRETROVIRAL	15
4 RESPOSTA IMUNE À INFECÇÃO PELO HIV	17
4.1 RESPOSTA IMUNE INATA	17
4.2 RESPOSTA IMUNE ADAPTATIVA	21
4.2.1 Papel da resposta imune celular	21
5 MECANISMOS PATOGENICOS DA AIDS	24
5.1 PAPEL DAS CITOCINAS PRO-INFLAMATÓRIAS	25
5.2 PAPEL DOS MECANISMOS DE APOPTOSE E PIROPTOSE	27
6 POLIMORFISMOS GENÉTICOS / INFECÇÃO PELO HIV / PROGRESSÃO À AIDS	28
6.1 POLIMORFISMOS DAS CITOCINAS E O DESENVOLVIMENTO DA AIDS	29
7 JUSTIFICATIVA / RELEVÂNCIA DA PESQUISA	32
8 OBJETIVO GERAL	33
8.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	33
9 MATERIAIS E MÉTODOS	33
9.1 DEFINIÇÃO E OBTENÇÃO DO GRUPO AMOSTRAL	33
9.1.1 Critérios de classificação	34
9.1.2 Critérios de exclusão	35
9.2 ASPECTOS ÉTICOS	36
9.3 DETERMINAÇÃO DAS FREQUÊNCIAS GENOTÍPICAS DOS SNPS	37
9.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA	37
10 RESULTADOS	38
DISCUSSÃO/CONCLUSÃO	44
REFERÊNCIAS	50

1 INTRODUÇÃO

1.1 A SÍNDROME DA IMUNODEFICIÊNCIA ADQUIRIDA – AIDS

O vírus da imunodeficiência humana (HIV – *Human Immunodeficiency Vírus*) é o agente causador da síndrome da imunodeficiência adquirida (*Acquired Immune Deficiency Syndrome – AIDS*) em humanos. Essa doença é caracterizada por uma imunossupressão progressiva, causada principalmente pela perda de linfócitos T auxiliares CD4+ (LTh) (Levy 1993, Gallo,2002) sendo frequentemente acompanhada por infecções oportunistas. A infecção pelo HIV é crônica e a progressão da doença é lenta na maioria dos pacientes (Prusiner, 2002).

De acordo com dados da UNAIDS, até o ano de 2017, existiam 36,9 milhões de pessoas infectadas pelo vírus no mundo, sendo que 21,7 milhões faziam uso de medicamentos antirretrovirais (UNAIDS: *aids by the numbers*, 2017).

Os primeiros casos de infecção pelo HIV-1 foram relatados na década de 80 e ocorreram principalmente em homossexuais do sexo masculino, os quais desenvolviam uma série de infecções e doenças oportunistas como o Sarcoma de Kaposi, (Prusiner, 2002). Os primeiros indícios de que a AIDS tinha como agente infeccioso um retrovírus, surgiram em 1983, quando um grupo de pesquisadores franceses liderado pelo Dr. Luc Montaigner no Instituto Pasteur em Paris, isolou um novo vírus. Esse vírus foi denominado de *Lymphadenopathy Associated Virus* (LAV) (Montagnier, 2002). Na mesma época, outro grupo de pesquisadores, dos Estados Unidos, liderado pelo pesquisador Robert Gallo, relatou também o isolamento de um novo vírus que infectava as células T, denominando de *Human T-Lymphotropic Virus* (HTLV), que receberia a designação de HTLV tipo III (Gallo, 2002). Posteriormente, foi descoberto que o vírus descrito pela equipe norte-americana era o mesmo descrito pelo grupo francês. Em 1984, Jay Levy e colaboradores conseguiram isolar o vírus de pacientes assintomáticos, sugerindo então, que se tratava de pacientes portadores, recebendo a denominação de retrovírus associado à AIDS (AIDS - *Associated Retrovirus* (ARV) (WIGG, 2002). Ainda em 1984, a infecção pelo HIV foi relacionada à AIDS (Gallo 2002, Montagnier 2002, Prusiner 2002) e em 1986, o Comitê Internacional de Taxonomia de Vírus (*International Committee on Taxonomy of Viruses – ICTV*), determinou que o vírus recebesse a designação de Vírus da Imunodeficiência Humana (HIV-1) (Levy 1993, Prusiner, 2002). Nesse mesmo ano,

outro vírus com características semelhantes, entretanto menos patogênico foi denominado de HIV-2 foi isolado. Também nesse ano foram criados os primeiros testes comerciais para detecção do HIV (estratégia que diminuiu significativamente a transmissão do vírus por transfusão de sangue) e no ano posterior foi desenvolvida a primeira droga antirretroviral, o AZT (Regenmortel, 2000).

1.1.1 O VÍRUS DA IMUNODEFICIÊNCIA HUMANA

O HIV-1 é um típico membro do gênero *Lentivirus* da família *Retroviridae*. O nome é derivado do latim *Lente*, uma referência ao longo período de incubação nos hospedeiros e sua capacidade de persistir e replicar-se por muitos anos, antes de causar sinais clínicos da doença. Os *Lentivirus* apresentam como características principais: (i) causar efeitos citopáticos; (ii) provocar deficiências imunológicas, desordens hepáticas e nervosas; (iii) deixar o indivíduo suscetível a doenças autoimunes. Apresentam ainda uma contínua mutação viral e capacidade de integração de uma cópia do DNA viral no genoma do hospedeiro. Após o genoma viral ser integrado no genoma da célula hospedeira, este passa a ser denominado de provírus (Dimmock; Leppard, 2007). Trata-se de um vírus constituído de duas moléculas de RNA fita simples, e por ser um retrovírus, utiliza a enzima transcriptase reversa para a transcrição do RNA em DNA. Além de possuir características gerais dos retrovírus, como a presença dos genes estruturais, *gag*, *pol* e *env*, os *Lentivirus* codificam proteínas acessórias (Nef, Vif, Vpr e Vpu) e regulatórias (*Tat* e *Rev*) da replicação viral. A descoberta do HIV estimulou a caracterização de vários outros *Lentivirus*, como aqueles isolados de primatas não humanos, SIV (“*simian immunodeficiency virus*”) (Janeway; Walport; Shlomchik, 2004). O *vírion* ou partícula viral possui um diâmetro que varia entre 80 - 110 nm, um genoma de aproximadamente 9,8 kb. As glicoproteínas do envelope viral, gp120 de superfície (SU) e gp41, a glicoproteína transmembrana (TM), são derivadas de um precursor gp160, que é clivado por uma protease celular. Na superfície do vírion, é possível detectar entre 7 e 14 *spikes*, trímeros de gp41-gp120, No interior do envelope, encontra-se outro envoltório, a matriz, que é constituído pela proteína p17. O capsídeo, que possui formato cônico é formado pela proteína p24, e no interior dele encontram-se as duas cópias do genoma de RNA fita simples, com polaridade positiva, formando o nucleocapsídeo. As enzimas virais transcriptase reversa (RT),

integrase (IN) e protease (PR) proteína viral “R” (Vpr), Fator negativo (Nef), entre outras, também são encontradas dentro da partícula viral. Pode ocorrer ainda a presença de proteínas oriundas da célula hospedeira, como o MHC-II (Main Histocompatibility Complex II), CD4, entre outros associado ao envelope e à ciclofilina a associada ao capsídeo (Figura 1) (Carter, 2001).

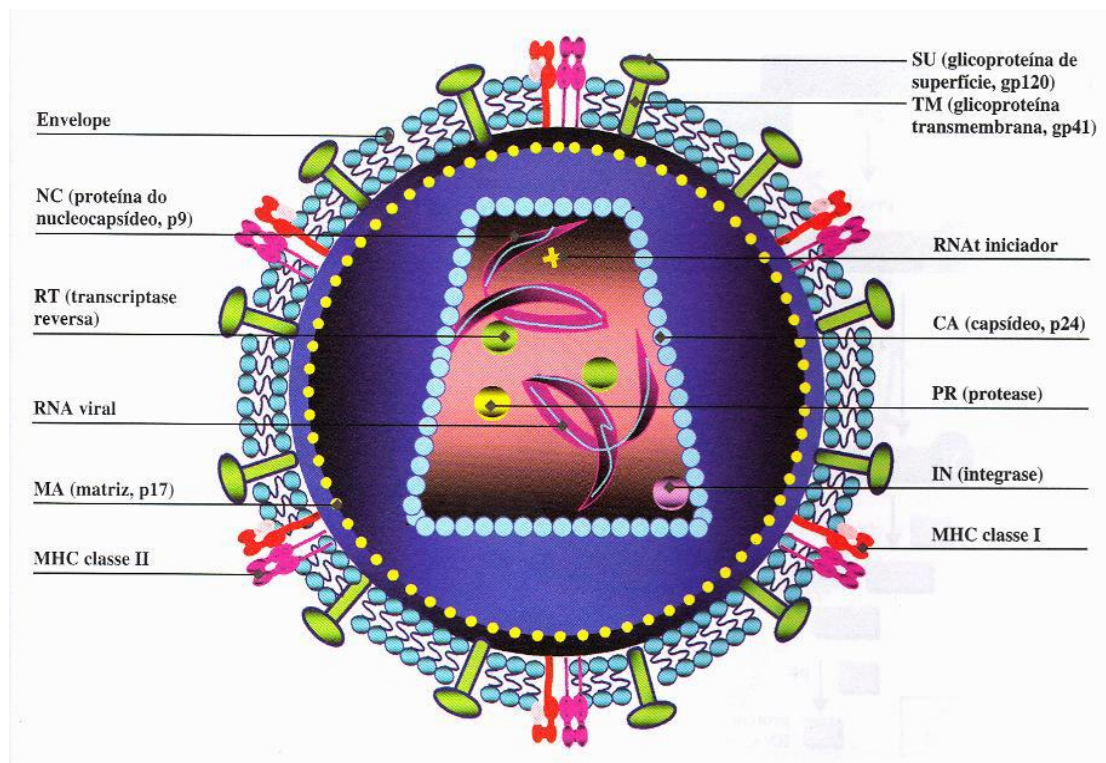


Figura 1. Estrutura da partícula vira do HIV-1. O HIV-1 é envolto por um envelope de natureza lipoprotéica. Em sua face interna, localiza-se a matriz, e na porção central da partícula viral, encontra-se o capsídeo com formato cônico. O genoma viral é constituído por duas fitas de RNA estabilizadas pelas proteínas do nucleocapsídeo. No interior do capsídeo, encontram-se as enzimas Protease (PR), Transcriptase Reversa (RT), Integrase (IN) e as proteínas (Nef, Vif e Vpr) (Wigg, 2002).

O genoma do HIV (Figura 2) é relativamente grande, apresentando um número maior de genes quando comparados a outros retrovírus (Votteler, 2008). Possui nove genes diferentes, sendo três deles comuns a todos os retrovírus: “*gag*” (que codifica as proteínas estruturais), “*pol*” (que codifica as enzimas virais protease (PR), transcriptase reversa (RT) e integrase (IN)), além de “*env*” (que codifica as glicoproteínas do envelope, gp120 e gp41). Esses genes são considerados estruturais. Os genes *gag*, *pol* e *Env* são traduzidos em poliproteínas precursoras, que são posteriormente clivadas por proteases celulares e por uma protease viral (Flint, 2004).

Diferentemente dos demais retrovírus, o genoma do HIV possui ainda os genes regulatórios, *Tat* e *rev*, além de quatro genes acessórios: *nef*, *vif*, *vpr* e *vpu*. Essa denominação de genes acessórios está baseada no fato de que as proteínas oriundas desses genes não são essenciais para a replicação do vírus *in vitro*, entretanto, desempenham importante papel *in vivo*, principalmente em relação a aspectos relacionados à evasão e manipulação da resposta imunológica adaptativa e inata.

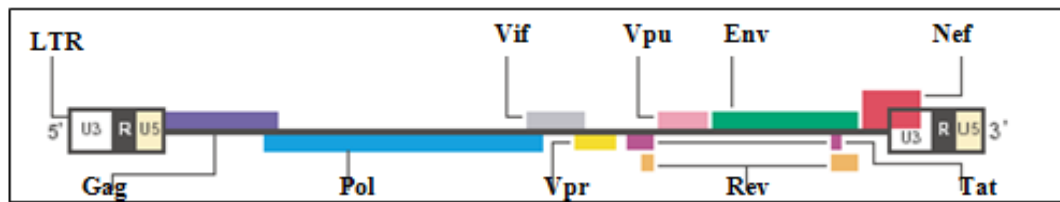


Figura 2. Estrutura genômica do vírus da Imunodeficiência Humana (HIV-1). Os genes *gag*, *pol* e *Env* (barras lilás, azul e verde respectivamente) codificam proteínas estruturais. Os genes *Tat* e *Rev* (barras roxas e laranjas respectivamente) codificam proteínas regulatórias. Os genes *nef*, *vif*, *vpr* e *Vpu* (barras vermelhas, cinzas, amarelas, rosas e azul claras, respectivamente) codificam proteínas acessórios. Nas terminações 3' e 5', encontram-se as sequências repetitivas longas, chamadas de LTRs (Greene, 2004).

2 A INFECÇÃO PELO HIV

2.1 ALVOS CELULARES E O ESTABELECIMENTO DA INFECÇÃO

Após a observação de patologias que acometiam indivíduos HIV+ e da progressão para à AIDS em diversos grupos de risco (hemofílicos, indivíduos filhos de mães portadoras do vírus, usuários de drogas), concluiu-se que a AIDS poderia ser causada por um agente infeccioso transmitido de maneira parecida ao vírus da Hepatite B: por relação sexual, compartilhamento de agulhas e também por transmissão vertical (Francis, Curran et al. 1983).

A infecção da célula hospedeira pode acontecer via vírus-célula ou célula-célula, sendo esta última mais eficiente (McMichael, Borrow et al. 2010). O primeiro contato do vírus com a célula hospedeira envolve a ligação entre a proteína viral gp120 e receptores da superfície celular da célula hospedeira (Fanales-Belasio, Raimondo et al., 2010). Num primeiro estágio a gp120 interage com receptor CD4, interação que induz mudanças conformacionais expondo a gp41. Posteriormente a gp41 interage com receptores de quimiocinas, como o CCR5 ou CXCR4, que agem

como co-receptores virais (Dragic, Litwin et al., 1996), facilitando a fusão e posterior entrada do capsídeo viral na célula, por meio de múltiplas etapas (Fanales-Belasio, Raimondo et al., 2010). A maioria das linhagens do HIV-1 usa CCR5 como co-receptor, sendo conhecidos como vírus mielotrópicos. O vírus mielotrópico infecta preferencialmente macrófagos e não induz a formação de sincícios. Já as linhagens de vírus que usam o co-receptor CXCR4 são conhecidas como vírus linfotrópicos e infectam principalmente linfócitos LT-CD4+, induzindo a formação de sincícios. O receptor de quimiocina CCR5 encontra-se na superfície das principais células alvo, como LT-CD4+, macrófagos e células dendríticas e o co-receptor CXCR4 é encontrado em linfócitos (Clapham and McKnight 2002) (Milich, Margolin et al. 1993). Em metade das infecções causadas pelo vírus do subtipo B, o surgimento de vírus linfotrópicos está associado à progressão da doença (Spijkerman, Koot et al. 1995). A infecção se dá principalmente em LT-CD4+ ativados. Entretanto, linfócitos LT-CD4+“virgens” ou de memória, por não apresentarem altos níveis de CCR5, seriam mais resistentes à infecção do HIV (Margolis and Shattock 2006). Por tal motivo foi proposto que devido ao estágio transcricional destes tipos de linfócitos ser menor, o vírus não se replicaria eficientemente, permanecendo em um estado de latência e, dessa forma a infecção destas células estaria relacionada à formação de reservatórios do vírus e não com a replicação ativa das partículas virais. Apesar que os principais alvos do vírus são LT-CD4+, macrófagos e células de memória, as células que inicialmente entram em contato com o HIV, geralmente, são células dendríticas (CD) localizadas em diversos tecidos humanos, como a mucosa genital e anal, principais portas de entrada pelo vírus (Cameron, Freudenthal et al. 1992) (Hladik and McElrath, 2008). Células dendríticas como apresentadoras de antígenos (CAPs), são essenciais para ativação de linfócitos T imaturos, sendo categorizadas conforme com sua origem em linfóide e mielóide (Banchereau, Briere et al., 2000). As CDs imaturas são localizadas nos tecidos e possuem receptores expressos, como os de manose (CD-SING), que são essenciais na captura de patógenos (Banchereau, Briere et al. 2000) (Rissoan, Soumelis et al., 1999). O aprisionamento de microorganismos e a simultânea ativação via de ligação das moléculas chamadas “padrões moleculares associados a patógenos” (PAMPs) presentes em receptores típicos, os receptores de Toll-like, são os responsáveis pela maturação das CD (Kawai and Akira 2006). Assim, as células dendríticas ativam a secreção de citocinas que serão específicas para o tipo de patógeno, consequentemente perdendo a

adesão ao epitélio e por sinais quimiotáticos migram em direção aos gânglios linfáticos periféricos mais próximos. As células dendríticas maduras são responsáveis por apresentar os antígenos aos linfócitos T, fazendo com que estes sejam ativados nos órgãos linfóides (Hladik and McElrath, 2008). Após a ligação ao receptor CD-SING, presente na superfície das células dendríticas, ele é invaginado mantendo-se intacto até o encontro e a subsequente transferência para um linfócito LT-CD4+, o que pode ser chamada de “sinapse infecciosa” (Arrighi, Pion et al. 2004) (McDonald, Wu et al. 2003) (Pope, Betjes et al. 1994). Mesmo que o HIV tenha a possibilidade de infectar algumas linhagens de CDs, pressupõe-se que a principal função destas células no processo infeccioso seja no “carreamento” do vírus até os locais onde se concentram os linfócitos LT-CD4+ de memória efetora – linfonodos (Brenchley and Douek, 2008). Uma comprovação desta correlação é que mesmo haja um significativo número de células LT-CD4+ na lâmina própria da mucosa da vagina, a dispersão de partículas virais até os linfonodos acontece antes de uma significativa replicação viral. A presença do pro-vírus (forma latente) no genoma da célula pode ser de até dez vezes mais frequente nos linfócitos que estão nos linfonodos (prevalecendo linfócitos T auxiliares foliculares – Tfh) do que em células mononucleares circulantes, o que faz com que eles sejam os principais pontos de replicação viral (Brenchley, Hill et al. 2004). Por outro lado, o tecido linfóide associado ao trato gastrointestinal (GALT – *gut-associated lymphoid tissue*) pode ser o local de maior transmissão do vírus, e onde ocorre uma grande replicação viral e consequente morte de linfócitos LT-CD4+ na primeira fase da infecção (Veazey, DeMaria et al. 1998, Brenchley, Hill et al. 2004, Brenchley and Douek 2008). Desta forma, o HIV infecta essencialmente os linfócitos LT-CD4+/CCR5+ de memória efetora nos pontos imunologicamente efetores: linfonodos e GALT, o que pode ser observada pela drástica depleção das células - alvo nessas regiões ainda na fase aguda da infecção (Brenchley, Hill et al. 2004, Hladik and McElrath 2008, Dandekar, George et al. 2010). Nessas regiões a replicação viral é facilitada pela presença de citocinas pró-inflamatórias, as quais desempenham uma função no processo de “amadurecimento” das células LT-CD4+ virgens e participam da ativação da resposta imune resultante da presença do vírus.

2.2 CURSO CLÍNICO DA INFECÇÃO

A infecção pelo HIV é dividida em três estágios: fase aguda, crônica e AIDS (Figura 3) (Levy 1993, An and Winkler, 2010). Durante as primeiras semanas de infecção, acontece uma queda exacerbada de células TCD4+, em decorrência do efeito citopático do vírus (Brenchley, Hill et al. 2004) (Veazey, DeMaria et al. 1998), uma ativação policlonal inespecífica do sistema imune e uma alta replicação viral. Nesta fase, o paciente pode apresentar sintomas semelhantes ao de uma gripe, com febre baixa. Posteriormente, a replicação viral é reduzida à medida que os mecanismos do sistema imune agem controlando a replicação viral e alcançando um “set point” da viremia. A fase aguda dura geralmente 30 dias, após isso, a infecção pode ser considerada crônica. Na fase crônica o indivíduo HIV+ pode não apresentar sintomas clínicos, mas na maioria dos casos, acontece uma pronunciada depleção de células LTCD4+ durante vários anos. O desenvolvimento da AIDS é marcado por uma diminuição na contagem de células LTCD4+ inferior 200 células/mm³, o que compromete a resposta imune contra microrganismos levando ao estabelecimento de infecções oportunistas (Costin, 2007). Apesar dos indivíduos infectados apresentarem três fases clínicas, o tempo de cada fase varia entre indivíduos principalmente, devido à variabilidade genética viral e do hospedeiro (Paroli, Propato et al. 2001) (Schechter, 2005).

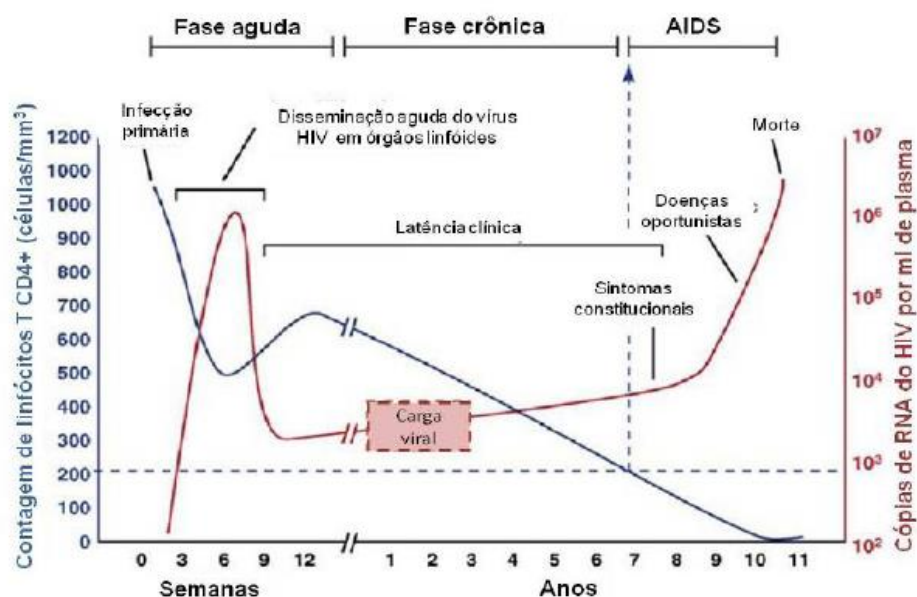


Figura 3. Infecção pelo HIV – Fases Clínicas (Adaptado de (An and Winkler 2010).

Os indivíduos soropositivos que seguem o curso clínico mais comum da infecção são classificados como progressores (P), representando cerca de 75% e 90% dos infectados e progridem para a AIDS entre o terceiro e o nono ano após a soroconversão (Schechter, 2005). Entretanto uma parcela da população soropositiva pode gerar uma fase clínica diferenciada, desenvolvendo rapidamente AIDS (menos de três anos), pacientes denominados de progressores rápidos. Este indivíduos apresentam duas ou mais medidas seguidas de células LT-CD4+ abaixo de 400 céls/mm³ em até três anos depois da soro conversão, sendo necessária a introdução da terapia antirretroviral (Casado, Colombo et al. 2010, Olson, Guiguet et al. 2014). Outra parcela dos indivíduos infectados é conhecida como progressores de longo prazo (Long-term non progressors – LTNP), a qual consegue manter os níveis de células LT-CD4+ acima de 400 cel/mm³ por mais de 6 anos (Paroli, Propato et al. 2001, Migueles and Connors, 2010). Os valores de carga viral variam entre pacientes, porém, apresentam como característica comum um tempo maior para desenvolver a sintomatologia de AIDS (Deeks and Walker 2007, O'Connell, Bailey et al. 2009) (Okulicz, Marconi et al. 2009). Estima-se que cerca de 85% dos pacientes infectados são progressores rápidos e 5% a 15% são progressores lentos de longo prazo (Schechter, 2005).

Um outro grupo de indivíduos apresenta um curso clínico diferenciado e são denominados de controladores de elite (CE), os quais além de manter os níveis de LT-CD4+ por cima de 400 cel/mm³ conseguem manter os níveis de carga viral abaixo dos níveis de detecção por ensaios comerciais (< 50 cópias / ml).

O controle eficaz da replicação das partículas virais após a administração de medicamentos antirretrovirais gera uma recuperação das funções afetadas do sistema imune e o risco para as complicações diminui. Atualmente patologias como doenças cardiovasculares, insuficiência renal e outros distúrbios são as principais causas de morbidade e mortalidade em infectados pelo vírus (Palella, Baker et al. 2006, Marin, Thiebaut et al. 2009, Hasse, Ledergerber et al. 2011).

3 TRATAMENTO ANTIRRETROVIRAL

O desenvolvimento da terapia antirretroviral altamente ativa (HAART), em 1995, teve um grande impacto no aumento das expectativas de vida e melhoria da qualidade de vida dos portadores de HIV-1, foram (Chun, Engel et al. 1998, Pierson,

McArthur et al. 2000, Mayer and Venkatesh, 2010). Atualmente, os diversos antirretrovirais licenciados têm como alvo molecular, principalmente, as enzimas transcriptase reversa (TR), protease (PR) e integrase (IN). Existem sete tipos de antirretrovirais: a) Inibidores de entrada, como o Maraviroque, estes inibidores se subdividem em inibidores de fusão e inibidores do CCR5; b) Análogos de nucleosídeos, inibidores da TR, como didanosine, zalcitabine, lamivudine, stavudine, abacavir, e os não análogos de nucleosídeos, como nevirapine, delavirdine, afavirenz; c) Inibidores de Maturação, ainda não aprovado pela FDA; d) Inibidores de Protease como Tipranavir e e) os Inibidores de Integrase como o Raltegravir (2018).

Entretanto, após o uso do HAART por mais de duas décadas, o tratamento mostrou ter sérias limitações, quanto a sua ineficácia na erradicação da infecção, evidenciada pela persistência de reservatórios virais e o surgimento de variantes resistentes, e quanto aos efeitos colaterais, como alterações no metabolismo de lipídeos que redundam, em alguns casos de acidentes cardiovasculares, lipodistrofia muscular e ainda alterações neurológicas (Furtado, Callaway et al. 1999, Yerly, Kaiser et al. 1999). A variabilidade genética do vírus juntamente com as distintas taxas de metabolizações dos princípios ativos nos indivíduos infectados faz com que os medicamentos possuam eficácias também diferentes (Mansky, 1998). Estes fatores, somados ao alto custo das drogas disponíveis no mercado tornaram a cura desta doença uns dos maiores desafios da saúde pública (Chun, Engel et al. 1998, Pierson, McArthur et al. 2000, Cohen, 2001). Dentro dessa nova realidade e graças aos novos conhecimentos trazidos pela pesquisa básica, novas drogas e abordagens terapêuticas estão sendo desenvolvidas.

Uma nova tendência no tratamento antirretroviral é a indução de resposta imunitária capaz de complementar o tratamento. Dessa forma, mediante o fenômeno chamado de “autoimunização”, conseguido pela interrupção temporária da terapia, busca-se estimular a resposta imune específica em pacientes submetidos à terapia antirretroviral. Grande parte das mais promissoras drogas que estão sendo testadas em ensaios clínicos visa inibir a interação entre as proteínas virais e celulares. Estas drogas agem, basicamente, nos três diferentes estágios da entrada do vírus na célula hospedeira. Frente a isso, o desenvolvimento de novas formas de terapia faz-se necessário.

Por outro lado, o benefício da terapia anti-retroviral logo após a infecção foi confirmado pelos resultados do teste START (Strategic Timing of Antiretroviral

Treatment – Planejamento Estratégico do Tratamento Antirretroviral), que mostrou uma redução de 57% no risco de desfecho constituído por eventos relacionados à AIDS (Johnson, 2016). Em um estudo com 16 indivíduos do início do TARV combinado durante a infecção primária pelo HIV relatou que a contagem de LT-CD4+ aumentou para níveis semelhantes aos dos controles HIV-negativos e também mostrou prevenir a perda permanente de importantes subgrupos de linfócitos T CD4+ (Zaunders, Cunningham et al. 1999). Outros estudos observacionais maiores relataram uma evidente recuperação de contagem de LT-CD4 + entre participantes que iniciaram a HAART próximo ao tempo de soroconversão (Johnson, 2016).

4 RESPOSTA IMUNE À INFECÇÃO PELO HIV

4.1 RESPOSTA IMUNE INATA

A propagação do vírus inicialmente ocorre por meio da rede folicular das células dendríticas para os linfonodos e depois alcança GALT para posteriormente tornar-se sistêmica. Todavia, como qualquer infecção viral, a do HIV ativa mecanismos imunes antivirais inatos. O sistema imune inato é responsável pela primeira resposta de defesa aos microorganismos e se embasa, entre outros mecanismos, na ativação das células granulocíticas, sistema complemento, células fagocíticas, apresentadoras de antígenos, e células exterminadoras naturais (NK - *natural killer*) (MURPHY, 2010).

Os receptores de reconhecimento padrão (PRR) possuem um papel fundamental na primeira linha de defesa da resposta inata. Eles conseguem reconhecer estruturas conservadas de patógenos como os padrões moleculares associados à patógenos (PAMPs) (Kawai and Akira 2009, Faure and Raboutdin-Combe 2011). Diferentes tipos celulares podem apresentar os PRRs, tanto em membranas plasmáticas ou endossomais, como os receptores Toll-like (TLR), quanto no citoplasma, como também os receptores RLR (RIG-1-like receptors) e NLR (Nod-like receptors). Vários PRR podem ser expressos em uma mesma célula, o que permite que a mesma célula reconheça vários tipos de microorganismos (Werling and Jungi, 2003). Os TLRs 7, 8 e 9 são específicos no reconhecimento de patógenos intracelulares, pelo reconhecimento dos ácidos nucleicos, DNA e RNA, material genético contido no núcleo da célula (Bauer, Pigisch et al. 2008). Após o

TLR reconhecer o PAMP uma cascata de sinalização é ativada via transdução de sinal, envolve as proteínas NF- κ B, IRF-7 e IRF-3 (interferon regulatory factor), o que gera a produção de quimiocinas, moléculas de adesão celular e de citocinas pró-inflamatórias (Kawai and Akira, 2006). Desta forma algumas células infectadas pelo HIV conseguem reconhecer o RNA do vírus e o pró-vírus (DNA viral) que estão no interior do seu núcleo e ativar repostas antivirais, como expressar o IFN-tipo I. Entretanto, essa via também é utilizada pelo HIV para facilitar sua proliferação: TLRs 7,8 e 9 podem ativar a expressão de IFN-I via NF- κ B, o qual por sua vez, também pode ligar-se as regiões promotoras do vírus “long terminal repeat” (LTR) do HIV e ativar replicação (Bafica, Scanga et al. 2004, Brichacek, Vanpouille et al. 2010). De fato, vários fatores de transcrição como AP-1 (activator protein-1), NF- κ B (nuclear factor- κ B) e IRF (interferon regulatory factor), são capazes de se ligar aos LTRs e promover o início da transcrição do genoma viral (Shadrina, Knyazhanskaya et al. 2016). Assim, no mesmo momento em que as células sinalizam uma infecção viral através da produção de citocinas pró-inflamatórias, a multiplicação viral também está sendo iniciada. Deste modo a replicação do HIV pode ser ativada seja pela própria presença do vírus na célula, ou por outros patógenos que ativam uma respostas imune via NF- κ B. Por este motivo acredita-se que a cronificação da ativação do sistema imune e conseqüentemente sua posterior disfunção seja responsável pela progressão à AIDS (Bafica, Scanga et al. 2004, Mandl, Barry et al. 2008).

As CDs são protagonistas na promoção de respostas imunes desequilibradas, levando em indivíduos com predisposições genéticas ao desenvolvimento de doenças autoimunes. Por outro lado, as CDs são responsáveis pela modulação das respostas inibitórias contra os autoantígenos e pela manutenção da autotolerância. Quando as CDs não conseguem alcançar suas propriedades tolerogênicas devido ao aumento da taxa de ativação/inibição dos receptores em suas superfícies, elas induzem a ativação das células T e outras respostas inflamatórias imunomediadas (Liu, Victora et al. 2009, Geissmann, Manz et al. 2010).

Já a célula “assassina natural” ou NK é uma importante célula efetora antiviral (Jost and Altfeld, 2013). As células NK são capazes de lisar as células infectadas por vírus seguindo a regulação negativa do MHC-I, não necessitando de licenciamento prévio. Além disso, as células NK podem produzir citocinas inflamatórias, como o IFN- γ e o TNF, além de apoiar e regular a imunidade

específica do vírus (Rehermann, 2015). Apesar do HIV não infectar diretamente as células NK, a exposição crônica ao vírus pode afetar o fenótipo das células NK e funcionar indiretamente. Essas alterações podem ser consequência de alterações em um ambiente de citocinas, exposição a componentes virais circulantes ou interação anormal com outros leucócitos. Demonstrou-se que células NK derivadas de pacientes com HIV produzem menos IFN- γ após estimulação com citocinas como IL-12 e IFN- α (Alter, Teigen et al. 2005, Naluyima, Eller et al. 2014).

O sistema do inflamassomo: Outra via de ativação da resposta imune inata é do sistema do inflamassomo. O Inflamassomo é constituído por complexos proteicos intracitoplasmáticos que medeiam a maturação de caspases pró-inflamatórias, as quais por sua vez levam à ativação de citocinas pró-inflamatórias como IL-1 β e IL-18 (Singhal, Jaehne et al. 2014). Foram identificados diferentes tipos de inflamassomas: NLRP1, NLRP3 (também chamados de Nalp1 e Nalp3), NAIP, NLRC 4 (também chamado de Ipaf) e AIM2, que apesar de não pertencer à família dos NLRs também são capazes de formar o complexo inflamassoma e ativar caspase-1 (Rathinam and Fitzgerald 2016). Como os inflamassomas NLRP3 e AIM 2 possuem o domínio N-terminal PYD, não conseguem ativar diretamente caspase-1, sendo necessário o recrutamento da proteína associada a apoptose contendo um domínio CARD (ASC), via seu domínio PYD. ASC contém um domínio CARD que se liga e recruta pró-caspase-1, via interações CARD-CARD (Martinon and Tschopp 2007). Por outro lado, os inflamassomas NLRP1 e NLRC4 possuem domínio N-terminal do tipo CARD, podendo recrutar ASC ou interagir diretamente com a pró-caspase-1, via interações CARD-CARD (Martinon and Tschopp 2007) (Figura 4).

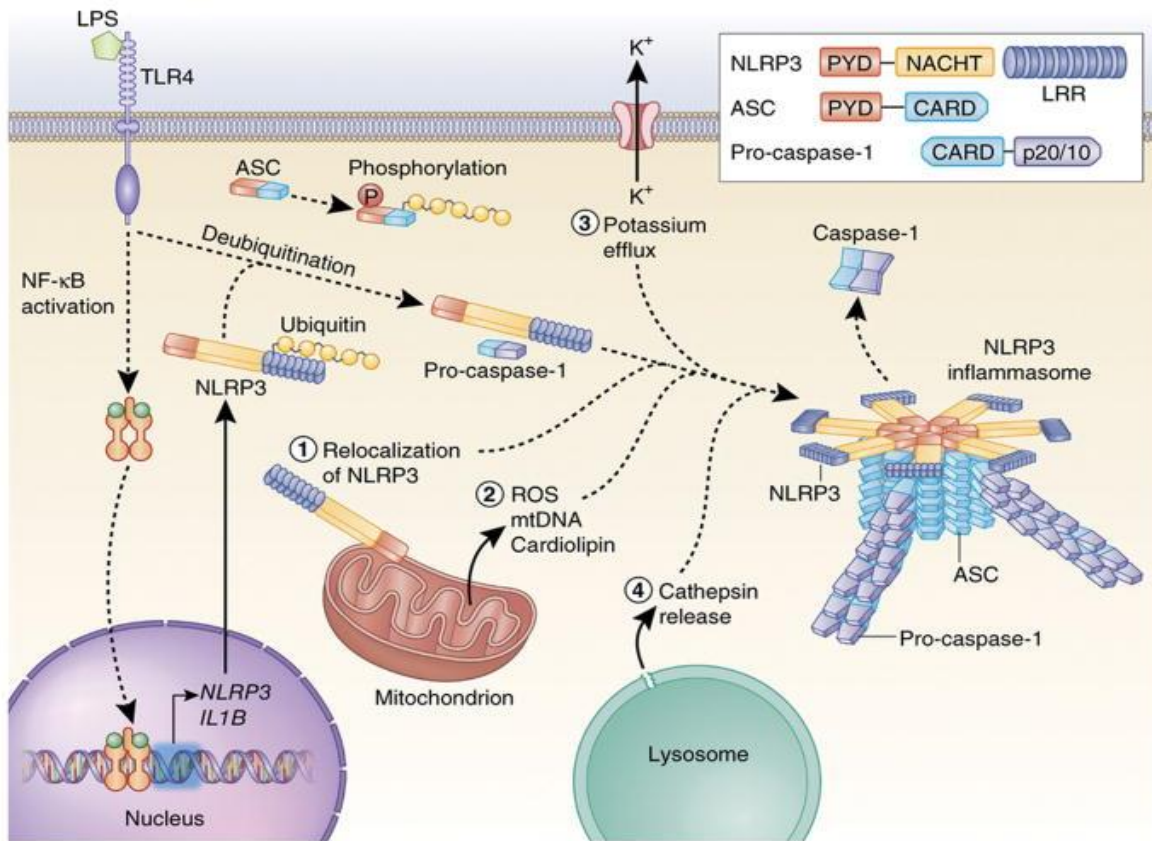


Figura 4. Ativação do inflamassoma NLRP3 (Guo, Callaway et al. 2015).

A ativação crônica do inflamassoma é mediada por TLRs ou receptores de citocinas pró-inflamatórias (sinal 1), o que desencadeia a formação/disponibilidade dos NLR, em especial a isoforma NLRP3 (receptor do tipo NOD com domínio pirina 3), seguida da sensibilização pelos DAMPs (sinal 2), os quais induzem a oligomerização e formação dos inflamassomas, formados pelos NLRP3, pro-caspase 1 e a proteína adaptadora ASC, a qual contém um domínio de recrutamento e ativação da caspase (Martinon, Burns et al. 2002, Barbe, Douglas et al. 2014, Lechtenberg, Mace et al. 2014, Singhal, Jaehne et al. 2014). Uma vez formados, os inflamassomas promovem a ativação de várias citocinas pró-inflamatórias (como por exemplo, a IL-1 β e a IL-18, a partir de seus precursores inativos, pró-IL-1 β e pró-IL-18, desencadeando o processo inflamatório (Harijith, Ebenezer et al. 2014). Além do processamento e maturação de citocinas, a ativação de caspase-1 e caspase-11 como resultado da ativação dos inflamassomas mostrou ser importante para um tipo de morte celular induzida por infecção, denominado piroptose (Shi, Zhao et al. 2015, Rathinam and Fitzgerald 2016).

A infecção pelo HIV, foi capaz de induzir uma resposta NALP3-inflamassoma

em células dendríticas de indivíduos saudáveis, indicando que este tipo de inflamassoma poderia desempenhar um papel nos primeiros passos da infecção pelo HIV. Entretanto, o HIV-1 não conseguiu ativar a produção de inflamassomas e citocinas em células dendríticas de pacientes infectados. Por outro lado as células dendríticas destes pacientes mostraram um aumento da expressão basal de NLRP3/NALP3, sugerindo um perfil inflamatório crônico das células imunes nestes pacientes (Pontillo, Silva et al. 2012). Estudos subsequentes demonstraram que o vírus é capaz de ativar inflamassomas NLRP3 em monócitos e em células dendríticas usadas como imunoterapia (PONTILLO, 2016), resultando na produção de IL-1 β e IL-18, resposta imune inata e inflamação no local da infecção.

4.2 RESPOSTA IMUNE ADAPTATIVA

Logo nas primeiras semanas após a infecção, se inicia uma intensa replicação viral, o que leva a morte das células TCD4+ e ativação de células TCD8+ citotóxicas e (Levy 1993, Saeidi, Buggert et al. 2015) após 4 a 8 semanas é possível detectar a presença de anticorpos anti-HIV (Levy 1993). Os anticorpos são direcionados contra as moléculas virais livres, alguns anticorpos podem também destruir células infectadas. Assim como a resposta de LT-CD8+, um tipo de anticorpo, os anticorpos neutralizantes, limitam a replicação do HIV durante a fase assintomática (latente), mas não são totalmente eficientes, o que impede a eliminação total do vírus.

4.2.1 Papel da resposta imune celular

As citocinas são modificadoras da resposta biológica sintetizadas por células da imunidade inata e adaptativa que são importantes na comunicação intercelular e na regulação de reações imunológicas (Lacy and Stow 2011, Tisoncik, Korth et al. 2012). As funções efetoras das células LT-CD4+ dependem da imunidade das citocinas. Células LT-CD4+ não-ativas diferenciam-se com células efetoras após o reconhecimento de peptídeos antigênicos ligados a moléculas de MHC Classe II expressas em células apresentadoras de antígenos (Zhu and Paul 2010). Dependendo do ambiente da citocina, as células LT-CD4+ diferenciam-se em Th1, Th2, Th9, Th17, Th22, bem como em populações de células reguladoras (Treg) e

foliculares (Tfh) que possuem funções biológicas diferentes (Reuter, Pombo et al. 2012).

O papel das citocinas na patogênese da doença pelo HIV, particularmente no contexto dos perfis de citocinas Th, ainda não foi totalmente elucidado. Na infecção aguda pelo HIV, o aumento da replicação viral induz a síntese de várias citocinas (Katsikis, Mueller et al. 2011). As concentrações de IFN- α e IL-15 aumentam nos 5 dias após o início da viremia plasmática mensurável. Subsequentemente, concentrações aumentadas de TNF- α , IL-6, IL-8, IL-18 e IFN- γ também são detectadas (Roberts, Passmore et al. 2010).

As citocinas sintetizadas na infecção precoce pelo HIV-1 podem ter um efeito complexo no hospedeiro. Elas podem acelerar a resposta imune contra o vírus (Goonetilleke, Liu et al. 2009), mas simultaneamente, amplificar a população de células-alvo para a infecção pelo HIV, ativando as células LT-CD4+. Na infecção crônica, concentrações elevadas da citocina pró-inflamatória TNF- α e seu receptor TNF-RII, são marcadores de inflamação de longo prazo em pessoas infectadas (Keating, Golub et al. 2011).

Os primeiros estudos relacionados à resposta imune contra a infecção pelo HIV apontaram para um desbalanço na resposta Th1/Th2 com um aumento da resposta Th2 como responsável ou relacionado com a progressão a AIDS (Clerici and Shearer 1993). Diminuição nos níveis IFN- γ e IL-2 e um aumento nos níveis de IL-10 e IL-4 nos indivíduos que desenvolveram AIDS deram sustentação a esta hipótese (Clerici, Stocks et al. 1989, Clerici, Stocks et al. 1989). Este modelo foi amplamente aceito, como a principal alteração induzida pelo HIV (Klein, Dohmeyer et al. 1997, Becker 2004). Por outro lado a IL-2 secretada por LT-CD8+ estaria relacionada com uma maior proteção contra a infecção pelo HIV (Akinsiku, Bansal et al. 2011). A administração de IL-2 no tratamento da infecção pelo HIV aumentou a produção de LT-CD4+ virgens e de memória e estimulou LT-CD8+, entretanto, a administração da IL-2 levou a um aumento da replicação viral em pacientes sem tratamento anti-retroviral (Kovacs, Baseler et al. 1995, Kovacs, Vogel et al. 1996). Por outro lado o tratamento com IL-2 durante os ensaios de fase III não mostrou nenhum tipo de benefício clínico mesmo com maior nível de células LT-CD4+ (Group, Committee et al. 2009). A explicação para estes dados contraditórios ainda é desconhecida, mas células induzidas pelo uso de IL-2 no tratamento, mostraram

uma expressão aumentada de proteínas CD25 e FoxP3, que exercem função de células Treg (Sereti, Imamichi et al. 2005).

Conforme outras populações de células LT-CD4+ foram descritas e outras funções foram atribuídas a certas citocinas e novas correlações estabelecidas entre o sistema imune e a patogênese da infecção pelo HIV (Clerici 2010). Dentro desse contexto os linfócitos auxiliares Th17, presentes em mucosas, desempenham um papel importante na proteção contra infecções (Chen and O'Shea 2008) (SMITH, p. 87-101, 2012). As citocinas IL-22, IL-26 e da família de IL-17 são produzidas por células Th17 (Chung, Yang et al. 2006, Korn, Bettelli et al. 2009). A IL-17 é uma interleucina pró inflamatória, favorece a infiltração celular e o aumento de células infectadas. A IL-17 também aumenta os mecanismos de morte celular programada (apoptose) nas células infectadas (Park, Li et al. 2005, Korn, Bettelli et al. 2009) e participaria na intermediação da resposta imune inata e adaptativa. No intestino, a depleção preferencial de células Th17 durante a infecção inicial leva a uma perda de integridade da mucosa, aumento da translocação microbiana, ativação imunológica e progressão da doença (Cecchinato, Trindade et al. 2008) (Pallikkuth, Micci et al. 2013). Além disso, as respostas Th17 apresentam efeitos antivirais que podem contribuir diretamente para a redução do vírus residual no intestino (Maddur, Miossec et al. 2012).

Por outro lado, na fase crônica, é possível observar níveis mais elevados de IL-10 em relação aos indivíduos não infectados e aos HIV+ controladores de elite (Angin, Kwon et al. 2012), mostrando uma redução da capacidade do sistema imune, da maioria de pacientes HIV+, de eliminar o vírus. A ausência de Tregs na mucosa intestinal pode ser responsável pela diminuição de IL-10 na mucosa intestinal, levando a uma desestabilização da resposta imune nessa região, o que favoreceria uma ativação do sistema imune e a destruição da barreira intestinal.

As citocinas exercem funções importantes na patogênese da infecção pelo HIV-1, modulando a resposta imune ou a replicação viral por meio da regulação de fatores de transcrição. Embora a fase inicial da infecção esteja relacionada com uma maior produção de citocinas pró-inflamatórias, ainda não se conhece a correlação entre os níveis plasmáticos das mesmas e a patogênese do HIV.

5 MECANISMOS PATOGÊNICOS DA AIDS

Logo após a descoberta da AIDS em 1981, ficou evidente que o número de LT-CD4+ decrescia à medida que a infecção progredia (Levy, 1993). Entretanto, apesar dos enormes esforços realizados pela comunidade científica, os motivos para tal depleção e o papel do HIV neste mecanismo, continuam sendo objeto das mais diversas especulações e hipóteses. O mecanismo patogênico direto, onde a perda dos LT-CD4+ ocorreria devido à lise celular ocasionada pela infecção encontra-se praticamente descartada desde que a quantidade de linfócitos infectados na periferia não superaria o 10 %. É importante destacar que LT-CD4+ específicos para o HIV-1, são preferencialmente infectados (Douek, Brenchley et al. 2002). Uma maior frequência de DNA proviral integrado em LT-CD4+ de memória específicos para epítomos do vírus, que o presente em linfócitos de memória com outras especificidades, proporcionou uma possível explicação para a perda seletiva de LT-CD4+ específicos para epítomos virais, o que poderia explicar, ao menos em parte a incapacidade do sistema imune de controlar a infecção (Douek, Brenchley et al. 2002).

Dentre as hipóteses mais aceitas relacionadas à perda de LT-CD4+ encontram-se, aquelas que envolvem mecanismos relacionados a homeostases de células T, tais como uma persistente ativação policlonal inespecífica e apoptose de linfócitos LT-CD4+ (Badley, Pilon et al. 2000, Douek, Brenchley et al. 2002, Hazenberg, Otto et al. 2003, Paiardini and Muller-Trutwin 2013). A ativação policlonal inespecífica observada durante a infecção pelo HIV seria induzida principalmente pela transposição para corrente sanguínea, de antígenos presentes no trato intestinal, fato este devido a precoce destruição – morte da população de linfócitos Th17 localizados na parede intestinal como consequência de um efeito direto da infecção viral (O'Connor, Munson et al. 2019). Este estado de ativação persistente redundaria em uma total exaustão do sistema imunitário. De fato na fase em que o indivíduo progride para a AIDS as células LT-CD8+ apresentam altos níveis de expressão de marcadores de ativação como CD38, HLA-DR e de exaustão imune PD-1, o que mostra claramente a participação de desequilíbrios funcionais neste subgrupo celular na evolução da infecção (Day, Kaufmann et al. 2006). Linfócitos T ativado expressam PD-1, enquanto as células apresentadoras de antígenos (do inglês *antigen presenting cell* - APCs) expressam os ligantes (PDL-1 e 2) (Ishida,

Agata et al. 1992). Entretanto, a interação de PD-1 com seus ligantes também induzem a ativação de uma via imunossupressora, amenizando a proliferação de células LT-CD8+ e LT-CD4+ e a produção de citocinas como, IL-2 e IFN- γ (Brown, Dorfman et al. 2003). Níveis PD-1 são mais altos em monócitos infectados (SAID, et al., 2010) os que teriam a capacidade de aumentar a expressão de IL-10, o que inibiria a resposta proliferativa dos linfócitos LT-CD4+ (Said, Dupuy et al. 2010). A inibição 'in vitro' da expressão de PD-1 gerou um aumento da produção de IFN- γ , IL-13, IL-2 e IL-21 por linfócitos LT-CD4+específicos para o HIV e também um aumento de IFN- γ por linfócitos T-CD8+ (Trautmann, Janbazian et al. 2006).

5.1 PAPEL DAS CITOCINAS PRO-INFLAMATÓRIAS

A ativação imunológica é caracterizada pela expressão da ativação de moléculas nas células imunes e pela secreção de citocinas pró-inflamatórias (Taborda, Hernandez et al. 2015), fenômeno que foi correlacionado com a progressão mais rápida da doença (Hazenber, Otto et al. 2003) (Breen, 2002, Norris, Pappalardo et al. 2006) (Sanders, Cruse et al. 2008). Tornou-se evidente que os níveis de citocinas diferem segundo os estágios da infecção (Clerici, 2010, de Medeiros, Valverde-Villegas et al. 2016) e o aumento nos níveis de algumas citocinas, podem ser preditivos para a progressão da doença (Roberts, Passmore et al. 2010) (Liovat, Rey-Cuille et al. 2012). O contato entre as proteínas virais com PRRs (Receptor de Reconhecimento Padrão) pode ser o ponto inicial e decisivo na intensidade e qualidade da resposta imune antiviral. Essas ligações levam a síntese e à liberação de uma gama de mediadores imunes, incluindo quimiocinas e citocinas e também à modulação de uma grande diversidade de proteínas da superfície celular. De fato após algumas horas pós infecção, uma "enxurrada" de citocinas pode ser observada no plasma de indivíduos infectados. Vias específicas são bloqueadas ou ativadas e a perda de equilíbrio nas cascatas de sinalização, o que certamente pode ter um impacto no prognóstico da progressão da infecção.

A IL-6, TNF- α e IFN- γ são secretados para ativar a resposta imune contra o vírus e eliminar a infecção primária. Entretanto, estas citocinas pró-inflamatórias também estão envolvidas no estabelecimento da ativação imune crônica (Kuller, Tracy et al. 2008, McManus, O'Connor et al. 2012, Roff, Noon-Song et al. 2014). A IL-6 é uma citocina pro-inflamatória e pleiotrópica, responsável por

produzir efeitos múltiplos em mais um tipo celular e de grande importância na ativação do sistema imune. No caso da infecção pelo HIV, são observados altos níveis de IL-6, o que pode estar ligado a um risco elevado de morte devido a várias complicações cardiovasculares e hepáticas, desenvolvimento do sarcoma de Kaposi, um tumor maligno do endotélio vascular, e lesões em diferentes órgãos pela indução de um ambiente inflamatório (Foster, Lehrnbecher et al. 2000, Boulware, Hullsiek et al. 2011, Rose-John 2012).

Por outro lado a citocina inflamatória TNF- α participa no controle das infecções virais, induzindo a apoptose de células infectadas por meio da ativação de diversas vias como ativação da proteína adaptadora (FADD e TRADD) e também uma caspase iniciadora (pró-caspase 8) (Bazzoni and Beutler 1996). Altos níveis de TNF- α induzem apoptose pelas vias FAS e TRAIL (Ahr, Robert-Hebmann et al. 2004, Huang, Erdmann et al. 2006), e inflamação exacerbada gerando fibrose do tecido linfóide, e conseqüentemente uma alteração no equilíbrio da homeostase dos linfócitos T na infecção pelo HIV (Schacker, Nguyen et al. 2002, Schacker, Reilly et al. 2005). De fato, altos níveis de TNF- α são encontrados nos tecidos e plasma de indivíduos HIV+ e podem estar relacionados com a piora dos sintomas em indivíduos com AIDS possivelmente por aumento e apoptose e ativação de citocinas pró-inflamatórias (Lahdevirta, Maury et al. 1988, Lane, Markovitz et al. 1999). Níveis elevados desta citocina também foram relacionados com uma maior redução de linfócitos LT-CD4+, devido em parte à morte gerada pela infecção viral e também por um aumento da produção de citocinas inflamatórias responsáveis por gerar a morte de células LT-CD4+não infectadas (Huang, Erdmann et al. 2006). Altos níveis de TNF- α e IL-6, foram correlacionados com um risco maior de mortalidade (Kalayjian, Machekano et al. 2010, Nixon and Landay 2010, Boulware, Hullsiek et al. 2011).

O IFN- γ é uma citocina essencial no controle da resposta imune contra patógenos intracelulares, mediante a ativação dos linfócitos T. Por outro lado, é capaz de provocar apoptose nas células infectadas, usando vias de sinalização mediadas por Fas e gerando um aumento da sensibilidade ao TNF- α (Xu, Fu et al. 1998). Entretanto, o IFN- γ não tem atuação antiviral direta "in vitro" e tem um uso terapêutico limitado em indivíduos infectados (Dalod, Dupuis et al. 1999, Cao, McNevin et al. 2003). Mas o IFN- γ parece ser fundamental na ativação da resposta citotóxica e das células NK. Indivíduos LTNPs, os linfócitos T-CD8+ apresentam um

aumento da secreção de IFN- γ após a estimulação por peptídeos virais (Rinaldo, Huang et al. 1995, Harrer, Harrer et al. 1996).

Os níveis circulantes da citocina IL-8, uma outra citocina pró-inflamatória, também estão aumentados em indivíduos infectados pelo HIV (Ronsholt, Ullum et al. 2013). Esta citocina aumenta a expressão endotelial de moléculas de adesão e a transmigração de leucócitos, os que têm sido propostos como fatores de risco de comorbidades na infecção pelo HIV (de Gaetano Donati, Rabagliati et al. 2004). A IL-8 tem demonstrado ativar neutrófilos, causando desgranulação, mobilização e aumento da expressão de CD11 / CD18 (Mukaida, Shiroo et al. 1989). A IL-8 também é quimiotática para linfócitos T, e alguns relatos sugerem que a IL-8 pode desempenhar um papel no recrutamento de linfócitos LT-CD4+ para linfonodos, locais onde o vírus se replica, fornecendo novas células alvo para infecção por vírus (Cheynier, Henrichwark et al. 1994). Curiosamente, os linfócitos T são 10 vezes mais sensíveis à IL-8 do que os neutrófilos na quimiotaxia (Larsen, Anderson et al. 1989).

Em resumo, estas citocinas pró-inflamatórias participam na ativação da resposta imune antiviral na fase inicial. Entretanto, estas citocinas também estão envolvidas na instauração e manutenção de uma resposta imune crônica (Roff, Noon-Song et al. 2014), favorecendo a replicação viral. Por outro lado, algumas destas citocinas pró-inflamatórias também estimulam a replicação viral mediante a ativação do NF- κ B (Shah, Verma et al. 2011, Ben Haij, Leghmari et al. 2013, Gangwani and Kumar 2015). Como consequência da estimulação sistêmica do sistema imunológico e ativação prolongada, por causa da ineficiência na eliminação do antígeno, os linfócitos T perdem gradativamente suas diversas funções e também a capacidade de proliferar, o que é definido como a exaustão de linfócitos T. Embora todos os fatores envolvidos na ativação do sistema imune ainda não estejam completamente definidos, é claro que alguns processos contribuem para tal ativação: a translocação de partículas microbianas para a corrente sanguínea após o dano causado no tecido intestinal e a constante produção de citocinas pró-inflamatórias por células da primeira linha de defesa do sistema imune.

5.2 PAPEL DOS MECANISMOS DE APOPTOSE E PIROPTOSE

Outro mecanismo relacionado à depleção de LT-CD4+ durante a infecção pelo HIV-1, é a apoptose ou morte programada (Ameisen and Capron 1991,

Westendorp, Frank et al. 1995). Vários estudos indicaram um papel para a interação FAS / FASL na apoptose de LT-CD4 + durante a infecção pelo HIV-1 (Ji, Chen et al. 2007, Ikomey, Okomo-Assoumou et al. 2012). A proteína viral Nef induz a expressão de FasL na célula infectada (Xu, Screatton et al. 2001). Além disso, Monroe et al. descreveram que o DNA receptor IFI16 reconhece o genoma do HIV em LT-CD4+, induzindo piroptose e contribuindo para a depleção de linfócitos (Monroe, Yang et al. 2014) apontando para o papel de inflamassoma na defesa de primeira linha contra o HIV-1. No entanto, atualmente existem poucos dados sobre o papel do complexo na infecção crônica e consequente esgotamento do sistema imunológico de pacientes HIV+. Na primeira interação hospedeiro / vírus, a ativação do inflamassoma parece ser importante para combater infecção, entretanto, uma vez estabelecida a infecção, a ativação do inflamassoma, e a produção das citocinas pró-inflamatórias IL-1 β e IL-18, eventualmente, contribuiria para a ativação das células imunes e a depleção por piroptose, o que pode ser desvantajosa e não benéfica.

6 POLIMORFISMOS GENÉTICOS / INFECÇÃO PELO HIV / PROGRESSÃO À AIDS

O polimorfismo genético pode ser definido como a presença de pelo menos dois alelos em um determinado gene, em que o alelo menos raro tenha uma frequência maior do que 1%. Durante a década 1950, com a descrição da eletroforese em gel de amido, para separação de proteínas pela sua carga e tamanho molecular, possibilitou detectar diferentes formas de uma mesma proteína (Smithies 1955). A partir da década de 1980, com o desenvolvimento de técnicas moleculares mais sofisticadas, capazes de estudar diretamente a molécula do DNA, a diversidade genética humana começou a ser mais amplamente conhecida, através do estudo de polimorfismos genéticos (Cavalli-Sforza, 1997). Dentre os principais polimorfismos de DNA destacam-se os VNTRs/STRs (Variable Number of Tandem Repeats) e os SNPs (Single Nucleotide Polymorphisms). Os VNTRs são gerados por um arranjo em tandem de múltiplas cópias de sequências de DNA. Os VNTRs cujas sequências repetitivas apresentam de 11-60 pb também são conhecidos como minissatélites (Nakamura, Leppert et al. 1987) e aqueles em que este número varia de 2-6 pb, STRs (*Short Tandem Repeats*) ou microssatélites (Edwards, Civitello et

al. 1991).

Já os SNPs são alterações de apenas um par de bases, chamado de mutação pontual. Com o projeto genoma humano mais de quatro milhões de SNPs foram identificados. Estas alterações podem levar à troca de aminoácido na proteína codificada pelo gene ou na maior ou menor taxa de expressão da proteína normal, o que pode causar alterações nos mais diversos mecanismos celulares. Os SNPs podem formar polimorfismos denominados RSPs (*Restriction Site Polymorphisms*), caracterizados então, pelos alelos que possuem ou não um determinado sítio de restrição, e, portanto, apresentarão um polimorfismo de sítio de restrição (Strachan, 2002).

Dos 1.5 milhões de SNPs presentes ao longo do genoma, aproximadamente 80% demonstram a frequência do alelo recessivo maior que 0,05 em pelo menos uma população étnica. Desses SNPs, apenas 10% ocorrem exclusivamente em apenas um grupamento étnico (Ásia, África e Europa). Apesar da maioria da variabilidade ser compartilhada nas diferentes populações, as frequências alélicas podem ser extremamente diferentes entre uma população e outra. Essa diferença é muito importante para os estudos de associações genéticas (Genomes Project, Abecasis et al. 2010).

Devido a essa ampla distribuição ao longo do genoma e a grande variabilidade em diferentes populações, esses marcadores são extremamente utilizados nos estudos de associação genética (Okazaki and Wang 2005). A verificação das frequências de determinados polimorfismos genéticos em indivíduos saudáveis é essencial para a comparação com aquelas encontradas em indivíduos com várias patologias complexas, como a AIDS.

6.1 POLIMORFISMOS DAS CITOCINAS E O DESENVOLVIMENTO DA AIDS

A primeira comprovação da importância da variação genética do hospedeiro na patogênese da infecção pelo HIV, foi obtida quando uma deleção no co-receptor CCR5, a CCR5 Δ 32, mostrou estar relacionada com a resistência à infecção. A deleção de 32 pares de bases na região do gene CCR5 é responsável pela síntese de uma proteína mais curta que não será expressa na superfície celular (Benkirane, Jin et al. 1997). A descoberta deste mecanismo impulsionou a pesquisa na caracterização de variações genéticas que possam contribuir para a suscetibilidade

ou resistência à infecção e à progressão para a AIDS (Lama and Planellas 2007, An and Winkler 2010). Uma das primeiras moléculas estudadas neste sentido foi do complexo principal de histocompatibilidade de classe I (HLA-I) Em decorrência da grande relevância desta molécula no reconhecimento de antígenos e conseqüentemente no tipo de resposta imune e controle da infecção (Carrington, Nelson et al. 1999, Tang, Costello et al. 1999). Dessa forma foi possível observar que alguns subtipos, como HLAB*5801, HLAB*57 ou HLAB*27, estariam relacionados com a progressão lenta à AIDS, em contrapartida o alelo HLAB*35 com a progressão rápida (Kaslow, Duquesnoy et al. 1990, Goulder, Bunce et al. 1996, Carrington and O'Brien 2003). Por outro lado, variantes em genes e ou promotores de citocinas também foram apresentados como marcadores de vulnerabilidade da infecção e a sua progressão para AIDS (van Manen, Delaneau et al. 2011, Tsiara, Nikolopoulos et al. 2018).

Tabela 1. Presença de polimorfismos em genes e suas possíveis influências na progressão para AIDS.

CITOCINA	LOCALIZAÇÃO/EFEITO	ASSOCIAÇÃO	REFS
IFN- γ	+874T/A (primeiro intron) / \uparrow IFN- γ	Severidade dos sintomas	(Harrer, Harrer et al. 1996)
IL-8	-251 A/T (promotor) / \uparrow IL8	Severidade dos sintomas	(Cheynier, Henrichwark et al. 1994)
FAS	-670 A/G(promotor) / \downarrow FAZ	Progressão lenta	(Hermes, Santana et al. 2015)
FASL	-124 A/G (promoter) / \downarrow FASL	Progressão lenta	(Hermes, Santana et al. 2015)
IL-6	-174 G/C (promotor) / \downarrow IL6	Severidade de sintomas	(Foster, Lehrnbecher et al. 2000)
IL-4	-589T (promotor) / \downarrow IL4	Progressão lenta	(Mahajan, Agosto-Mojica et al. 2010)
TNFα	-308A (promotor) / \uparrow TNF α	Progressão acelerada	(Singh, Sharma et al. 2014)
NRLP3	3'UTR/ \uparrow NRLP3	Progressão lenta	(Pontillo, Silva et al. 2012)

Os SNPs em genes de citocinas pró-inflamatórias e antiinflamatórias e em suas sequências regulatórias foram propostos como marcadores de susceptibilidade e progressão da infecção. Dessa forma SNPs relacionados às citocinas IL-2, IL-10,

TNF- α , IFN- γ , IL-6 e IL-8 têm mostrado impacto na regulação da resposta imune em doenças infecciosas e inflamatórias, como o HIV (Freitas, Lima et al. , van der Kuyl, Polstra et al. 2004, Sobti, Berhane et al. 2010). Quanto a TNF- α , observou-se associação do polimorfismo – 308G/A com diferentes impactos na infecção pelo vírus (Singh, Sharma et al. 2014). O polimorfismo – 308A, foi reportado como associado a um aumento da produção de TNF- α e elevados níveis de morte de linfócitos T infectados pelo HIV e uma acelerada progressão da doença (Singh, Sharma et al. 2014). Entretanto, observou-se que o polimorfismo -208A está associado à uma elevada expressão de TNF- α , mas a um controle da carga viral em um grupo pacientes controladores de elite, residentes na Espanha (Velo, Olona et al. 2010).

O polimorfismo IL-6-174 G / C no promotor desta citocina parece ser biologicamente e clinicamente importante. Em comparação com o alelo G, o alelo C tem sido associado tanto à diminuição da transcrição quanto a menores níveis plasmáticos de IL-6 (Sobti, Berhane et al. 2010). Clinicamente, observou-se que a frequência de homocigotos para o alelo C do polimorfismo IL-6 -174 foi associada a um menor risco de desenvolver o sarcoma de Kaposi em homens HIV+ (Foster, Lehrnbecher et al. 2000).

Estudos *in vitro* mostraram que o alelo IL-8 (-251) estaria associado com um aumento na produção de IL-8 e a danos teciduais em sangue total estimulado por lipopolissacarídeos o que faz com que pacientes com este polimorfismo progridam para a AIDS (Hull, Thomson et al. 2000).

Dentre os polimorfismos do IFN- γ encontram-se + 874T / A e o 179G/T na região promotora. Entre estes, IFN- γ +874, um polimorfismo bi-alelético, que resulta na alteração de T para A no primeiro íntron do gene IFN- γ (causando alta produção de IFN- γ), tem sido implicado em vários processos inflamatórios auto-imunes e na progressão para a AIDS (Pravica, Perrey et al. 2000, Yu, Zhu et al. 2006, Huang, Yang et al. 2007).

Por outro lado SNPs relacionados à interação FAS / FASL, têm mostrado modular a apoptose de linfócitos T CD4 + durante o HIV-1 e outras infecções retrovirais (Ikomey, Okomo-Assoumou et al. 2012). Apesar do papel fundamental do mecanismo de apoptose na patogênese do HIV / AIDS, existem poucos e controversos estudos sobre o real impacto desses polimorfismos e a progressão da doença (Cascino, Ballerini et al. 1998, Vasilescu, Heath et al. 2004, Nasi, Pinti et al.

2005, Hermes, Santana et al. 2015). Enquanto Vasilescu (Vasilescu, Heath et al. 2004) e Nasi (Nasi, Pinti et al. 2005) não encontraram associação entre os polimorfismos FAS -670 e FASL -124 e depleção de linfócitos T CD4 +, Hermes (Hermes, Santana et al. 2015) demonstraram níveis mais elevados de linfócitos T CD4 + entre pacientes homocigotos ou heterocigotos para o alelo G do polimorfismo FAS-670 em relação aos portadores do genótipo AA, embora a diferença observada não alcançou significância estatística.

Finalmente, também foram descritos polimorfismos relacionados ao sistema do inflamossomo. O SNP NLRP3 rs10754558 3'UTR mostrou ter um efeito protetor do ganho de função na suscetibilidade ao HIV-1 (Pontillo, Silva et al. 2012).

7 JUSTIFICATIVA / RELEVÂNCIA DA PESQUISA

Apesar da Terapia Antirretroviral Altamente Ativa (HAART) ter conseguido reduzir significativamente a carga viral, aumentado a sobrevida dos pacientes, diminuído o número de casos de AIDS (Mayer and Venkatesh 2010), o estabelecimento de reservatórios virais latentes, o surgimento de variantes resistentes ao coquetel antirretroviral e os efeitos tóxicos causados pelo tratamento, o alto custo das drogas disponíveis no mercado tornaram a cura desta doença uns dos maiores desafios da saúde pública (Chun, Engel et al. 1998, Pierson, McArthur et al. 2000, Cohen 2001).

Dentro desse contexto, a identificação de marcadores moleculares relacionados a suscetibilidade à infecção, assim como à progressão à AIDS é de extrema importância, tanto para o entendimento do papel dessas moléculas na infecção, como para a utilização no prognóstico de suscetibilidade à infecção e progressão à AIDS. Entretanto, dentre as principais limitações deste tipo de estudos encontram-se as diferenças na composição genética de cada população estudada (Fellay 2009) e no desenho amostral, transversal vs longitudinal. Por outro lado é importante levar em consideração que alguns marcadores podem agir sinergisticamente entre si no estabelecimento de um dado fenótipo frente à infecção. Desta maneira, a atuação simultânea de vários fatores como a variabilidade fenotípica, heterogeneidade de locus e de alelos e as próprias interações gene-gene e gene-ambiente (Thornton-Wells, Moore et al. 2004) podem levar a um determinado

desfecho. Dessa forma é essencial que os estudos genéticos sejam ampliados para assim detectar estes efeitos.

Dentro este contexto e levando em consideração a participação dos mecanismos inflamatórios e de apoptose/ piroptose na patogênese da infecção pelo HIV, nos questionamos se variações genéticas em citocinas pro-inflamatórias, assim como em moléculas envolvidas no processo de apoptose e no sistema do inflamassoma poderiam afetar o curso clínico da infecção pelo HIV-1. Para isto analisamos a frequência de diferentes SNPs em coortes de indivíduos HIV positivos com diferente “background” genético e em diversos estágios clínicos da infecção.

8 OBJETIVO GERAL

Este trabalho teve como objetivo principal contribuir para busca de associações e da relevância fisiológica de algumas variações genéticas (SNPs) presentes em fatores relacionados à ativação do sistema do inflamassoma, apoptose e expressão de citocinas inflamatórias na progressão da infecção pelo HIV-1.

8.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Explorar a possível associação dos SNPs IL-8 rs4070, IL6 rs1800795, INF γ rs2430561, TNF α rs1800629, FasL rs5030772, Fas rs1800682 e NLRP3 rs10754558 com diferentes status clínicos, níveis de progressão e marcadores imunológicos e virológicos em pacientes HIV positivos não submetidos a HAART;
- Comparar as frequências genótípicas (com e sem dominância) do SNP FAS – 670 A/G rs1800682 em pacientes infectados pelo HIV-1 e submetidos a tratamento antirretroviral.

9 MATERIAIS E MÉTODOS

9.1 DEFINIÇÃO E OBTENÇÃO DO GRUPO AMOSTRAL

Coorte 1: Na análise da frequência das variações genéticas e alélicas

relacionadas aos SNPs IL-8 rs4070, IL-6 rs1800795, INF- γ rs2430561, TNF α rs1800629, FasL rs5030772 e Fas rs1800682, foi utilizada uma amostra de 84 pacientes HIV positivos com diferentes desfechos clínicos - níveis de progressão, provenientes de uma coorte multicêntrica de três países, Brasil, Canada e Estados Unidos. Vinte e nove (29) indivíduos (6 controladores de elite, 10 progressores lentos e 13 progressores) de uma coorte canadense, gentilmente cedidos pelos médicos Nicole Bernard e Ceçile Tremplay, do Instituto de Pesquisa do Centro de Saúde da Universidade McGill e do Centre de Recherche. Du Centre Hospitalier de l'Université de Montréal. Sete (7) indivíduos (1 progressor lento e 6 Progressores) da coorte Osher Center blood bank for Integrative Medicine/University of California de San Francisco (UCSF) - UCSF Positive Health Program, San Francisco, California, EUA, cedida pelo Dr. Frederick Hecht of University of California, San Francisco - UCSF, USA. Já os pacientes HIV+ do Brasil incluíram quatro coortes diferentes, Onze (11) pacientes (7 progressores lentos e 4 progressores) de uma da rede pública de saúde do Distrito Federal, Brasília; 29 (6 controladores de elite, 11 Progressores lentos e 12 Progressores) de Amb. ADEE3002 do HC-FMUSP - Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo e 8 pacientes progressores da Unidade de Referência Especializada em Doenças infecciosas e Parasitárias Especiais – UREDIPE/PA, Belém, Pará.

Na análise das variações genéticas e alélicas relacionadas ao SNP NLRP3 (*NLRP3* rs10754558), foi utilizada uma amostra de 73 pacientes HIV+ provenientes da coorte multicêntrica anteriormente descrita.

9.1.1 Critérios de classificação

A classificação dos indivíduos segundo o estatua clínico, foi realizada em controladores de elite (CE) progressores lentos (PL) e progressores rápidos (PR) de acordo aos seguintes critérios:

- Controladores de elite: indivíduos com registro de sorologia positiva (HIV-R) há mais de 6 anos, LTCD4+ acima de 400 cel/mm³ e carga viral < 50 cópias/ ml não submetidos a TAR (*virgem de tratamento*);
- Progressores lentos: indivíduos com registro de sorologia positiva (HIV-R) há mais de 6 anos, LTCD4+ acima de 400 cel/mm³ e carga viral > 50 < 1000 cópias/ml e não submetidos a TAR (*virgem de tratamento*);

- Progressores rápidos: indivíduos com registro de sorologia positiva (HIV-R) há no mínimo 1 ano, LTCD4+ abaixo de 400 cel/mm³ e carga viral > 1000 cópias/ml.

9.1.2 Critérios de exclusão

- Indivíduos que não possuíam tempo de acompanhamento suficiente e valores de LT-CD4+ durante todo o período de acompanhamento;
- Pacientes Progressores lentos que possuíam apenas a média dos valores de LT-CD4+ durante o período de acompanhamento;

Tabela 2. Principais características clínicas de pacientes HIV+ utilizados na análise das variações genéticas e alélicas de SNPs presentes em genes relacionados às citocinas inflamatórias e apoptose.

Características	Grupos de pacientes		
	CE (n=12)	PL (n=29)	P (n=43)
Sexo (M/F)	7/5	21/8	31/12
Idade (anos) média	36,16 (26-54)	43,12 (26-58)	37,03 (23-57)
Etnia (brancos/negros) média	9/3	34 /7	39/4
Tempo de diagnóstico (anos) média	11,46 (6,01-26,00)	9,71(6,00-17,38)	9,66 (4-16)
Carga viral (Log RNA cópias/μL) média	1,94	3,60	4,42
LT-CD4+(celúlas/μL) média	507,66	536,60	394,72

CE – Controlador de Elite, PL – Progressor Lento, P - Progressor Rápido.

Tabela 2.1. Principais características clínicas dos pacientes HIV+ utilizados na análise da frequência das variações genéticas e alélicas de SNP presentes no gene **NLRP3**.

Características	Grupos de pacientes		
	CE (n=12)	PL (n=27)	P (n=34)
Sexo (M/F)	7/5	17/10	26/8
Idade (anos) média	36,16 (26-54)	45,97 (26-77)	42,20 (23-65)
Etnia (brancos/negros) média	9/3	39/0	21/13
Tempo de diagnóstico (anos) média	11,46 (6,01-26,00)	9,71 (6,0-21,0)	6,99 (1,0-29,0)
Carga viral (Log RNA cópias/μL) média	1,94	3,84	4,58

LT-CD4+(células/μL) média	507,66	513,46	390,44
---	--------	--------	--------

CE – Controlador de Elite, PL – Progressor Lento, P - Progressor Rápido

Coorte 2: Na análise das frequências genótípicas e de dominância do SNP FAS – 670 A/G rs1800682196 foi utilizada uma coorte composta por 196 pacientes HIV+ em regime de terapia antirretroviral (esquema de 3 antirretrovirais, HAART - terapia antirretroviral altamente ativa), provenientes da região metropolitana de São Paulo e recrutados no serviço para pacientes com HIV + (SEAPH) do “Hospital das Clínicas” e Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (BRASIL, SP; HCFMUSP) (Tabela 3).

Tabela 3. Principais características de pacientes HIV+ utilizados na análise da frequência das variações genéticas e alélicas relacionadas ao SNP do gene FAS - 670.

Características	Pacientes HIV+ (n=196)
Sexo (M/F)	119/77
Idade (anos) média	53,55 (19-81)
Etnia (brancos/negros/Não determinado) média	103/84/9
Tempo de infecção (anos) média	19,41 (2-30)
Carga viral (Log RNA cópias/μL) média	3,14
LT-CD4+(células/μL) Pré-tratamento média	314,14
LT-CD4+(células/μL) Pós-tratamento média	672,49

9.2 Aspectos Éticos

A coleta das amostras dos pacientes foi realizada após aprovação pelos respectivos comitês de ética das diferentes instituições de origem. Comitês de Ética em Pesquisa do Núcleo de Medicina Tropical (protocolo nº 275.456 / 2013) e do Hospital Universitário João de Barros Barreto (protocolo nº 2061/2005), comitê de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa (CAPPesq) do HCFMUSP (Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo) e Comitê de Ética do Departamento de Saúde do Distrito Federal (protocolo nº 066/07).

9.3 Determinação das frequências genotípicas dos SNPs

A genotipagem dos diferentes SNPs (Tabela 4) foi efetuada por ensaios do tipo TaqMan® com sondas alelo-específicas para cada SNP, como descrito na tabela 2, usando a plataforma de StepOne v2.33 (Applied Biosystems) e o próprio software foi utilizado para a discriminação alélica. Os ensaios utilizados para cada polimorfismo incluíram um par de iniciadores e um par de sondas; A marcação VIC® e FAM® foi aplicada a cada alelo dos polimorfismos correspondentes. Um total de 5,0 µL de Mistura Principal Universal de PCR TaqMan® [2X], 0,5 µL de Ensaio TaqMan® [20X], 3,5 µL de H₂O e 1 µL (15 ng/µL) de DNA foram utilizados em cada reação, com um volume de reação final de 10 µL. Os seguintes parâmetros foram utilizados para a amplificação e detecção dos diferentes alelos: 60°C por 30 s, seguido por 95°C por 10 min, 40 ciclos a 95°C por 15 se 60°C por 90s.

Tabela 4. Genes, SNPs e localização genômica.

Polimorfismos / Gene	Localização genômica
IL-8 rs4070	-251 A/T (promotor)
IL6 rs1800795	-174 G/C (promotor)
INF _γ rs2430561	+874 T/A (ínton)
TNF _α rs1800629	308G/A (promotor)
FAS rs1800682	-670 A/G (promoter)
FasL rs5030772	-124 A/G (ínton)
NLRP3 rs10754558	UTR3 C/G (ínton)

9.4 Análise Estatística

As frequências genotípicas dos SNPs relacionados às citocinas IL-8 rs4070, IL6 rs1800795, INF_γ rs2430561, TNF_α rs1800629, FasL rs5030772, Fas rs1800682 e NLRP3 rs10754558 foram calculadas utilizando-se o método de contagem direta de genes. As análises comparativas das frequências dos polimorfismos entre os grupos estudados foram feitas através do teste Qui-quadrado (χ^2) nos casos em que todas as frequências absolutas de cada genótipo nos diferentes grupos foram maiores que 5 e Teste Exato de Fisher nos casos em que alguma frequência tenha

sido menor que 5. Foram realizados testes de Kruskal Wallis (quando houve desvio significativo da suposição da normalidade) e Análise de Variância ou ANOVA (quando as distribuições não se desviaram muito da distribuição normal) seguido do teste de Tuckey para avaliar a relação dos genótipos com carga viral e CD4+.

Finalmente, na análise das frequências genótípicas com e sem dominância do SNP FAS – 670 A/G rs1800682 foi realizada uma análise de co-variância (ANCOVA) que é uma extensão da Análise de Variância (ANOVA), incluindo uma ou mais variáveis quantitativas como covariáveis no modelo. Estas variáveis contínuas foram incluídas na análise devido à influência que elas possuem sobre o desfecho. A associação entre os frequências genótípicas foi avaliada com a resposta do paciente após o tratamento com antirretroviral levando-se em consideração sua condição pré-tratamento.

10 RESULTADOS

10.1 Análise genotípica e alélica de genes envolvidos em mecanismos apoptóticos, inflamatórios e resposta imune inata em pacientes com diferentes níveis de progressão para AIDS

No estudo dos polimorfismos em genes codificantes para citocinas inflamatórias, moléculas relacionadas a apoptoses e a ativação do sistema do inflamassoma, foi utilizada uma coorte composta de pacientes HIV+ com diferentes desfechos clínicos, pertencentes a três coortes multicêntricas de três países diferentes foram utilizados. Os resultados foram obtidos à partir de uma padronização dos dados. Na análise dos polimorfismos dos genes citocinas e apoptoses, foram analisadas amostras de 12 controladores de elite (CE), 29 progressores lentos (PL) e 43 progressores (P). Já na análise do polimorfismo do gene do inflamassoma NLPR3 foram analisados 12 CE, 27 PL e 34 P. Esses grupos não apresentaram diferenças estatisticamente significativas quanto a sexo ($p = 0,633/0,447$; teste exato de Fisher); etnia ($p = 0,345/0,532$; Teste exato de Fisher), idade ($p = 0,771/0,888$; teste não paramétrico de Kruskal-Wallis) ou tempo de seguimento ($p = 0,063/0,072$; teste não paramétrico de Kruskal-Wallis). Entretanto foi possível observar diferenças estatisticamente significativas entre os grupos quanto aos níveis de carga viral e CD4+ ($p=0,001/0,003$ e $p= 0,0014/0,001$, respectivamente) **Tabelas 5 e 5.1.**

Tabela 5. Principais características de pacientes HIV+ utilizados na análise das variações genéticas e alélicas de SNPs presentes em genes relacionados às citocinas inflamatórias e apoptose.

Características	Grupos de pacientes			Valor de p*
	CE (n=12)	PL (n=29)	P (n=43)	
Sexo (M/F) média	7/5	21/8	31/12	0,633
Idade (anos) média	36,16 (26-54)	43,12 (26-58)	37,03 (23-57)	0,771
Etnia (brancos/negros) média	9/3	34 /7	39/4	0,345
Tempo de diagnóstico (anos) média	11,46 (6,01-26,00)	9,71(6,00-17,38)	9,66 (4-16)	0,063
Carga viral (Log RNA cópias/μL) média	1,94	3,60	4,42	0,001
LT-CD4+(células/μL) média	507,66	536,60	394,72	0,0014

CE – Controlador de Elite, PL – Progressor Lento, P - Progressor Rápido.

*CE+PL vs P

Tabela 5.1. Principais características dos pacientes HIV+ utilizados na análise da frequência das variações genéticas e alélicas de SNP presente no gene **NLRP3**.

Características	Grupos de pacientes			Valor de p*
	CE (n=12)	PL (n=27)	P (n=34)	
Sexo (M/F) média	7/5	17/10	26/8	0,447
Idade (anos) média	36,16 (26-54)	45,97 (26-77)	42,20 (23-65)	0,888
Etnia (brancos/negros) média	9/3	39/0	21/13	0,532
Tempo de diagnóstico (anos) média	11,46 (6,01-26,00)	9,71 (6,0-21,0)	6,99 (1,0-29,0)	0,072
Carga viral (Log RNA cópias/μL) média	1,94	3,84	4,58	0,003
LT-CD4+(células/μL) média	507,66	513,46	390,44	0,001

CE – Controlador de Elite, PL – Progressor Lento, P - Progressor Rápido.

*CE+PL vs P

Devido ao pequeno número amostral dos pacientes controladores de elite (CE) e de características semelhantes aos progressores lentos (PL), as análises foram realizadas agrupando estes grupos.

A comparação das frequências genótípicas e alélicas referentes aos genes IL-6, IL8, TNF α , INF- γ , FAS, FASL e NLRP3 entre os diferentes grupos foram realizadas pelo teste Qui-quadrado para valores iguais ou superiores a 5 e teste Exato de Fisher para valores inferiores a 5, analisando-se os três grupos independentemente e agrupando-se os pacientes CE e PL vs P. Os resultados das frequências genótípicas e alélicas para cada SNP entre os diferentes grupos (CE+PL vs P) encontram-se resumidos nas Tabelas 6 e 6.1. Não foi possível observar diferenças estatisticamente significativas entre os genótipos analisados e os grupos com diferentes status clínicos. Entretanto, no caso do SNP IL-8 rs4070 foi possível observar uma marcada tendência à significância em relação à associação do genótipo AT com o grupo de pacientes progressores lentos ($p= 0.054$). Foram realizados testes supondo-se dominância dos alelos A e T, mas tais testes não mostraram relação estatisticamente significativa com os diferentes níveis de progressão, ($p= 0,446$) e ($p= 0,108$), respectivamente.

Tabela 6. Distribuição das frequências genótípicas e alélicas dos polimorfismos dos genes IL-6, IL-8, TNF α , INF γ , FAS e FASL em indivíduos infectados pelo HIV com diferentes status clínicos.

Gene polimorfismo	Genótipo/Alelo	PL + CE (n= 41) n (%)	P (n= 43) n (%)	p
IL-6 -174 G/C	GG	2(4,88)	4 (9,30)	0,59
	CG	15 (36,59)	18 (41,86)	
	CC	24 (58,53)	21 (48,84)	
	G*	19 (23,17)	26 (30,23)	0,38
	C*	63 (76,83)	60 (69,77)	
IL-8 -251 A/T	AA	8 (19,52)	12 (27,90)	0,054
	AT	23 (56,09)	13 (30,24)	
	TT	10 (24,39)	18 (41,86)	
	A*	39 (47,56)	37 (43,02)	0,66
	T*	43 (52,44)	49 (56,98)	
TNF α -308 G/A	GG	1 (2,44)	1 (2,33)	0,61
	AG	7 (17,07)	4 (9,30)	
	AA	33 (80,49)	38 (88,37)	
	G*	9 (10,97)	6 (6,97)	0,52
	A*	73 (89,03)	80 (93,03)	
INF- γ +874 A/T	AA	15 (36,59)	18 (41,86)	0,88
	AT	19 (46,34)	18 (41,86)	

FAS -670 A/G	TT	7 (17,07)	7 (16,28)	0,80
	A*	49 (59,76)	54 (62,79)	
	T*	33 (40,24)	32 (37,21)	
	AA	10 (24,39)	5 (11,63)	0,15
	AG	16 (39,04)	25 (58,14)	
	GG	15 (36,57)	13 (30,23)	
FASL -124 A/G	G*	36 (43,90)	35 (40,70)	0,79
	A*	46 (56,10)	51 (59,30)	
	AA	33 (80,48)	38 (88,37)	
	AG	8 (19,52)	3 (6,97)	0,09
	GG	0	2 (4,66)	
	A*	74 (90,24)	79 (91,86)	
	G*	8 (9,76)	7 (8,14)	0,92

CE – Controlador de Elite, PL – Progressor Lento, P - Progressor Rápido.

Tabela 6.1. Distribuição das frequências genotípicas e alélicas do polimorfismo do gene NLRP3 rs10754558.

Gene polimorfismo	Genótipo/Alelo	PL + CE (n= 39) n (%)	P (n= 34) n (%)	p
NLRP3 C/G	CC	21 (53,85)	13 (38,24)	0,41
	CG	14 (35,90)	17 (50,00)	
	GG	4 (10,25)	4 (11,76)	
	C*	56 (71,80)	43 (63,24)	1,00
	G*	22 (28,20)	25 (36,76)	

CE – Controlador de Elite, PL – Progressor Lento, P - Progressor Rápido.

Entretanto, ao analisar os valores de carga viral em relação aos diferentes SNPs foi possível observar uma correlação estatisticamente significativa entre o genótipo AG do SNP FAS-670 rs1800682 com uma maior carga viral pelo teste ANOVA ($p=0,006$) e também entre os genótipos AG/AA versus GG e AG/GG versus AA do SNP FAS-670 com uma maior carga viral pelo teste de Tuckey ($p=0,047$) e ($p= 0,012$), respectivamente (Figura 5).

Embora não se conte com o numero suficiente de pacientes CE, as análises das frequências genotípicas e alélicas dos diferentes SNPs considerando os três grupos por separado, não apresentaram diferenças esteticamente significativas.

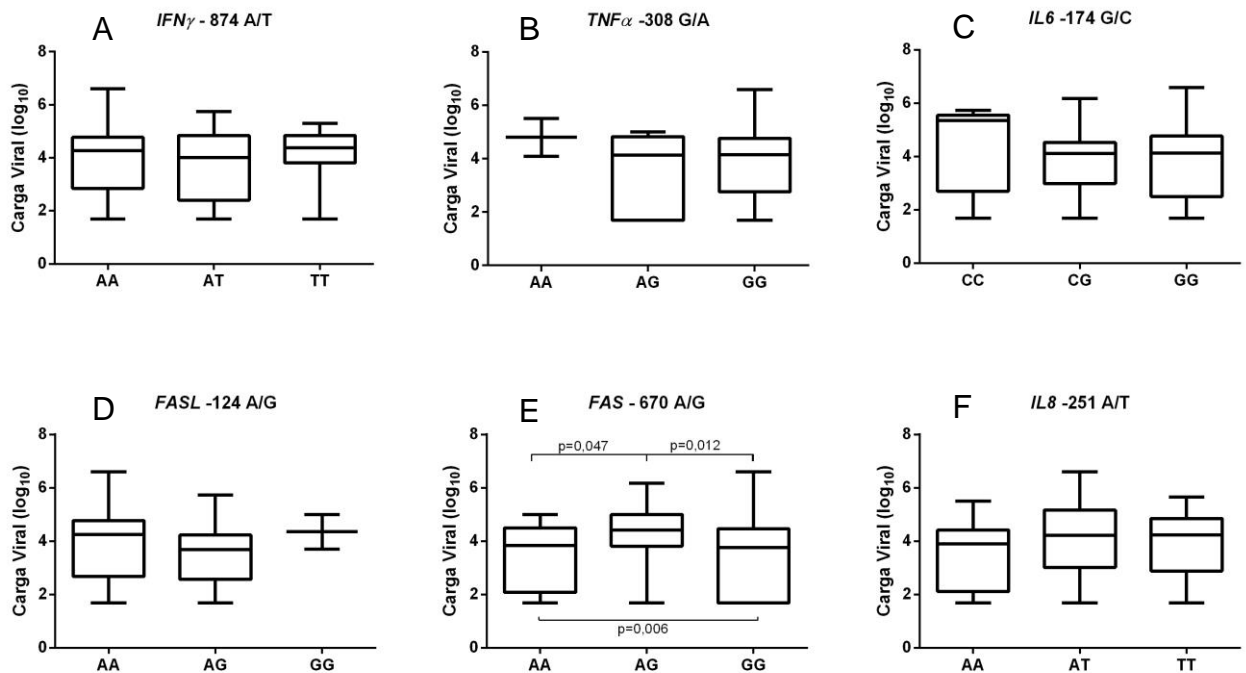


Figura 5. Distribuição das frequências genóticas dos genes IFN γ (A), TNF α (B), IL-6(C), FASL (D), FAS (E) e IL-8 (F) em relação a carga viral.

10.2 Análise genotípica e alélica do polimorfismo de FAS - 670 em indivíduos HIV + antes e depois do tratamento antirretroviral no desenvolvimento da AIDS.

Na análise genotípica do polimorfismo de FAS - 670 em uma coorte de pacientes submetidos a TAR, foi realizado um análise de covariância (ANCOVA) considerando-se como variável dependente a mediana pós-tratamento em relação ao genótipo, ajustando-se pela variável de pré-tratamento. Foi também realizado um ajuste a variável de pós-tratamento levando-se em conta os valores de pré-tratamento dos indivíduos HIV+, para os quais é possível confirmar que os pacientes obtiveram uma melhora significativa após o uso dos antirretrovirais, o que já era esperado. Entretanto, não foi observada nenhuma relação entre os genótipos e os parâmetros como os níveis de LT-CD4+ e o tempo de tratamento para progressão para a AIDS. Em adição, foi realizado uma ANCOVA na avaliação da variável dependente mediana de LT-CD4+ ajustando-se o valor de LT-CD4+ medido antes do tratamento em relação aos genótipos com e sem dominância (Tabela 7).

Tabela 7. Distribuição das frequências dos genótipos/alelos do polimorfismo do gene FAS - 670 rs1800682.

Gene polimorfismo	Genótipo	HIV + (n= 196)	p
FAS -670 A/G	AA	44	0.22
	AG	94	
	GG	58	
	GG+AG/AA	152 + 44	0.13

DISCUSSÃO/CONCLUSÃO

A progressão para a AIDS depende de interações complexas entre os genomas do hospedeiro e do vírus (Al-Jabri 2007, Lama and Planelles 2007). Dentro deste contexto variantes alélicas do genoma humano mostraram contribuir para a suscetibilidade ou resistência à infecção pelo HIV-1 e ou progressão da doença, sendo em alguns casos utilizadas para monitorar a replicação viral e os níveis de células T CD4 +, o que salienta a importância deste tipo de análise na identificação de alelos que possam estar relacionados com a infecção pelo HIV-1 (Lama and Planelles 2007, An and Winkler 2010).

Embora os mecanismos envolvidos na homeostase dos LT-CD4+ durante a infecção pelo HIV não serem completamente compreendidos, alterações de diferentes mecanismos imunoregulatórios, como ativação de células T, apoptose, proliferação e senescência têm sido implicadas na patogênese do HIV (Badley, Pilon et al. 2000, Hazenberg, Otto et al. 2003, Douek, Roederer et al. 2009, Paiardini and Muller-Trutwin 2013). Por outro lado, citocinas, assim como moléculas envolvidas em mecanismos apoptóticos, tem mostrado desempenhar um importante papel na regulação da homeostase do sistema imunológico e na resposta imune contra a infecção pelo HIV-1 e progressão à AIDS (Muthumani, Choo et al. 2005, Zhu and Paul 2010, Lacy and Stow 2011, Hermes, Santana et al. 2015). Da mesma forma, mecanismos relacionados a resposta imune inata, como a ativação do sistema do inflamossomo também mostraram desempenhar um papel importante no desfecho da infecção viral (Lupfer, Malik et al. 2015, He, Hara et al. 2016).

Dentro deste contexto e levando em consideração a participação dos mecanismos antes mencionados na patogênese da infecção pelo HIV, neste estudo, foi abordado o possível papel de SNPs presentes em genes de citocinas pró-inflamatórias, IL-6 (-174 G / C), IL-8 (-251 A / T), TNF- α (-308 G / A), IFN- γ (+874 A / T), do sistema do inflamassoma, NLRP3 (C/G)], assim como genes relacionados com apoptose (FAS -670 A / G, FASL -124 A / G), na progressão à AIDS. A disponibilidade de amostras de cortes de pacientes infectados com diferentes desfechos clínicos, principalmente de pacientes controladores de elite e progressores lentos e de origens étnicas, nos proporcionou uma oportunidade de avaliar o papel dos diferentes polimorfismos na patogênese da infecção pelo HIV-1 em um contexto genético mais abrangente. Nas análises realizadas foram

comparados os grupos separadamente e posteriormente os indivíduos controladores de elite foram unidos com os progressores lentos em um grupo, já que para fins estatísticos o tamanho amostral interfere na significância e precisão dos resultados da análise.

Em contraste com trabalhos anteriores, neste trabalho não foi possível observar associações estatisticamente significantes entre os SNPs das citocinas inflamatórias IL6, IL8, TNF- α e IFN- γ com os diferentes grupos de pacientes CE, PL ou PR com os níveis de linfócitos T CD4+. Como mencionado anteriormente, estudos prévios revelaram associação entre o alelo "G" e um aumento nos níveis séricos de IL-6, relacionando este aumento a um desfecho desfavorável em uma variedade de doenças inflamatórias (Hulkkonen, Pertovaara et al. 2001, Humphries, Luong et al. 2001) (Fishman, Faulds et al. 1998). Entretanto, em pacientes HIV+ já o alelo "C" foi relacionado a uma diminuição da expressão desta citocina inflamatória e considerado como um fator de risco para o desenvolvimento da AIDS (Foster, Lehrnbecher et al. 2000). Em nosso estudo não foi possível observar nenhuma associação significativa deste SNP com a progressão para a AIDS.

Quanto ao SNP TNF α -308, o alelo "A", quando presente, demonstrou aumentar significativamente a transcrição e, conseqüentemente a concentração de TNF- α (Kroeger, Carville et al. 1997). Um estudo realizado em pacientes com neuropatia periférica diabética não mostrou qualquer associação com o SNP TNF- α 308 G / A (Kolla, Madhavi et al. 2009). Nosso estudo, ao igual que o realizado por Kolla e colaboradores (Kolla, Madhavi et al. 2009) indicam que a presença do SNP TNF α - 308 G / A isoladamente, não teria um impacto na patogênese da infecção pelo HIV, o que sinaliza a necessidade de realizar outros estudos para avaliar a relevância fisiológica deste SNP na progressão à doença.

A presença dos alelos +874 'T' e +874 'A' do gene IFN- γ foram associados à alta e baixa produção de IFN- γ , respectivamente (Heinemeyer, Wingender et al. 1998). Em estudo realizado por Vallinoto e colaboradores (Freitas, Lima et al. 2015) foi sugerido que o genótipo TT, estaria associado à alta produção de IFN- γ e a níveis consideravelmente mais altos de linfócitos T CD4 + em comparação com os outros dois genótipos (AA e AT) em pacientes infectados pelo HIV-1. Entretanto, em nosso estudo não foi possível observar uma relação do genótipo TT com uma menor progressão à doença.

Ao se avaliar a prevalência do genótipo -251 A/T relacionado ao gene de IL-8 entre os diferentes grupos de pacientes foi observado um p próximo da significância do genótipo AT do SNP IL-8 rs4070 com o grupo de pacientes progressores lentos ($p = 0,054$). Entretanto, testes de dominância genotípica associando os genótipos (AT/TT) e (AT/AA), não mostraram relação estatisticamente significativa com os diferentes níveis de progressão, ($p= 0,446$) e ($p= 0,108$), respectivamente. Em um estudo prévio foi relatada a associação do genótipo TT com uma maior expressão de IL-8 e conseqüente progressão para a AIDS (Cheynier, Henrichwark et al. 1994). Durante a infecção pelo HIV-1, a IL-8 mostrou desempenhar um papel importante no recrutamento de LT CD4+ para os gânglios linfáticos, gerando assim mais alvos para a replicação viral (Ott, Lovett et al. 1998). Foram detectados níveis elevados de IL-8 no soro de indivíduos infectados pelo HIV-1 e no tecido linfóide de pacientes com AIDS (Matsumoto, Miike et al. 1993). Por outro lado, estudos “in vitro” mostraram que a IL-8 estimula a replicação do HIV-1 em macrófagos derivados de monócitos (MDM) e linfócitos T (Lane, Lore et al. 2001). Dessa forma seria esperado que a alta viremia apresentada por pacientes progressores contribua para um aumento nos níveis plasmáticos de IL-8, aumento que poderia ser ainda maior em pacientes portadores do alelo “T”. (Paiardini and Muller-Trutwin 2013).

Ao se avaliar os valores de carga viral apresentados pelos pacientes em relação aos diferentes SNPs, foi possível observar uma correlação estatisticamente significativa entre o genótipo AG do SNP FAS -670 com uma maior carga viral ($p=0,006$). Ao analisar a associação dos genótipos AG/AA e AG/GG foi possível observar uma maior associação dos genótipos AG/GG com uma maior carga viral ($p= 0,012$) que a apresentada pelos genótipos AG/AA ($p=0,047$). A maior significância da associação dos genótipos AG/GG com a carga viral poderia ser um indicativo da associação do alelo G com uma maior replicação viral.

Entretanto, quando foram examinadas as frequências genotípicas e alélicas do polimorfismo FAS -670, em relação os níveis de LT-CD4+, em uma coorte de indivíduos HIV+ pré/pós tratamento com antirretrovirais, não foi possível encontrar correlação entre as frequências genotípicas e ou alélicas do FAS -670 com a resposta ao tratamento anti-retroviral e ou parâmetros de progressão.

Está bem documentado que a infecção pelo HIV-1 resulta em aumento da expressão do receptor FAS nos linfócitos T CD4 +, com o conseqüente aumento de apoptose na célula hospedeira e de depleção de linfócitos T CD4 + (Sloand, Young

et al. 1997, Badley, Pilon et al. 2000, Dianzani, Bensi et al. 2003, Ikomey, Okomo-Assoumou et al. 2012), portanto, espera-se que polimorfismos nos genes que codificam o receptor e o ligante dessa via apoptótica, estejam associados a variações nos marcadores de prognóstico laboratorial como o nível de LT-CD4+ e carga viral.

A substituição do nucleotídeo A por G na posição 670 da região promotora do gene FAS altera o local de ligação do fator de transcrição nuclear STAT-1, sugerindo que esse polimorfismo influenciaria a função do gene FAS, levando a uma redução do potencial apoptótico do receptor FAS (Huang, Morris et al. 1997). Em um estudo realizado por Vallinoto (Hermes, Santana et al. 2015) foi observado que a substituição do alelo A pelo alelo G estaria relacionado a maiores níveis de linfócitos T CD4+, confirmando esta hipótese, embora a diferença observada não tenha sido significativa. Na literatura, existem apenas dois estudos que examinaram esse tipo de associação, realizados em 2004 e 2005, e com resultados controversos. Vasilescu (Vasilescu, Heath et al. 2004) analisaram os polimorfismos nos genes FAS e FASL, incluindo o FAS 670 e o FASL 124, e não encontraram associação. Por outro lado, Nasi e colaboradores estudaram polimorfismos nesses genes, e não observaram associação quando os polimorfismos foram analisados separadamente. No entanto, quando os polimorfismos foram associados, os genótipos AG /AG dos polimorfismos -670 e -1377 foram associados a uma melhor resposta terapêutica (Nasi, Pinti et al. 2005). Adicionalmente, em outro trabalho do mesmo autor (Vallinoto, Santana et al. 2012) foi observado que o genótipo FAS -670 GG apresentou maior prevalência entre as pessoas infectadas pelo vírus linfotrópico T humano-1 (HTLV-I) do que nos controles. Entretanto, o genótipo FAS -670 AA foi mais frequente entre os pacientes com paraparesia espástica tropical / mielopatia associada ao HTLV-1 (TSP / HAM) quando comparado aos indivíduos assintomáticos, sugerindo que o polimorfismo FAS -670 A / G pode estar associado não apenas à suscetibilidade à infecção pelo HTLV, mas também à progressão para TSP / HAM. Nossos achados também sugerem a possibilidade que a presença do alelo G diminuiria o potencial apoptótico mediado pelo receptor FAS o que se traduziria numa vida média maior do linfócito infectado, e dessa forma propiciaria uma maior produção de partículas virais aumentando a carga viral.

A análise do polimorfismo intrônico do gene FASL -124, não forneceu diferenças significativas em relação aos grupos estudados. Poucos estudos

examinaram esses polimorfismos no gene do FASL, especialmente em indivíduos com infecção pelo HIV-1 (Pinti, Troiano et al. 2002, Vasilescu, Heath et al. 2004, Nasi, Pinti et al. 2005) sendo assim, os resultados observados não são suficientes para se chegar a uma conclusão sobre o papel dos polimorfismos do gene FASL na infecção pelo HIV-1.

Finalmente, em nosso estudo não foi possível encontrar associação entre polimorfismo do gene NLRP3 rs10754558 e os diferentes níveis de progressão da infecção pelo HIV-1. Estes resultados não encontram sustentação com dados da literatura que suportam que uma ativação constitutiva aumentada do gene NLRP3, do sistema do inflamossoma, estaria associada a um melhor controle da infecção pelo HIV-1, tanto nos estádios iniciais assim como na fase crônica (Lupfer, Malik et al. 2015). Este efeito protetor poderia estar relacionado a uma resposta aumentada de células imunes contra novos ciclos de infecção (papel anti-viral do NLRP3; (Chen and Ichinohe 2015), e / ou ao papel homeostático do NLRP3 nas superfícies mucosas através da indução de IL-18 (Rathinam and Chan 2018).

Dentro das limitações de nosso estudo encontra-se o reduzido tamanho amostral, considerando a alta diversidade étnica dos pacientes estudados, o que poderia influenciar a distribuição e caracterização de marcadores genéticos em relação à infecção pelo HIV. Talvez o exemplo mais claro seja o alto grau de miscigenação observado na coorte da população amazônica (Biesinger and Kimata 2008, Ferreira, Sampaio et al. 2014). No entanto, a alta diversidade genética dos indivíduos estudados nos forneceu uma oportunidade única para avaliar o real impacto das diferentes variações genéticas estudadas na patogênese da infecção pelo HIV-1 incluindo o importante viés da etnia e dessa forma compreender mais claramente os mecanismos que caracterizam infecções não progressivas. Outras limitações também podem ser observadas como o estabelecimento do tempo da infecção no indivíduo e sua consequente progressão.

Em conclusão, encontramos resultados relevantes quanto a relação entre o marcador genético FAS -670 A/G e a carga viral e do marcador IL-8 -251 A/T em relação aos níveis de progressão de indivíduos infectados pelo HIV-1 em ausência de tratamento e pertencentes a uma coorte multicêntrica altamente miscigenada. Entretanto, não foi possível confirmar estas observações nos genótipos homocigotos.

Certamente o significado dessas diferenças ainda não está completamente claro e sugerem que a progressão da doença, bem como os valores de seus principais marcadores, como o nível de linfócitos T CD4 + e a carga viral, são resultados de uma complexa associação de diversas variantes genéticas do hospedeiro que coletivamente contribuem para um determinado fenótipo. Nossos dados ainda enfatizam a importância do “background” genético do hospedeiro na progressão da infecção pelo HIV-1. Estamos bem conscientes da dificuldade em se identificar genótipos que permitam caracterizar inequivocamente a tendência de se desenvolver a AIDS em pacientes HIV+. No entanto, esperamos que análises posteriores conduzidas com um tamanho amostral maior nos proporcionem informação importante na elucidação dos mecanismos patogênicos da AIDS.

REFERÊNCIAS

- Ahr, B., V. Robert-Hebmann, C. Devaux and M. Biard-Piechaczyk (2004). "Apoptosis of uninfected cells induced by HIV envelope glycoproteins." *Retrovirology* **1**: 12.
- Akinsiku, O. T., A. Bansal, S. Sabbaj, S. L. Heath and P. A. Goepfert (2011). "Interleukin-2 production by polyfunctional HIV-1-specific CD8 T cells is associated with enhanced viral suppression." *J Acquir Immune Defic Syndr* **58**(2): 132-140.
- Al-Jabri, A. A. (2007). "Mechanisms of Host Resistance Against HIV Infection and Progression to AIDS." *Sultan Qaboos Univ Med J* **7**(2): 82-96.
- Alter, G., N. Teigen, B. T. Davis, M. M. Addo, T. J. Suscovich, M. T. Waring, H. Streeck, M. N. Johnston, K. D. Staller, M. T. Zaman, X. G. Yu, M. Lichtenfeld, N. Basgoz, E. S. Rosenberg and M. Altfeld (2005). "Sequential deregulation of NK cell subset distribution and function starting in acute HIV-1 infection." *Blood* **106**(10): 3366-3369.
- Ameisen, J. C. and A. Capron (1991). "Cell dysfunction and depletion in AIDS: the programmed cell death hypothesis." *Immunol Today* **12**(4): 102-105.
- An, P. and C. A. Winkler (2010). "Host genes associated with HIV/AIDS: advances in gene discovery." *Trends Genet* **26**(3): 119-131.
- Angin, M., D. S. Kwon, H. Streeck, F. Wen, M. King, A. Rezai, K. Law, T. C. Hongo, A. Pyo, A. Piechocka-Trocha, I. Toth, F. Pereyra, M. Ghebremichael, S. J. Rodig, D. A. Milner, Jr., J. M. Richter, M. Altfeld, D. E. Kaufmann, B. D. Walker and M. M. Addo (2012). "Preserved function of regulatory T cells in chronic HIV-1 infection despite decreased numbers in blood and tissue." *J Infect Dis* **205**(10): 1495-1500.
- Arrighi, J. F., M. Pion, E. Garcia, J. M. Escola, Y. van Kooyk, T. B. Geijtenbeek and V. Piguet (2004). "DC-SIGN-mediated infectious synapse formation enhances X4 HIV-1 transmission from dendritic cells to T cells." *J Exp Med* **200**(10): 1279-1288.
- Badley, A. D., A. A. Pilon, A. Landay and D. H. Lynch (2000). "Mechanisms of HIV-associated lymphocyte apoptosis." *Blood* **96**(9): 2951-2964.
- Bafica, A., C. A. Scanga, M. Schito, D. Chaussabel and A. Sher (2004). "Influence of coinfecting pathogens on HIV expression: evidence for a role of Toll-like receptors." *J Immunol* **172**(12): 7229-7234.
- Banchereau, J., F. Briere, C. Caux, J. Davoust, S. Lebecque, Y. J. Liu, B. Pulendran and K. Palucka (2000). "Immunobiology of dendritic cells." *Annu Rev Immunol* **18**: 767-811.
- Barbe, F., T. Douglas and M. Saleh (2014). "Advances in Nod-like receptors (NLR) biology." *Cytokine Growth Factor Rev* **25**(6): 681-697.
- Bauer, S., S. Pigisch, D. Hangel, A. Kaufmann and S. Hamm (2008). "Recognition of nucleic acid and nucleic acid analogs by Toll-like receptors 7, 8 and 9." *Immunobiology* **213**(3-4): 315-328.
- Bazzoni, F. and B. Beutler (1996). "The tumor necrosis factor ligand and receptor families." *N Engl J Med* **334**(26): 1717-1725.
- Becker, Y. (2004). "The changes in the T helper 1 (Th1) and T helper 2 (Th2) cytokine balance during HIV-1 infection are indicative of an allergic response to viral proteins that may be reversed by Th2 cytokine inhibitors and immune response modifiers--a review and hypothesis." *Virus Genes* **28**(1): 5-18.
- Ben Haij, N., K. Leghmari, R. Planes, N. Thieblemont and E. Bahraoui (2013). "HIV-1 Tat protein binds to TLR4-MD2 and signals to induce TNF-alpha and IL-10." *Retrovirology* **10**: 123.

- Benkirane, M., D. Y. Jin, R. F. Chun, R. A. Koup and K. T. Jeang (1997). "Mechanism of transdominant inhibition of CCR5-mediated HIV-1 infection by ccr5delta32." J Biol Chem **272**(49): 30603-30606.
- Biesinger, T. and J. T. Kimata (2008). "HIV-1 Transmission, Replication Fitness and Disease Progression." Virology (Auckl) **2008**(1): 49-63.
- Boulware, D. R., K. H. Hullsiek, C. E. Puro, A. Rupert, J. V. Baker, M. A. French, P. R. Bohjanen, R. M. Novak, J. D. Neaton, I. Sereti and I. S. Group (2011). "Higher levels of CRP, D-dimer, IL-6, and hyaluronic acid before initiation of antiretroviral therapy (ART) are associated with increased risk of AIDS or death." J Infect Dis **203**(11): 1637-1646.
- Breen, E. C. (2002). "Pro- and anti-inflammatory cytokines in human immunodeficiency virus infection and acquired immunodeficiency syndrome." Pharmacol Ther **95**(3): 295-304.
- Brenchley, J. M. and D. C. Douek (2008). "HIV infection and the gastrointestinal immune system." Mucosal Immunol **1**(1): 23-30.
- Brenchley, J. M., B. J. Hill, D. R. Ambrozak, D. A. Price, F. J. Guenaga, J. P. Casazza, J. Kuruppu, J. Yazdani, S. A. Migueles, M. Connors, M. Roederer, D. C. Douek and R. A. Koup (2004). "T-cell subsets that harbor human immunodeficiency virus (HIV) in vivo: implications for HIV pathogenesis." J Virol **78**(3): 1160-1168.
- Brichacek, B., C. Vanpouille, Y. Kiselyeva, A. Biancotto, M. Merbah, I. Hirsch, A. Lisco, J. C. Grivel and L. Margolis (2010). "Contrasting roles for TLR ligands in HIV-1 pathogenesis." PLoS One **5**(9).
- Brown, J. A., D. M. Dorfman, F. R. Ma, E. L. Sullivan, O. Munoz, C. R. Wood, E. A. Greenfield and G. J. Freeman (2003). "Blockade of programmed death-1 ligands on dendritic cells enhances T cell activation and cytokine production." J Immunol **170**(3): 1257-1266.
- Cameron, P. U., P. S. Freudenthal, J. M. Barker, S. Gezelter, K. Inaba and R. M. Steinman (1992). "Dendritic cells exposed to human immunodeficiency virus type-1 transmit a vigorous cytopathic infection to CD4+ T cells." Science **257**(5068): 383-387.
- Cao, J., J. McNevin, S. Holte, L. Fink, L. Corey and M. J. McElrath (2003). "Comprehensive analysis of human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1)-specific gamma interferon-secreting CD8+ T cells in primary HIV-1 infection." J Virol **77**(12): 6867-6878.
- Carrington, M., G. W. Nelson, M. P. Martin, T. Kissner, D. Vlahov, J. J. Goedert, R. Kaslow, S. Buchbinder, K. Hoots and S. J. O'Brien (1999). "HLA and HIV-1: heterozygote advantage and B*35-Cw*04 disadvantage." Science **283**(5408): 1748-1752.
- Carrington, M. and S. J. O'Brien (2003). "The influence of HLA genotype on AIDS." Annu Rev Med **54**: 535-551.
- Casado, C., S. Colombo, A. Rauch, R. Martinez, H. F. Gunthard, S. Garcia, C. Rodriguez, J. Del Romero, A. Telenti and C. Lopez-Galindez (2010). "Host and viral genetic correlates of clinical definitions of HIV-1 disease progression." PLoS One **5**(6): e11079.
- Cascino, I., C. Ballerini, S. Audino, G. Rombola, L. Massacesi, G. Colombo, R. Scorza Smeraldi, S. d'Alfonso, P. Momigliano Richiardi, R. Tosi and G. Ruberti (1998). "Fas gene polymorphisms are not associated with systemic lupus erythematosus, multiple sclerosis and HIV infection." Dis Markers **13**(4): 221-225.
- Cecchinato, V., C. J. Trindade, A. Laurence, J. M. Heraud, J. M. Brenchley, M. G. Ferrari, L. Zaffiri, E. Trynieszewska, W. P. Tsai, M. Vaccari, R. W. Parks, D. Venzon,

- D. C. Douek, J. J. O'Shea and G. Franchini (2008). "Altered balance between Th17 and Th1 cells at mucosal sites predicts AIDS progression in simian immunodeficiency virus-infected macaques." Mucosal Immunol **1**(4): 279-288.
- Chen, I. Y. and T. Ichinohe (2015). "Response of host inflammasomes to viral infection." Trends Microbiol **23**(1): 55-63.
- Chen, Z. and J. J. O'Shea (2008). "Th17 cells: a new fate for differentiating helper T cells." Immunol Res **41**(2): 87-102.
- Cheynier, R., S. Henrichwark, F. Hadida, E. Pelletier, E. Oksenhendler, B. Autran and S. Wain-Hobson (1994). "HIV and T cell expansion in splenic white pulps is accompanied by infiltration of HIV-specific cytotoxic T lymphocytes." Cell **78**(3): 373-387.
- Chun, T. W., D. Engel, M. M. Berrey, T. Shea, L. Corey and A. S. Fauci (1998). "Early establishment of a pool of latently infected, resting CD4(+) T cells during primary HIV-1 infection." Proc Natl Acad Sci U S A **95**(15): 8869-8873.
- Chung, Y., X. Yang, S. H. Chang, L. Ma, Q. Tian and C. Dong (2006). "Expression and regulation of IL-22 in the IL-17-producing CD4+ T lymphocytes." Cell Res **16**(11): 902-907.
- Clapham, P. R. and A. McKnight (2002). "Cell surface receptors, virus entry and tropism of primate lentiviruses." J Gen Virol **83**(Pt 8): 1809-1829.
- Clerici, M. (2010). "Beyond IL-17: new cytokines in the pathogenesis of HIV infection." Curr Opin HIV AIDS **5**(2): 184-188.
- Clerici, M. and G. M. Shearer (1993). "A TH1-->TH2 switch is a critical step in the etiology of HIV infection." Immunol Today **14**(3): 107-111.
- Clerici, M., N. I. Stocks, R. A. Zajac, R. N. Boswell, D. C. Bernstein, D. L. Mann, G. M. Shearer and J. A. Berzofsky (1989). "Interleukin-2 production used to detect antigenic peptide recognition by T-helper lymphocytes from asymptomatic HIV-seropositive individuals." Nature **339**(6223): 383-385.
- Clerici, M., N. I. Stocks, R. A. Zajac, R. N. Boswell, D. R. Lucey, C. S. Via and G. M. Shearer (1989). "Detection of three distinct patterns of T helper cell dysfunction in asymptomatic, human immunodeficiency virus-seropositive patients. Independence of CD4+ cell numbers and clinical staging." J Clin Invest **84**(6): 1892-1899.
- Cohen, M. S. (2001). "Preventing transmission of HIV: a biological and medical perspective." AIDS Patient Care STDS **15**(8): 427-429.
- Costin, J. M. (2007). "Cytopathic mechanisms of HIV-1." Virol J **4**: 100.
- Dalod, M., M. Dupuis, J. C. Deschemin, C. Goujard, C. Deveau, L. Meyer, N. Ngo, C. Rouzioux, J. G. Guillet, J. F. Delfraissy, M. Sinet and A. Venet (1999). "Weak anti-HIV CD8(+) T-cell effector activity in HIV primary infection." J Clin Invest **104**(10): 1431-1439.
- Dandekar, S., M. D. George and A. J. Baumler (2010). "Th17 cells, HIV and the gut mucosal barrier." Curr Opin HIV AIDS **5**(2): 173-178.
- Day, C. L., D. E. Kaufmann, P. Kiepiela, J. A. Brown, E. S. Moodley, S. Reddy, E. W. Mackey, J. D. Miller, A. J. Leslie, C. DePierres, Z. Mncube, J. Duraiswamy, B. Zhu, Q. Eichbaum, M. Altfeld, E. J. Wherry, H. M. Coovadia, P. J. Goulder, P. Klenerman, R. Ahmed, G. J. Freeman and B. D. Walker (2006). "PD-1 expression on HIV-specific T cells is associated with T-cell exhaustion and disease progression." Nature **443**(7109): 350-354.
- de Gaetano Donati, K., R. Rabagliati, L. Iacoviello and R. Cauda (2004). "HIV infection, HAART, and endothelial adhesion molecules: current perspectives." Lancet Infect Dis **4**(4): 213-222.

- de Medeiros, R. M., J. M. Valverde-Villegas, D. M. Junqueira, T. Graf, J. D. Lindenau, M. G. de Mello, P. Vianna, S. E. Almeida and J. A. Chies (2016). "Rapid and Slow Progressors Show Increased IL-6 and IL-10 Levels in the Pre-AIDS Stage of HIV Infection." PLoS One **11**(5): e0156163.
- Deeks, S. G. and B. D. Walker (2007). "Human immunodeficiency virus controllers: mechanisms of durable virus control in the absence of antiretroviral therapy." Immunity **27**(3): 406-416.
- Dianzani, U., T. Bensi, A. Savarino, S. Sametti, M. Indelicato, R. Mesturini and A. Chiochetti (2003). "Role of FAS in HIV infection." Curr HIV Res **1**(4): 405-417.
- Douek, D. C., J. M. Brenchley, M. R. Betts, D. R. Ambrozak, B. J. Hill, Y. Okamoto, J. P. Casazza, J. Kuruppu, K. Kunstman, S. Wolinsky, Z. Grossman, M. Dybul, A. Oxenius, D. A. Price, M. Connors and R. A. Koup (2002). "HIV preferentially infects HIV-specific CD4+ T cells." Nature **417**(6884): 95-98.
- Douek, D. C., M. Roederer and R. A. Koup (2009). "Emerging concepts in the immunopathogenesis of AIDS." Annu Rev Med **60**: 471-484.
- Dragic, T., V. Litwin, G. P. Allaway, S. R. Martin, Y. Huang, K. A. Nagashima, C. Cayanan, P. J. Maddon, R. A. Koup, J. P. Moore and W. A. Paxton (1996). "HIV-1 entry into CD4+ cells is mediated by the chemokine receptor CC-CKR-5." Nature **381**(6584): 667-673.
- Edwards, A., A. Civitello, H. A. Hammond and C. T. Caskey (1991). "DNA typing and genetic mapping with trimeric and tetrameric tandem repeats." Am J Hum Genet **49**(4): 746-756.
- Fanales-Belasio, E., M. Raimondo, B. Suligoj and S. Butto (2010). "HIV virology and pathogenetic mechanisms of infection: a brief overview." Ann Ist Super Sanita **46**(1): 5-14.
- Faure, M. and C. Rabourdin-Combe (2011). "Innate immunity modulation in virus entry." Curr Opin Virol **1**(1): 6-12.
- Fellay, J. (2009). "Host genetics influences on HIV type-1 disease." Antivir Ther **14**(6): 731-738.
- Ferreira, T. C., E. P. Sampaio, G. A. Arganaraz, M. V. Gondim, L. Shapiro and E. R. Arganaraz (2014). "Increased prevalence of the alpha-1-antitrypsin (A1AT) deficiency-related S gene in patients infected with human immunodeficiency virus type 1." J Med Virol **86**(1): 23-29.
- Fishman, D., G. Faulds, R. Jeffery, V. Mohamed-Ali, J. S. Yudkin, S. Humphries and P. Woo (1998). "The effect of novel polymorphisms in the interleukin-6 (IL-6) gene on IL-6 transcription and plasma IL-6 levels, and an association with systemic-onset juvenile chronic arthritis." J Clin Invest **102**(7): 1369-1376.
- Foster, C. B., T. Lehrnbecher, S. Samuels, S. Stein, F. Mol, J. A. Metcalf, K. Wyvill, S. M. Steinberg, J. Kovacs, A. Blauvelt, R. Yarchoan and S. J. Chanock (2000). "An IL6 promoter polymorphism is associated with a lifetime risk of development of Kaposi sarcoma in men infected with human immunodeficiency virus." Blood **96**(7): 2562-2567.
- Francis, D. P., J. W. Curran and M. Essex (1983). "Epidemic acquired immune deficiency syndrome: epidemiologic evidence for a transmissible agent." J Natl Cancer Inst **71**(1): 1-4.
- Freitas, F. B., S. S. Lima, R. N. Feitosa, V. N. Azevedo, O. Ishak Mde, R. Ishak and A. C. Vallinoto "Polymorphisms in the IFNgamma, IL-10, and TGFbeta genes may be associated with HIV-1 infection." Dis Markers **2015**: 248571.

- Freitas, F. B., S. S. Lima, R. N. Feitosa, V. N. Azevedo, O. Ishak Mde, R. Ishak and A. C. Vallinoto (2015). "Polymorphisms in the IFN γ , IL-10, and TGF β genes may be associated with HIV-1 infection." *Dis Markers* **2015**: 248571.
- Furtado, M. R., D. S. Callaway, J. P. Phair, K. J. Kunstman, J. L. Stanton, C. A. Macken, A. S. Perelson and S. M. Wolinsky (1999). "Persistence of HIV-1 transcription in peripheral-blood mononuclear cells in patients receiving potent antiretroviral therapy." *N Engl J Med* **340**(21): 1614-1622.
- Gallo, R. C. (2002). "Historical essay. The early years of HIV/AIDS." *Science* **298**(5599): 1728-1730.
- Gangwani, M. R. and A. Kumar (2015). "Multiple Protein Kinases via Activation of Transcription Factors NF- κ B, AP-1 and C/EBP- δ Regulate the IL-6/IL-8 Production by HIV-1 Vpr in Astrocytes." *PLoS One* **10**(8): e0135633.
- Geissmann, F., M. G. Manz, S. Jung, M. H. Sieweke, M. Merad and K. Ley (2010). "Development of monocytes, macrophages, and dendritic cells." *Science* **327**(5966): 656-661.
- Genomes Project, C., G. R. Abecasis, D. Altshuler, A. Auton, L. D. Brooks, R. M. Durbin, R. A. Gibbs, M. E. Hurles and G. A. McVean (2010). "A map of human genome variation from population-scale sequencing." *Nature* **467**(7319): 1061-1073.
- Goonetilleke, N., M. K. Liu, J. F. Salazar-Gonzalez, G. Ferrari, E. Giorgi, V. V. Ganusov, B. F. Keele, G. H. Learn, E. L. Turnbull, M. G. Salazar, K. J. Weinhold, S. Moore, C. C. C. B, N. Letvin, B. F. Haynes, M. S. Cohen, P. Hraber, T. Bhattacharya, P. Borrow, A. S. Perelson, B. H. Hahn, G. M. Shaw, B. T. Korber and A. J. McMichael (2009). "The first T cell response to transmitted/founder virus contributes to the control of acute viremia in HIV-1 infection." *J Exp Med* **206**(6): 1253-1272.
- Goulder, P. J., M. Bunce, P. Krausa, K. McIntyre, S. Crowley, B. Morgan, A. Edwards, P. Giangrande, R. E. Phillips and A. J. McMichael (1996). "Novel, cross-restricted, conserved, and immunodominant cytotoxic T lymphocyte epitopes in slow progressors in HIV type 1 infection." *AIDS Res Hum Retroviruses* **12**(18): 1691-1698.
- Greene, W. C. (2004). "The brightening future of HIV therapeutics." *Nat Immunol* **5**(9): 867-871.
- Group, I.-E. S., S. S. Committee, D. Abrams, Y. Levy, M. H. Losso, A. Babiker, G. Collins, D. A. Cooper, J. Darbyshire, S. Emery, L. Fox, F. Gordin, H. C. Lane, J. D. Lundgren, R. Mitsuyasu, J. D. Neaton, A. Phillips, J. P. Routy, G. Tambussi and D. Wentworth (2009). "Interleukin-2 therapy in patients with HIV infection." *N Engl J Med* **361**(16): 1548-1559.
- Guo, H., J. B. Callaway and J. P. Ting (2015). "Inflammasomes: mechanism of action, role in disease, and therapeutics." *Nat Med* **21**(7): 677-687.
- Harijith, A., D. L. Ebenezer and V. Natarajan (2014). "Reactive oxygen species at the crossroads of inflammasome and inflammation." *Front Physiol* **5**: 352.
- Harrer, T., E. Harrer, S. A. Kalams, P. Barbosa, A. Trocha, R. P. Johnson, T. Elbeik, M. B. Feinberg, S. P. Buchbinder and B. D. Walker (1996). "Cytotoxic T lymphocytes in asymptomatic long-term nonprogressing HIV-1 infection. Breadth and specificity of the response and relation to in vivo viral quasispecies in a person with prolonged infection and low viral load." *J Immunol* **156**(7): 2616-2623.
- Hasse, B., B. Ledergerber, H. Furrer, M. Battegay, B. Hirschel, M. Cavassini, B. Bertisch, E. Bernasconi, R. Weber and H. I. V. C. S. Swiss (2011). "Morbidity and aging in HIV-infected persons: the Swiss HIV cohort study." *Clin Infect Dis* **53**(11): 1130-1139.

- Hazenberg, M. D., S. A. Otto, B. H. van Benthem, M. T. Roos, R. A. Coutinho, J. M. Lange, D. Hamann, M. Prins and F. Miedema (2003). "Persistent immune activation in HIV-1 infection is associated with progression to AIDS." *AIDS* **17**(13): 1881-1888.
- He, Y., H. Hara and G. Nunez (2016). "Mechanism and Regulation of NLRP3 Inflammasome Activation." *Trends Biochem Sci* **41**(12): 1012-1021.
- Heinemeyer, T., E. Wingender, I. Reuter, H. Hermjakob, A. E. Kel, O. V. Kel, E. V. Ignatieva, E. A. Ananko, O. A. Podkolodnaya, F. A. Kolpakov, N. L. Podkolodny and N. A. Kolchanov (1998). "Databases on transcriptional regulation: TRANSFAC, TRRD and COMPEL." *Nucleic Acids Res* **26**(1): 362-367.
- Hermes, R. B., B. B. Santana, S. S. Lima, R. Neris Martins Feitosa, M. de Oliveira Guimaraes Ishak, R. Ishak and A. C. Vallinoto (2015). "FAS -670 A/G polymorphism may be associated with the depletion of CD4(+) T lymphocytes in HIV-1 infection." *Hum Immunol* **76**(10): 742-746.
- Hladik, F. and M. J. McElrath (2008). "Setting the stage: host invasion by HIV." *Nat Rev Immunol* **8**(6): 447-457.
- Huang, Q. R., D. Morris and N. Manolios (1997). "Identification and characterization of polymorphisms in the promoter region of the human Apo-1/Fas (CD95) gene." *Mol Immunol* **34**(8-9): 577-582.
- Huang, Y., N. Erdmann, H. Peng, S. Herek, J. S. Davis, X. Luo, T. Ikezu and J. Zheng (2006). "TRAIL-mediated apoptosis in HIV-1-infected macrophages is dependent on the inhibition of Akt-1 phosphorylation." *J Immunol* **177**(4): 2304-2313.
- Huang, Y., H. Yang, B. B. Borg, X. Su, S. L. Rhodes, K. Yang, X. Tong, G. Tang, C. D. Howell, H. R. Rosen, C. L. Thio, D. L. Thomas, H. J. Alter, R. K. Sapp and T. J. Liang (2007). "A functional SNP of interferon-gamma gene is important for interferon-alpha-induced and spontaneous recovery from hepatitis C virus infection." *Proc Natl Acad Sci U S A* **104**(3): 985-990.
- Hulkkonen, J., M. Pertovaara, J. Anttonen, A. Pasternack and M. Hurme (2001). "Elevated interleukin-6 plasma levels are regulated by the promoter region polymorphism of the IL6 gene in primary Sjogren's syndrome and correlate with the clinical manifestations of the disease." *Rheumatology (Oxford)* **40**(6): 656-661.
- Hull, J., A. Thomson and D. Kwiatkowski (2000). "Association of respiratory syncytial virus bronchiolitis with the interleukin 8 gene region in UK families." *Thorax* **55**(12): 1023-1027.
- Humphries, S. E., L. A. Luong, M. S. Ogg, E. Hawe and G. J. Miller (2001). "The interleukin-6 -174 G/C promoter polymorphism is associated with risk of coronary heart disease and systolic blood pressure in healthy men." *Eur Heart J* **22**(24): 2243-2252.
- Ikomey, G. M., M. C. Okomo-Assoumou, J. Atashili, M. T. Mesembe, B. Mukwele, E. Lyonga, A. Eyoh and P. M. Ndumbe (2012). "Plasma concentrations of soluble Fas receptors (Fas) and Fas ligands (FasL) in relation to CD4+ cell counts in HIV-1 positive and negative patients in Yaounde, Cameroon." *BMC Res Notes* **5**: 322.
- Ishida, Y., Y. Agata, K. Shibahara and T. Honjo (1992). "Induced expression of PD-1, a novel member of the immunoglobulin gene superfamily, upon programmed cell death." *EMBO J* **11**(11): 3887-3895.
- Ji, J., J. J. Chen, V. L. Braciale and M. W. Cloyd (2007). "Apoptosis induced in HIV-1-exposed, resting CD4+ T cells subsequent to signaling through homing receptors is Fas/Fas ligand-mediated." *J Leukoc Biol* **81**(1): 297-305.
- Johnson, S. C. (2016). "Antiretroviral Therapy for HIV Infection: When to Initiate Therapy, Which Regimen to Use, and How to Monitor Patients on Therapy." *Top Antivir Med* **23**(5): 161-167.

- Jost, S. and M. Altfeld (2013). "Control of human viral infections by natural killer cells." Annu Rev Immunol **31**: 163-194.
- Kalayjian, R. C., R. N. Machekano, N. Rizk, G. K. Robbins, R. T. Gandhi, B. A. Rodriguez, R. B. Pollard, M. M. Lederman and A. Landay (2010). "Pretreatment levels of soluble cellular receptors and interleukin-6 are associated with HIV disease progression in subjects treated with highly active antiretroviral therapy." J Infect Dis **201**(12): 1796-1805.
- Kaslow, R. A., R. Duquesnoy, M. VanRaden, L. Kingsley, M. Marrari, H. Friedman, S. Su, A. J. Saah, R. Detels, J. Phair and et al. (1990). "A1, Cw7, B8, DR3 HLA antigen combination associated with rapid decline of T-helper lymphocytes in HIV-1 infection. A report from the Multicenter AIDS Cohort Study." Lancet **335**(8695): 927-930.
- Katsikis, P. D., Y. M. Mueller and F. Villinger (2011). "The cytokine network of acute HIV infection: a promising target for vaccines and therapy to reduce viral set-point?" PLoS Pathog **7**(8): e1002055.
- Kawai, T. and S. Akira (2006). "TLR signaling." Cell Death Differ **13**(5): 816-825.
- Kawai, T. and S. Akira (2009). "The roles of TLRs, RLRs and NLRs in pathogen recognition." Int Immunol **21**(4): 317-337.
- Keating, S. M., E. T. Golub, M. Nowicki, M. Young, K. Anastos, H. Crystal, M. H. Cohen, J. Zhang, R. M. Greenblatt, S. Desai, S. Wu, A. L. Landay, S. J. Gange, P. J. Norris and H. I. V. S. Women's Interagency (2011). "The effect of HIV infection and HAART on inflammatory biomarkers in a population-based cohort of women." AIDS **25**(15): 1823-1832.
- Klein, S. A., J. M. Dobbmeyer, T. S. Dobbmeyer, M. Pape, O. G. Ottmann, E. B. Helm, D. Hoelzer and R. Rossol (1997). "Demonstration of the Th1 to Th2 cytokine shift during the course of HIV-1 infection using cytoplasmic cytokine detection on single cell level by flow cytometry." AIDS **11**(9): 1111-1118.
- Kolla, V. K., G. Madhavi, B. Pulla Reddy, B. M. Srikanth Babu, J. Yashovanthi, V. L. Valluri, J. Ramesh and J. Akka (2009). "Association of tumor necrosis factor alpha, interferon gamma and interleukin 10 gene polymorphisms with peripheral neuropathy in South Indian patients with type 2 diabetes." Cytokine **47**(3): 173-177.
- Korn, T., E. Bettelli, M. Oukka and V. K. Kuchroo (2009). "IL-17 and Th17 Cells." Annu Rev Immunol **27**: 485-517.
- Kovacs, J. A., M. Baseler, R. J. Dewar, S. Vogel, R. T. Davey, Jr., J. Falloon, M. A. Polis, R. E. Walker, R. Stevens, N. P. Salzman and et al. (1995). "Increases in CD4 T lymphocytes with intermittent courses of interleukin-2 in patients with human immunodeficiency virus infection. A preliminary study." N Engl J Med **332**(9): 567-575.
- Kovacs, J. A., S. Vogel, J. M. Albert, J. Falloon, R. T. Davey, Jr., R. E. Walker, M. A. Polis, K. Spooner, J. A. Metcalf, M. Baseler, G. Fyfe and H. C. Lane (1996). "Controlled trial of interleukin-2 infusions in patients infected with the human immunodeficiency virus." N Engl J Med **335**(18): 1350-1356.
- Kroeger, K. M., K. S. Carville and L. J. Abraham (1997). "The -308 tumor necrosis factor-alpha promoter polymorphism effects transcription." Mol Immunol **34**(5): 391-399.
- Kuller, L. H., R. Tracy, W. Belloso, S. De Wit, F. Drummond, H. C. Lane, B. Ledergerber, J. Lundgren, J. Neuhaus, D. Nixon, N. I. Paton, J. D. Neaton and I. S. S. Group (2008). "Inflammatory and coagulation biomarkers and mortality in patients with HIV infection." PLoS Med **5**(10): e203.
- Lacy, P. and J. L. Stow (2011). "Cytokine release from innate immune cells: association with diverse membrane trafficking pathways." Blood **118**(1): 9-18.

- Lahdevirta, J., C. P. Maury, A. M. Teppo and H. Repo (1988). "Elevated levels of circulating cachectin/tumor necrosis factor in patients with acquired immunodeficiency syndrome." Am J Med **85**(3): 289-291.
- Lama, J. and V. Planelles (2007). "Host factors influencing susceptibility to HIV infection and AIDS progression." Retrovirology **4**(1): 52.
- Lane, B. R., K. Lore, P. J. Bock, J. Andersson, M. J. Coffey, R. M. Strieter and D. M. Markovitz (2001). "Interleukin-8 stimulates human immunodeficiency virus type 1 replication and is a potential new target for antiretroviral therapy." J Virol **75**(17): 8195-8202.
- Lane, B. R., D. M. Markovitz, N. L. Woodford, R. Rochford, R. M. Strieter and M. J. Coffey (1999). "TNF-alpha inhibits HIV-1 replication in peripheral blood monocytes and alveolar macrophages by inducing the production of RANTES and decreasing C-C chemokine receptor 5 (CCR5) expression." J Immunol **163**(7): 3653-3661.
- Larsen, C. G., A. O. Anderson, E. Appella, J. J. Oppenheim and K. Matsushima (1989). "The neutrophil-activating protein (NAP-1) is also chemotactic for T lymphocytes." Science **243**(4897): 1464-1466.
- Lechtenberg, B. C., P. D. Mace and S. J. Riedl (2014). "Structural mechanisms in NLR inflammasome signaling." Curr Opin Struct Biol **29**: 17-25.
- Levy, J. A. (1993). "HIV and host immune responses in AIDS pathogenesis." J Clin Apher **8**(1): 19-28.
- Levy, J. A. (1993). "Pathogenesis of human immunodeficiency virus infection." Microbiol Rev **57**(1): 183-289.
- Liovat, A. S., M. A. Rey-Cuille, C. Lecuroux, B. Jacquelin, I. Girault, G. Petitjean, Y. Zitoun, A. Venet, F. Barre-Sinoussi, P. Lebon, L. Meyer, M. Sinet and M. Muller-Trutwin (2012). "Acute plasma biomarkers of T cell activation set-point levels and of disease progression in HIV-1 infection." PLoS One **7**(10): e46143.
- Liu, K., G. D. Victora, T. A. Schwickert, P. Guermonprez, M. M. Meredith, K. Yao, F. F. Chu, G. J. Randolph, A. Y. Rudensky and M. Nussenzweig (2009). "In vivo analysis of dendritic cell development and homeostasis." Science **324**(5925): 392-397.
- Lupfer, C., A. Malik and T. D. Kanneganti (2015). "Inflammasome control of viral infection." Curr Opin Virol **12**: 38-46.
- Maddur, M. S., P. Miossec, S. V. Kaveri and J. Bayry (2012). "Th17 cells: biology, pathogenesis of autoimmune and inflammatory diseases, and therapeutic strategies." Am J Pathol **181**(1): 8-18.
- Mahajan, S. D., A. Agosto-Mojica, R. Aalinkeel, J. L. Reynolds, B. B. Nair, D. E. Sykes, J. Martinez, J. Adams, N. Singh, Z. Bernstein, C. B. Hsiao and S. A. Schwartz (2010). "Role of chemokine and cytokine polymorphisms in the progression of HIV-1 disease." Biochem Biophys Res Commun **396**(2): 348-352.
- Mandl, J. N., A. P. Barry, T. H. Vanderford, N. Kozyr, R. Chavan, S. Klucking, F. J. Barrat, R. L. Coffman, S. I. Staprans and M. B. Feinberg (2008). "Divergent TLR7 and TLR9 signaling and type I interferon production distinguish pathogenic and nonpathogenic AIDS virus infections." Nat Med **14**(10): 1077-1087.
- Mansky, L. M. (1998). "Retrovirus mutation rates and their role in genetic variation." J Gen Virol **79** (Pt 6): 1337-1345.
- Margolis, L. and R. Shattock (2006). "Selective transmission of CCR5-utilizing HIV-1: the 'gatekeeper' problem resolved?" Nat Rev Microbiol **4**(4): 312-317.
- Marin, B., R. Thiebaut, H. C. Bucher, V. Rondeau, D. Costagliola, M. Dorrucchi, O. Hamouda, M. Prins, S. Walker, K. Porter, C. Sabin and G. Chene (2009). "Non-AIDS-

- defining deaths and immunodeficiency in the era of combination antiretroviral therapy." *AIDS* **23**(13): 1743-1753.
- Martinon, F., K. Burns and J. Tschopp (2002). "The inflammasome: a molecular platform triggering activation of inflammatory caspases and processing of proIL-beta." *Mol Cell* **10**(2): 417-426.
- Martinon, F. and J. Tschopp (2007). "Inflammatory caspases and inflammasomes: master switches of inflammation." *Cell Death Differ* **14**(1): 10-22.
- Matsumoto, T., T. Miike, R. P. Nelson, W. L. Trudeau, R. F. Lockey and J. Yodoi (1993). "Elevated serum levels of IL-8 in patients with HIV infection." *Clin Exp Immunol* **93**(2): 149-151.
- Mayer, K. H. and K. K. Venkatesh (2010). "Antiretroviral therapy as HIV prevention: status and prospects." *Am J Public Health* **100**(10): 1867-1876.
- McDonald, D., L. Wu, S. M. Bohks, V. N. KewalRamani, D. Unutmaz and T. J. Hope (2003). "Recruitment of HIV and its receptors to dendritic cell-T cell junctions." *Science* **300**(5623): 1295-1297.
- McManus, H., C. C. O'Connor, M. Boyd, J. Broom, D. Russell, K. Watson, N. Roth, P. J. Read, K. Petoumenos, M. G. Law and H. I. V. O. D. Australian (2012). "Long-term survival in HIV positive patients with up to 15 Years of antiretroviral therapy." *PLoS One* **7**(11): e48839.
- McMichael, A. J., P. Borrow, G. D. Tomaras, N. Goonetilleke and B. F. Haynes (2010). "The immune response during acute HIV-1 infection: clues for vaccine development." *Nat Rev Immunol* **10**(1): 11-23.
- Migueles, S. A. and M. Connors (2010). "Long-term nonprogressive disease among untreated HIV-infected individuals: clinical implications of understanding immune control of HIV." *JAMA* **304**(2): 194-201.
- Milich, L., B. Margolin and R. Swanstrom (1993). "V3 loop of the human immunodeficiency virus type 1 Env protein: interpreting sequence variability." *J Virol* **67**(9): 5623-5634.
- Monroe, K. M., Z. Yang, J. R. Johnson, X. Geng, G. Doitsh, N. J. Krogan and W. C. Greene (2014). "IFI16 DNA sensor is required for death of lymphoid CD4 T cells abortively infected with HIV." *Science* **343**(6169): 428-432.
- Montagnier, L. (2002). "Historical essay. A history of HIV discovery." *Science* **298**(5599): 1727-1728.
- Mukaida, N., M. Shiroo and K. Matsushima (1989). "Genomic structure of the human monocyte-derived neutrophil chemotactic factor IL-8." *J Immunol* **143**(4): 1366-1371.
- Muthumani, K., A. Y. Choo, D. S. Hwang, A. Premkumar, N. S. Dayes, C. Harris, D. R. Green, S. A. Wadsworth, J. J. Siekierka and D. B. Weiner (2005). "HIV-1 Nef-induced FasL induction and bystander killing requires p38 MAPK activation." *Blood* **106**(6): 2059-2068.
- Nakamura, Y., M. Leppert, P. O'Connell, R. Wolff, T. Holm, M. Culver, C. Martin, E. Fujimoto, M. Hoff, E. Kumlin and et al. (1987). "Variable number of tandem repeat (VNTR) markers for human gene mapping." *Science* **235**(4796): 1616-1622.
- Naluyima, P., M. A. Eller, O. Laeyendecker, T. C. Quinn, D. Serwadda, N. K. Sewankambo, R. H. Gray, N. L. Michael, F. Wabwire-Mangen, M. L. Robb and J. K. Sandberg (2014). "Impaired natural killer cell responses are associated with loss of the highly activated NKG2A(+)CD57(+)CD56(dim) subset in HIV-1 subtype D infection in Uganda." *AIDS* **28**(9): 1273-1278.
- Nasi, M., M. Pinti, R. Bugarini, L. Troiano, E. Lugli, C. Bellodi, C. Mussini, V. Borghi, T. Trenti, F. Balli, R. Esposito and A. Cossarizza (2005). "Genetic polymorphisms of Fas (CD95) and Fas ligand (CD178) influence the rise in CD4+ T cell count after

- antiretroviral therapy in drug-naive HIV-positive patients." Immunogenetics **57**(9): 628-635.
- Nixon, D. E. and A. L. Landay (2010). "Biomarkers of immune dysfunction in HIV." Curr Opin HIV AIDS **5**(6): 498-503.
- Norris, P. J., B. L. Pappalardo, B. Custer, G. Spotts, F. M. Hecht and M. P. Busch (2006). "Elevations in IL-10, TNF-alpha, and IFN-gamma from the earliest point of HIV Type 1 infection." AIDS Res Hum Retroviruses **22**(8): 757-762.
- O'Connell, K. A., J. R. Bailey and J. N. Blankson (2009). "Elucidating the elite: mechanisms of control in HIV-1 infection." Trends Pharmacol Sci **30**(12): 631-637.
- O'Connor, M. A., P. V. Munson, H. C. Tunggal, N. Hajari, T. B. Lewis, D. Bratt, C. Moats, J. Smedley, K. C. Bagley, J. I. Mullins and D. H. Fuller (2019). "Mucosal T Helper 17 and T Regulatory Cell Homeostasis Correlate with Acute Simian Immunodeficiency Virus Viremia and Responsiveness to Antiretroviral Therapy in Macaques." AIDS Res Hum Retroviruses **35**(3): 295-305.
- Okazaki, T. and J. Wang (2005). "PD-1/PD-L pathway and autoimmunity." Autoimmunity **38**(5): 353-357.
- Okulicz, J. F., V. C. Marconi, M. L. Landrum, S. Wegner, A. Weintrob, A. Ganesan, B. Hale, N. Crum-Cianflone, J. Delmar, V. Barthel, G. Quinnan, B. K. Agan, M. J. Dolan and H. I. V. W. G. Infectious Disease Clinical Research Program (2009). "Clinical outcomes of elite controllers, viremic controllers, and long-term nonprogressors in the US Department of Defense HIV natural history study." J Infect Dis **200**(11): 1714-1723.
- Olson, A. D., M. Guiguet, R. Zangerle, J. Gill, S. Perez-Hoyos, S. Lodi, J. Ghosh, M. Dorrucci, A. Johnson, M. Sannes, S. Moreno, K. Porter and C. C. i. E. for (2014). "Evaluation of rapid progressors in HIV infection as an extreme phenotype." J Acquir Immune Defic Syndr **67**(1): 15-21.
- Ott, M., J. L. Lovett, L. Mueller and E. Verdin (1998). "Superinduction of IL-8 in T cells by HIV-1 Tat protein is mediated through NF-kappaB factors." J Immunol **160**(6): 2872-2880.
- Paiardini, M. and M. Muller-Trutwin (2013). "HIV-associated chronic immune activation." Immunol Rev **254**(1): 78-101.
- Palella, F. J., Jr., R. K. Baker, A. C. Moorman, J. S. Chmiel, K. C. Wood, J. T. Brooks, S. D. Holmberg and H. I. V. O. S. Investigators (2006). "Mortality in the highly active antiretroviral therapy era: changing causes of death and disease in the HIV outpatient study." J Acquir Immune Defic Syndr **43**(1): 27-34.
- Pallikkuth, S., L. Micci, Z. S. Ende, R. I. Iriete, B. Cervasi, B. Lawson, C. S. McGary, K. A. Rogers, J. G. Else, G. Silvestri, K. Easley, J. D. Estes, F. Villinger, S. Pahwa and M. Paiardini (2013). "Maintenance of intestinal Th17 cells and reduced microbial translocation in SIV-infected rhesus macaques treated with interleukin (IL)-21." PLoS Pathog **9**(7): e1003471.
- Park, H., Z. Li, X. O. Yang, S. H. Chang, R. Nurieva, Y. H. Wang, Y. Wang, L. Hood, Z. Zhu, Q. Tian and C. Dong (2005). "A distinct lineage of CD4 T cells regulates tissue inflammation by producing interleukin 17." Nat Immunol **6**(11): 1133-1141.
- Paroli, M., A. Propato, D. Accapezzato, V. Francavilla, E. Schiaffella and V. Barnaba (2001). "The immunology of HIV-infected long-term non-progressors--a current view." Immunol Lett **79**(1-2): 127-129.
- Pierson, T., J. McArthur and R. F. Siliciano (2000). "Reservoirs for HIV-1: mechanisms for viral persistence in the presence of antiviral immune responses and antiretroviral therapy." Annu Rev Immunol **18**: 665-708.

- Pinti, M., L. Troiano, M. Nasi, L. Moretti, E. Monterastelli, A. Mazzacani, C. Mussi, P. Ventura, F. Olivieri, C. Franceschi, G. Salvioli and A. Cossarizza (2002). "Genetic polymorphisms of Fas (CD95) and FasL (CD178) in human longevity: studies on centenarians." Cell Death Differ **9**(4): 431-438.
- Pontillo, A., L. T. Silva, T. M. Oshiro, C. Finazzo, S. Crovella and A. J. Duarte (2012). "HIV-1 induces NALP3-inflammasome expression and interleukin-1beta secretion in dendritic cells from healthy individuals but not from HIV-positive patients." AIDS **26**(1): 11-18.
- Pope, M., M. G. Betjes, N. Romani, H. Hirmand, P. U. Cameron, L. Hoffman, S. Gezelter, G. Schuler and R. M. Steinman (1994). "Conjugates of dendritic cells and memory T lymphocytes from skin facilitate productive infection with HIV-1." Cell **78**(3): 389-398.
- Pravica, V., C. Perrey, A. Stevens, J. H. Lee and I. V. Hutchinson (2000). "A single nucleotide polymorphism in the first intron of the human IFN-gamma gene: absolute correlation with a polymorphic CA microsatellite marker of high IFN-gamma production." Hum Immunol **61**(9): 863-866.
- Prusiner, S. B. (2002). "Historical essay. Discovering the cause of AIDS." Science **298**(5599): 1726.
- Rathinam, V. A. and K. A. Fitzgerald (2016). "Inflammasome Complexes: Emerging Mechanisms and Effector Functions." Cell **165**(4): 792-800.
- Rathinam, V. A. K. and F. K. Chan (2018). "Inflammasome, Inflammation, and Tissue Homeostasis." Trends Mol Med **24**(3): 304-318.
- Rehermann, B. (2015). "Natural Killer Cells in Viral Hepatitis." Cell Mol Gastroenterol Hepatol **1**(6): 578-588.
- Reuter, M. A., C. Pombo and M. R. Betts (2012). "Cytokine production and dysregulation in HIV pathogenesis: lessons for development of therapeutics and vaccines." Cytokine Growth Factor Rev **23**(4-5): 181-191.
- Rinaldo, C., X. L. Huang, Z. F. Fan, M. Ding, L. Beltz, A. Logar, D. Panicali, G. Mazzara, J. Liebmann, M. Cottrill and et al. (1995). "High levels of anti-human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) memory cytotoxic T-lymphocyte activity and low viral load are associated with lack of disease in HIV-1-infected long-term nonprogressors." J Virol **69**(9): 5838-5842.
- Rissoan, M. C., V. Soumelis, N. Kadowaki, G. Grouard, F. Briere, R. de Waal Malefyt and Y. J. Liu (1999). "Reciprocal control of T helper cell and dendritic cell differentiation." Science **283**(5405): 1183-1186.
- Roberts, L., J. A. Passmore, C. Williamson, F. Little, L. M. Bebell, K. Mlisana, W. A. Burgers, F. van Loggerenberg, G. Walzl, J. F. Djoba Siawaya, Q. A. Karim and S. S. Karim (2010). "Plasma cytokine levels during acute HIV-1 infection predict HIV disease progression." AIDS **24**(6): 819-831.
- Roff, S. R., E. N. Noon-Song and J. K. Yamamoto (2014). "The Significance of Interferon-gamma in HIV-1 Pathogenesis, Therapy, and Prophylaxis." Front Immunol **4**: 498.
- Ronsholt, F. F., H. Ullum, T. L. Katzenstein, J. Gerstoft and S. R. Ostrowski (2013). "Persistent inflammation and endothelial activation in HIV-1 infected patients after 12 years of antiretroviral therapy." PLoS One **8**(6): e65182.
- Rose-John, S. (2012). "IL-6 trans-signaling via the soluble IL-6 receptor: importance for the pro-inflammatory activities of IL-6." Int J Biol Sci **8**(9): 1237-1247.
- Saeidi, A., M. Buggert, K. F. Che, Y. Y. Kong, V. Velu, M. Larsson and E. M. Shankar (2015). "Regulation of CD8+ T-cell cytotoxicity in HIV-1 infection." Cell Immunol **298**(1-2): 126-133.

- Said, E. A., F. P. Dupuy, L. Trautmann, Y. Zhang, Y. Shi, M. El-Far, B. J. Hill, A. Noto, P. Ancuta, Y. Peretz, S. G. Fonseca, J. Van Grevenynghe, M. R. Boulassel, J. Bruneau, N. H. Shoukry, J. P. Routy, D. C. Douek, E. K. Haddad and R. P. Sekaly (2010). "Programmed death-1-induced interleukin-10 production by monocytes impairs CD4+ T cell activation during HIV infection." *Nat Med* **16**(4): 452-459.
- Sanders, C. M., J. M. Cruse and R. E. Lewis (2008). "Toll-like receptors, cytokines and HIV-1." *Exp Mol Pathol* **84**(1): 31-36.
- Schacker, T. W., P. L. Nguyen, G. J. Beilman, S. Wolinsky, M. Larson, C. Reilly and A. T. Haase (2002). "Collagen deposition in HIV-1 infected lymphatic tissues and T cell homeostasis." *J Clin Invest* **110**(8): 1133-1139.
- Schacker, T. W., C. Reilly, G. J. Beilman, J. Taylor, D. Skarda, D. Krason, M. Larson and A. T. Haase (2005). "Amount of lymphatic tissue fibrosis in HIV infection predicts magnitude of HAART-associated change in peripheral CD4 cell count." *AIDS* **19**(18): 2169-2171.
- Sereti, I., H. Imamichi, V. Natarajan, T. Imamichi, M. S. Ramchandani, Y. Badralmaa, S. C. Berg, J. A. Metcalf, B. K. Hahn, J. M. Shen, A. Powers, R. T. Davey, J. A. Kovacs, E. M. Shevach and H. C. Lane (2005). "In vivo expansion of CD4CD45RO-CD25 T cells expressing foxP3 in IL-2-treated HIV-infected patients." *J Clin Invest* **115**(7): 1839-1847.
- Shadrina, O. A., E. S. Knyazhanskaya, S. P. Korolev and M. B. Gottikh (2016). "Host Proteins Ku and HMGA1 As Participants of HIV-1 Transcription." *Acta Naturae* **8**(1): 34-47.
- Shah, A., A. S. Verma, K. H. Patel, R. Noel, V. Rivera-Amill, P. S. Silverstein, S. Chaudhary, H. K. Bhat, L. Stamatatos, D. P. Singh, S. Buch and A. Kumar (2011). "HIV-1 gp120 induces expression of IL-6 through a nuclear factor-kappa B-dependent mechanism: suppression by gp120 specific small interfering RNA." *PLoS One* **6**(6): e21261.
- Shi, J., Y. Zhao, K. Wang, X. Shi, Y. Wang, H. Huang, Y. Zhuang, T. Cai, F. Wang and F. Shao (2015). "Cleavage of GSDMD by inflammatory caspases determines pyroptotic cell death." *Nature* **526**(7575): 660-665.
- Singh, S., A. Sharma and S. K. Arora (2014). "High producer haplotype (CAG) of -863C/A, -308G/A and -238G/A polymorphisms in the promoter region of TNF-alpha gene associate with enhanced apoptosis of lymphocytes in HIV-1 subtype C infected individuals from North India." *PLoS One* **9**(5): e98020.
- Singhal, G., E. J. Jaehne, F. Corrigan, C. Toben and B. T. Baune (2014). "Inflammasomes in neuroinflammation and changes in brain function: a focused review." *Front Neurosci* **8**: 315.
- Sloand, E. M., N. S. Young, P. Kumar, F. F. Weichold, T. Sato and J. P. Maciejewski (1997). "Role of Fas ligand and receptor in the mechanism of T-cell depletion in acquired immunodeficiency syndrome: effect on CD4+ lymphocyte depletion and human immunodeficiency virus replication." *Blood* **89**(4): 1357-1363.
- Smithies, O. (1955). "Grouped variations in the occurrence of new protein components in normal human serum." *Nature* **175**(4450): 307-308.
- Sobti, R. C., N. Berhane, S. A. Mahedi, R. Kler, S. A. Hosseini, V. Kuttiaat and A. Wanchu (2010). "Polymorphisms of IL-6 174 G/C, IL-10 -592 C/A and risk of HIV/AIDS among North Indian population." *Mol Cell Biochem* **337**(1-2): 145-152.
- Spijkerman, I. J., M. Koot, M. Prins, I. P. Keet, A. J. van den Hoek, F. Miedema and R. A. Coutinho (1995). "Lower prevalence and incidence of HIV-1 syncytium-inducing phenotype among injecting drug users compared with homosexual men." *AIDS* **9**(9): 1085-1092.

- Taborda, N. A., J. C. Hernandez, J. Lajoie, J. A. Juno, J. Kimani, M. T. Rugeles and K. R. Fowke (2015). "Short Communication: Low Expression of Activation and Inhibitory Molecules on NK Cells and CD4(+) T Cells Is Associated with Viral Control." *AIDS Res Hum Retroviruses* **31**(6): 636-640.
- Tang, J., C. Costello, I. P. Keet, C. Rivers, S. Leblanc, E. Karita, S. Allen and R. A. Kaslow (1999). "HLA class I homozygosity accelerates disease progression in human immunodeficiency virus type 1 infection." *AIDS Res Hum Retroviruses* **15**(4): 317-324.
- Thornton-Wells, T. A., J. H. Moore and J. L. Haines (2004). "Genetics, statistics and human disease: analytical retooling for complexity." *Trends Genet* **20**(12): 640-647.
- Tisoncik, J. R., M. J. Korth, C. P. Simmons, J. Farrar, T. R. Martin and M. G. Katze (2012). "Into the eye of the cytokine storm." *Microbiol Mol Biol Rev* **76**(1): 16-32.
- Trautmann, L., L. Janbazian, N. Chomont, E. A. Said, S. Gimmig, B. Bessette, M. R. Boulassel, E. Delwart, H. Sepulveda, R. S. Balderas, J. P. Routy, E. K. Haddad and R. P. Sekaly (2006). "Upregulation of PD-1 expression on HIV-specific CD8+ T cells leads to reversible immune dysfunction." *Nat Med* **12**(10): 1198-1202.
- Tsiara, C. G., G. K. Nikolopoulos, N. L. Dimou, K. G. Pantavou, P. G. Bagos, B. Mensah, M. Talias, G. G. Braliou, D. Paraskeva, S. Bonovas and A. Hatzakis (2018). "Interleukin gene polymorphisms and susceptibility to HIV-1 infection: a meta-analysis." *J Genet* **97**(1): 235-251.
- Vallinoto, A. C., B. B. Santana, E. L. dos Santos, R. R. Santo, R. B. Hermes, R. C. Sousa, I. Cayres-Vallinoto, L. F. Machado, M. O. Ishak and R. Ishak (2012). "FAS-670A/G single nucleotide polymorphism may be associated with human T lymphotropic virus-1 infection and clinical evolution to TSP/HAM." *Virus Res* **163**(1): 178-182.
- van der Kuyl, A. C., A. M. Polstra, G. J. Weverling, F. Zorgdrager, R. van den Burg and M. Cornelissen (2004). "An IL-8 gene promoter polymorphism is associated with the risk of the development of AIDS-related Kaposi's sarcoma: a case-control study." *AIDS* **18**(8): 1206-1208.
- van Manen, D., O. Delaneau, N. A. Kootstra, B. D. Boeser-Nunnink, S. Limou, S. M. Bol, J. A. Burger, A. H. Zwinderman, P. D. Moerland, R. van 't Slot, J. F. Zagury, A. B. van 't Wout and H. Schuitemaker (2011). "Genome-wide association scan in HIV-1-infected individuals identifying variants influencing disease course." *PLoS One* **6**(7): e22208.
- Vasilescu, A., S. C. Heath, G. Diop, H. Do, T. Hirtzig, H. Hendel, S. Bertin-Maghit, J. Rappaport, A. Therwath, G. M. Lathrop, F. Matsuda and J. F. Zagury (2004). "Genomic analysis of Fas and FasL genes and absence of correlation with disease progression in AIDS." *Immunogenetics* **56**(1): 56-60.
- Veazey, R. S., M. DeMaria, L. V. Chalifoux, D. E. Shvets, D. R. Pauley, H. L. Knight, M. Rosenzweig, R. P. Johnson, R. C. Desrosiers and A. A. Lackner (1998). "Gastrointestinal tract as a major site of CD4+ T cell depletion and viral replication in SIV infection." *Science* **280**(5362): 427-431.
- Veloso, S., M. Olona, F. Garcia, P. Domingo, C. Alonso-Villaverde, M. Broch, J. Peraire, C. Vilades, M. Plana, E. Pedrol, M. Lopez-Dupla, C. Aguilar, M. Gutierrez, A. Leon, M. Tacias, J. M. Gatell, C. Richart and F. Vidal (2010). "Effect of TNF-alpha genetic variants and CCR5 Delta 32 on the vulnerability to HIV-1 infection and disease progression in Caucasian Spaniards." *BMC Med Genet* **11**: 63.
- Werling, D. and T. W. Jungi (2003). "TOLL-like receptors linking innate and adaptive immune response." *Vet Immunol Immunopathol* **91**(1): 1-12.

- Westendorp, M. O., R. Frank, C. Ochsenbauer, K. Stricker, J. Dhein, H. Walczak, K. M. Debatin and P. H. Krammer (1995). "Sensitization of T cells to CD95-mediated apoptosis by HIV-1 Tat and gp120." Nature **375**(6531): 497-500.
- Xu, X., X. Y. Fu, J. Plate and A. S. Chong (1998). "IFN-gamma induces cell growth inhibition by Fas-mediated apoptosis: requirement of STAT1 protein for up-regulation of Fas and FasL expression." Cancer Res **58**(13): 2832-2837.
- Xu, X. N., G. R. Screaton and A. J. McMichael (2001). "Virus infections: escape, resistance, and counterattack." Immunity **15**(6): 867-870.
- Yerly, S., L. Kaiser, E. Race, J. P. Bru, F. Clavel and L. Perrin (1999). "Transmission of antiretroviral-drug-resistant HIV-1 variants." Lancet **354**(9180): 729-733.
- Yu, H., Q. R. Zhu, S. Q. Gu and L. E. Fei (2006). "Relationship between IFN-gamma gene polymorphism and susceptibility to intrauterine HBV infection." World J Gastroenterol **12**(18): 2928-2931.
- Zaunders, J. J., P. H. Cunningham, A. D. Kelleher, G. R. Kaufmann, A. B. Jaramillo, R. Wright, D. Smith, P. Grey, J. Vizzard, A. Carr and D. A. Cooper (1999). "Potent antiretroviral therapy of primary human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) infection: partial normalization of T lymphocyte subsets and limited reduction of HIV-1 DNA despite clearance of plasma viremia." J Infect Dis **180**(2): 320-329.
- Zhu, J. and W. E. Paul (2010). "Peripheral CD4+ T-cell differentiation regulated by networks of cytokines and transcription factors." Immunol Rev **238**(1): 247-262.