

Tendências

em

HIV•AIDS

Volume 1 - Número 3 - 2006



Disciplina de Infectologia
Universidade Federal de São Paulo - Escola Paulista de Medicina

Tendências em HIV•AIDS

Volume 1 - Número 3 - 2006

Editor chefe

Ricardo Sobhie Diaz – *Universidade Federal de São Paulo*

Corpo editorial

Adauto Castelo Filho – *Universidade Federal de São Paulo*

André Lomar – *Hospital Israelita Albert Einstein*

Artur Kalichman – *Centro de Referência e Treinamento de DST/AIDS de São Paulo*

Artur Timerman – *Hospital Heliópolis*

Breno Riegel – *Hospital Nossa Senhora da Conceição – Rio Grande do Sul*

Celso Ramos – *Universidade Federal do Rio de Janeiro*

David Salomão Lewi – *Universidade Federal de São Paulo*

Eduardo Sprinz – *Universidade Federal do Rio Grande do Sul*

Érico Antonio Gomes de Arruda – *Hospital São José de Doenças Infecciosas do Ceará*

Esper George Kallas – *Universidade Federal de São Paulo*

Estevão Portella – *Universidade Federal do Rio de Janeiro*

Guido Levi – *Hospital do Servidor Público Estadual de São Paulo*

João da Silva Mendonça – *Hospital do Servidor Público Estadual de São Paulo*

José Luiz de Andrade Neto – *Universidade Federal do Paraná*

Márcia Rachid

Marcos Vitória – *Organização Mundial de Saúde*

Marinella Della Negra – *Hospital Emílio Ribas*

Paulo Feijó Barroso – *Universidade Federal do Rio de Janeiro*

Reinaldo Salomão – *Universidade Federal de São Paulo*

Ricardo Pio Marins – *Organização Panamericana de Saúde*

Rosana Bianco

Unaí Tupinambás – *Universidade Federal de Minas Gerais*

Valdez Madruga – *Centro de Referência e Treinamento DST/AIDS de São Paulo*

ÍNDICE

CO-INFECÇÃO HIV-HPV – UMA ASSOCIAÇÃO PERIGOSA	5
<i>HIV-HPV CO-INFECTION – A DANGEROUS ASSOCIATION</i>	
<i>Artur Timerman</i>	
JANELA IMUNOLÓGICA E SUAS IMPLICAÇÕES NO DIAGNÓSTICO PRECOCE DA INFECÇÃO PELO HIV	8
<i>IMMUNOLOGIC INTERVAL AND ITS IMPLICATIONS ON EARLY DIAGNOSIS OF HIV INFECTION</i>	
<i>Ester C Sabino</i>	
DNA PROVIRAL EM INDIVÍDUOS INFECTADOS PELO HIV-1	11
<i>PROVIRAL DNA IN INDIVIDUALS INFECTED BY HIV-1</i>	
<i>Shirley Komninakis, Wagner Alkmim, Carla Teixeira</i>	
INTERAÇÃO VIRUS-HOSPEDEIRO E A EVOLUÇÃO DO HIV	15
<i>VÍRUS-HOST INTERPLAY AND HIV EVOLUTION</i>	
<i>Élcio Leal, Luiz Mario Janini</i>	
DESTAQUES DO XV INTERNATIONAL HIV DRUG RESISTANCE WORKSHOP, SITGES, ESPANHA	23
RESUMO DE TESES	26



Atha Comunicação & Editora

Planejamento Editorial, Diagramação e Produção Gráfica

Rua Machado Bittencourt, 190 - Cep: 04044-000 - São Paulo - SP - Tel: 55-11-5087-9502 - Fax: 55-11-5579-5308

E-mail: 1atha@uol.com.br

EDITORIAL

Caro leitor

A principal contribuição da pesquisa em ciência básica relacionada ao HIV é sem dúvida a sua aplicação potencial no tratamento e controle da infecção. Em especial estão as descobertas dos detalhes do ciclo replicativo do HIV e a intervenção nas etapas do ciclo de vida do vírus com medicamentos especialmente desenhados para este fim. Nesta edição, Leal e Janini descrevem em riqueza de detalhes as complexas interações entre o HIV e o hospedeiro humano. Nesta interação se percebe o potencial ainda existente para intervenções terapêuticas, entende-se como se dá a resposta imune à infecção pelo HIV e aprendemos sobre o papel da imunidade inata em defesa da célula. Muito provavelmente as próximas etapas no controle terapêutico da infecção e pesquisa relacionada à erradicação do vírus terão como alvo o auxílio ou desbloqueio da imunidade inata do hospedeiro em favor do combate ao vírus.

É interessante notar que quando se especula sobre obstáculos relacionados à erradicação da infecção pelo HIV, não pode se deixar de mencionar a presença do vírus em reservatórios e santuários. Dentre estes reservatórios encontramos o vírus integrado no genoma celular, o que é conhecido como provirus. A este propósito, Kominakis e col. revisam nesta edição aspectos sobre a presença do DNA proviral do HIV-1 em sítios anatômicos e celulares, denominados reservatórios. É aqui destacada a importância em pesquisa (e quem sabe no futuro também no acompanhamento dos pacientes) dos testes que quantificam a presença do vírus em células infectadas: a carga viral proviral. O tratamento realmente efetivo não só diminuiria os níveis de vírus presentes no plasma, mas proporcionaria também um descaimento da quantidade de vírus infectando as células.

Ainda em termos de diagnóstico utilizando instrumentos moleculares, Sabino descreve o estado da arte sobre o diagnóstico precoce da infecção pelo HIV, que é de vital importância na diminuição do risco transfusional da infecção pelo vírus. Muito se avançou em termos de entendimento sobre a janela imunológica e o correspondente risco residual relacionado à transfusão de sangue, sendo que hoje em dia a implementação dos testes que utilizam ácidos nucleicos para diagnóstico do HIV e vírus da hepatite C tornam-se cada vez mais necessários em bancos de sangue.

Entre os artigos também vamos encontrar aspectos recentes sobre a perigosa associação entre o papiloma vírus humano (HPV) e o HIV. Neste artigo, Timerman discorre sobre aspectos únicos da rápida progressão à malignidade do HPV nestas pacientes e o impacto da prevenção na redução da transmissão deste vírus. Espero que você aproveite a leitura e mande as sugestões críticas para rsdiaz@usp.br ou para rsdiaz@centrodegenomas.com.br

Ricardo Sobhie Diaz

CO-INFECÇÃO HIV-HPV – UMA ASSOCIAÇÃO PERIGOSA

HIV-HPV CO-INFECTION – A DANGEROUS ASSOCIATION

Artur Timerman

Mestre em Infectologia pela Universidade de São Paulo – Médico do Serviço de Doenças Infecciosas e Parasitárias do Hospital Heliópolis – São Paulo

RESUMO

Dentre os fatores de risco reconhecidos para infecção pelo vírus humano do papiloma (HPV) e evolução subsequente para neoplasias do trato genital inferior encontram-se alterações na imunidade mediada por células. Sabe-se que mulheres infectadas pelo HIV e que apresentem imunodeficiência severa apresentam risco cinco vezes maior comparativamente à mulheres sem infecção pelo HIV de portarem neoplasias do trato genital inferior; da mesma forma, sabe-se também que essas pacientes HIV+ apresentam risco correspondente de neoplasias anais e vulvares associadas ao HPV. Tal fato não é evidenciado no que tange à neoplasias cervicais uterinas. Falha no tratamento e recorrência da neoplasia ocorrem com frequência muito mais elevadas em mulheres HIV+ comparativamente ao observado naquelas HIV negativas. Apresentamos no presente artigo os avanços mais recentes referentes à correlação entre HIV e HPV durante a co-infecção.

Descritores: HIV, HPV, co-infecção, neoplasias do trato genital inferior feminino, neoplasia anal.

ABSTRACT

Among the known risk factors for human papilloma virus (HPV) infection and subsequent development of lower genital tract neoplasias are impaired cell-mediated immunity. HIV-positive women with severe immunosuppression are 5 times more likely than HIV-negative women to have lower genital tract neoplasias. A corresponding increase in the risk of invasive vulvar and anal cancers has also been observed among HIV-positive women; in the other hand, this relationship was not observed for cervical cancer. Treatment failures and recurrence of neoplasia occur much more frequently among HIV-positive than among HIV-negative women. In this review we discuss recent advances in the understanding of the relation between HIV and HPV coinfection and the development of lower genital tract neoplasias in women.

Keywords: HIV, HPV, coinfection, lower genital tract neoplasias in women, anal neoplasias.

INTRODUÇÃO

É fato reconhecido a associação entre infecção por determinados tipos de vírus humano do papiloma (HPV) e desenvolvimento de neoplasia intra-epitelial cervical (NIC) e câncer do cérvix uterino; sabe-se também da possibilidade de associação entre essa infecção e outras neoplasias do trato genital inferior em mulheres¹. Dentre os fatores de risco reconhecidos para infecção pelo HPV e ulterior desenvolvimento de neoplasias do trato genital inferior em mulheres encontra-se alterações na imunidade mediada por células².

Em uma série de estudo que acompanharam mulheres infectadas pelo HIV observou-se uma forte e consistente associação entre co-infecção HIV-PV e ocorrência de neoplasia intra-epitelial cervical (NIC)^(3,4,5). Por conseguinte, torna-se evidente a importância dos clínicos que acompanham mulheres infectadas pelo HIV estarem atentos a essa associação, encaminhando suas pacientes à pesquisa de neoplasias de seu trato genital inferior. Nessas pacientes deveriam ser pesquisadas as seguintes patologias, que são aquelas mais comumente observadas em pacientes com co-infecção HIV-HPV:

- Neoplasia intra-epitelial cervical
- Verrugas genitais

- Neoplasia intra-epitelial vulvar
- Neoplasia intra-epitelial do ânus
- Câncer cervical uterino
- Câncer do ânus

Neoplasia intra-epitelial cervical e infecção HIV

Em mulheres infectadas pelo HIV evidenciam-se incidências significativamente mais elevadas de NIC quando se as comparam com mulheres HIV-negativas^{4,5}. Wright e cols.⁴ em estudo com grande número de pacientes desenvolvido em Nova Iorque, Estados Unidos, observaram que 7% dentre quase 400 mulheres HIV+ apresentaram NICs de alto grau enquanto nas 307 mulheres HIV negativas esse índice foi de somente 1% ($p < 0,001$)

Conti e cols.⁵, por sua vez, observaram dados semelhantes em uma coorte de mulheres italianas: NIC em 42% de 273 mulheres HIV+ e em 8% de 161 soronegativas ($p < 0,001$); ressaltou-se que em metade dos casos entre as mulheres soropositivas as NICs eram de alto grau.

Como fatores de risco reconhecidamente associados ao desenvolvimento de neoplasia intra-epitelial cervical encontram-se:

- Infecção persistente pelo HPV
- Imunosupressão
- Número elevado de parceiros sexuais
- Início precoce da atividade sexual
- Alta paridade
- História prévia de alterações em citologia vaginal (Papanicolaou)
- Menor condição sócio-econômica
- Tabagismo

Aliado a esses fatores, evidenciou-se também que a infecção pelo HIV representa expressivo fator de risco para o desenvolvimento de câncer cervical uterino^{1,2,3,4}, independentemente dos fatores acima mencionados. Mulheres HIV+ que se apresentam com imunossupressão severa (contagem de linfócitos CD4 inferior a 200 células/mm³) caracterizam-se como aquelas nas quais é mais elevado o risco de NIC^{3,4,5}. Na medida em que tal fato é observado, seria de se esperar que nas mesmas também se evidenciasse incidência mais elevada de câncer cervical uterino invasivo, quando se as comparassem com mulheres HIV-negativas.

Por esse motivo, não surpreenderam os dados demonstrados em 1993 pelos Centros de Controle de Doenças (CDC) dos Estados Unidos, onde dentre 16.794 casos de mulheres com AIDS evidenciou-se que o câncer cervical uterino era o câncer mais prevalente nesse grupo, tendo sido identificado em 217 mulheres (1,3%). Como consequência, o CDC incluiu o câncer cervical uterino invasivo como doença definidora de AIDS⁶.

Surpreendente foram os dados obtidos em uma série de outros estudos^{4,7,11,12}, que não corroboraram aqueles obtidos pelo CDC, falhando em demonstrar elevação na incidência de câncer cervical uterino invasivo em mulheres HIV+. O último desses trabalhos¹², realizado na África, não detectou elevação na prevalência de câncer cervical uterino invasivo em mulheres africanas soropositivas, onde tanto a infecção pelo HIV como o câncer cervical são endêmicos. Acredita-se que o que justifica essa discrepância, pelo menos em parte, é a menor expectativa de vida dessas mulheres na África, onde elas raramente são submetidas à terapêutica antiretroviral; dessa forma, elas não conseguem ter os 10 anos de vida necessários à evolução de uma NIC para câncer cervical invasivo.

Não se encontra ainda esclarecido o impacto da HAART (terapêutica antiretroviral com elevado grau de atividade) no que tange ao desenvolvimento de NIC em pacientes HIV+. Em um estudo (Women's Interagency HIV Study)¹³ observou-se em mulheres submetidas à HAART taxas mais elevadas de regressão do que de progressão das NICs, mesmo após ajuste dos dados de acordo com a infecção pelo HPV, contagem de CD4 e alteração no Papanicolaou.

Outros autores^{10,14} não observaram tais fatos, não evidenciando qualquer benefício da HAART no que se refere ao advento de NIC, detectada citologicamente.

A medida em que se sabe que a HAART se correlaciona à restauração do sistema imunológico, conforme se caracteriza pela elevação na contagem de linfócitos CD4 e normalização dos níveis séricos de interleucinas 8 e 12, é plausível se supor que quando se acumularem mais dados prospectivos de mulheres infectadas pelo HIV submetidas à HAART e

acompanhadas com exames citológicos periódicos, poderá ser melhor aferido e consubstanciado o impacto da HAART sobre o risco cumulativo de NIC.

Neoplasias vulvar e anal e infecção pelo HIV

É muito mais comum em mulheres HIV+ do que em HIV negativas a ocorrência de condiloma acuminado do trato genital inferior, assim como de neoplasias intra-epiteliais da vulva e do ânus^{3,8}.

Há referências que colocam entre 9% a 37% o índice de prevalência de neoplasia intra-epitelial da vulva em mulheres HIV+ que realizam colposcopia por nelas terem se evidenciado alterações nos exames citológicos¹⁶.

Uma meta-análise de estudos onde mais de 50.000 mulheres HIV+ foram acompanhadas nos Estados Unidos¹⁷ evidenciou nessa população riscos significativamente mais elevados de câncer de vulva ou vagina, tanto em sua forma *in situ* (4,6 vezes maior) como invasiva (risco 5,8 vezes mais elevado).

Em termos gerais, pode-se afirmar que a relativamente elevada incidência de neoplasias da vulva e do ânus acompanha o observado para NIC em mulheres infectadas pelo HIV, o que poderia nos fazer esperar uma maior incidência de câncer invasivo da vulva e do ânus nesse grupo de pacientes. O impacto da HAART sobre essas patologias precisa ainda ser determinado.

A conexão HIV-HPV

Mais de 40 tipos diferentes de HPV podem infectar o trato genital inferior; alguns sorotipos de HPV são encontrados em praticamente todos os casos de NIC e câncer cervical uterino (inclusive são os mesmos sorotipos encontrados na vacina contra HPV, também denominada de vacina contra o câncer de colo uterino, a saber sorotipos 6, 11, 16 e 18); destarte, não surpreende que a associação entre câncer de colo uterino e infecção HIV espelhe a conexão existente entre infecção pelo HPV e infecção pelo HIV

Conforme observado no Canadian Women's HIV Study¹⁹, a prevalência de infecção pelo HPV entre mulheres adultas sexualmente ativas HIV+, assintomáticas, com idade situada entre 15 a 44 anos e que não se apresentavam com NIC ao início do seguimento, foi de 73,6%, número esse que se reduziu a somente 52,5% das mulheres HIV negativas com as mesmas características demográficas. Quando se controlou os dados de acordo com o número de parceiros sexuais ao longo da vida e história de resultados anormais de exames citológicos, evidenciou-se um risco aumentado de 3,75 para as pacientes HIV+. Além disso, foi observado que as mulheres HIV+ apresentavam maior probabilidade quando se as comparou com as HIV negativas no que tange ao risco de estarem infectadas por tipos oncogênicos de HPV, incluindo-se aí os tipos 16 e 18, da mesma forma que é maior também a sua chance de estarem infectadas por múltiplos tipos de HPV.

Heard e colabs.²⁰ evidenciaram também que a persistência da infecção pelo HPV se correlaciona à contagem de linfócitos CD4, de tal forma que se observa persistência do HPV com maior frequência em mulheres HIV+ com contagem abaixo de 500 células/mm³ (44%) quando comparadas àquelas com contagem acima dessa marca (24%). Esses mesmos autores demonstraram em 307 mulheres HIV+ que a detecção de elevadas cargas viróticas de HPV associou-se a um risco 10 vezes maior de NIC em mulheres com contagem de CD4 inferior a 200, quando comparadas a mulheres HIV+ com contagens de CD4 acima de 200.

Prevenção da infecção pelo HPV

Embora tema de controvérsias, trabalho mais recente²¹ demonstra a eficácia do preservativo masculino na prevenção da transmissão genital do HPV do homem para a mulher. Nesse estudo evidenciou-se que em mulheres cujos parcei-

ros utilizaram preservativos em todas as etapas da relação pênis-vagina durante suas relações sexuais no últimos oito meses houve redução de 70% em sua probabilidade de aquisição de uma nova infecção, quando comparadas com mulheres cujos parceiros utilizaram preservativos em menos de 5% do tempo.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Franco EL, Duarte-Franco E, Ferenczy A. Cervical câncer: epidemiology, prevention and the role of human papilloma virus infection. *CMAJ* 2001; 164(7): 1017-25.
2. Sun XW, Kuhn L, Ellerbrock TV, Chiasson MA, Bush TJ, Wright TC Jr. Human papillomavirus infection in women infected with the immunodeficiency virus. *N Engl J Med* 1997; 337:1343-9.
3. Conley LJ, Ellerbrock TV, Busch TJ, Chiasson MA, Sawo D, Wright TC: HIV-1 infection and risk of vulvovaginal and perianal condylomata acuminata and intraepithelial neoplasia: a prospective cohort study. *Lancet* 2002; 359:108-113.
4. Wright TC Jr., Ellerbrock TV, Chiasson MA, Van Devanter N, Sun XW. Cervical intraepithelial neoplasia in women infected with human immunodeficiency virus: prevalence, risk factors, and validity of Papanicolaou smears. New York Cervical Disease Study. *Obstet Gynecol* 1994;84:591-7.
5. Conti M, Agarossi A, Parazzini F, Muggiasca ML, Boschini A, Negri E, et al. HPV, HIV infection, and risk of cervical intraepithelial neoplasia in former intravenous drug abusers. *Obstet Gynecol* 1993;49:344-8.
6. AIDS-indicator conditions diagnosed in patients reported in 1993, by age group, United States [Table 12]. *HIV/AIDS Surveill Rep* 1994; 5(4):16.
7. Ellerbrock T, Chiasson MA, Bush BA, Sun X, Sawo D, Budney K, et al. Incidence of cervical squamous intraepithelial lesions in HIV-infected women. *JAMA*:2000;283:1031-7.
8. Palevsky JM. Anal squamous intraepithelial lesions in human immunodeficiency virus-positive men and women. *Semin Oncol* 2000;27:471-9.
9. Williams AB, Arragh TM, Vranizan K, Ochia C, Moss AR, Palefsky JM. Anal and cervical human papillomavirus infection and risk of anal and cervical epithelial abnormalities in human immunodeficiency virus-infected women. *Obstet Gynecol* 1994;83:205-11.
10. Hankins C, Money D, Rachlis A, Coutlée F, Wobeser W, Pourreaux K, et al. HAART and evolution of abnormal cervical cytology in women with HIV. XIVth International AIDS Conference; 2002, July 7-12; Barcelona.
11. Chin KM, Sidhu JS, Janssen RS, Weber JT. Invasive cervical cancer in human immunodeficiency virus-infected and uninfected hospital patients. *Obstet Gynecol* 1998;92:83-7.
12. La Ruche G, Ramon R, Mensah-Ado I, Bergeron C, Diomandé M, Sylla-Koko F, et al. Squamous intraepithelial lesions of the cervix, invasive cervical carcinoma, and immunosuppression induced by immunodeficiency virus in Africa. *Cancer* 1998;12:1459-64.
13. Minkoff H, Ahdieh L, Massad LS, Anastos K, Watts DH, Melnick S, et al. The effect of highly active antiretroviral therapy on cervical changes associated with oncogenic HPV among HIV-infected women. *AIDS* 2001;15:2157-64.
14. Heard I, Schmitz V, Costagliola D, Orth G, Kazatchkine MD. Early regression of cervical lesions in HIV-seropositive women receiving highly active antiretroviral therapy. *AIDS* 1998;12:1459-64.
15. Wagner TM, Pezzotti P, Valdarchi C, Rezza G. Different patterns of AIDS-defining diseases in persons responding to highly active antiretroviral therapy. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2001;26:394-5.
16. Korn AP, Abercrombie PD, Foster A. Vulvar intraepithelial neoplasia in women infected with immunodeficiency virus in Africa. *Cancer* 1998;82:2041-8.
17. Frisch M, Biggar RJ, Goedert JJ. Human papillomavirus-associated cancers in patients with human immunodeficiency virus infection and acquired immunodeficiency syndrome. *J Natl Cancer Inst* 2000;92:1500-10.
18. Hillemans P, Ellerbrock TV, McPhillips S, Dole P, Alperstein S, Johnson D, et al. Prevalence of anal human papillomavirus infection and anal cytological abnormalities in HIV-seropositive women. *AIDS* 1996;10:1641-7.
19. Hankins C, Coutlée F, Girard M, Pourreaux K, Lapointe N, and the Canadian Women's HIV Study Group. Immunosuppression and contraceptive practices associated with persistence of human papillomavirus in HIV-positive and HIV-negative women. XIIIth International AIDS Conference; 2000: July 9-14; Durban, South Africa.
20. Heard I, Tassie JM, Schmitz V, Mandelbrot L, Kazatchkine MD, Orth G. Increased risk of cervical disease among human immunodeficiency virus-infected women with severe immunosuppression and high human papillomavirus load. *Obstet Gynecol* 2000;96:403-9.
21. Winer RL, Hughes JP, Feng Q, O'Reilly S, Kiviat NB, Holmes KK, Koutsky LA. Condom use and the risk of genital human papillomavirus infection in young women. *N Engl J Med* 2006;354:2645-54.

JANELA IMUNOLÓGICA E SUAS IMPLICAÇÕES NO DIAGNÓSTICO PRECOCE DA INFECÇÃO PELO HIV

IMMUNOLOGIC INTERVAL AND ITS IMPLICATIONS ON EARLY DIAGNOSIS OF HIV INFECTION

Ester C Sabino

Chefe do Laboratório de Biologia Molecular da Fundação Pró-Sangue. Assessora Científica Diagnósticos da América.

RESUMO

O diagnóstico laboratorial da infecção por HIV em indivíduos recentemente expostos requer a compreensão da evolução dos marcadores laboratoriais assim como da especificidade dos testes laboratoriais. Apesar dos testes de biologia molecular apresentarem reatividade cerca de 12 dias antes dos testes de ELISA, sua utilização nesta fase não está indicada devido ao baixo valor preditivo positivo.

Os testes sorológicos devem ser escolhidos para o diagnóstico de HIV mesmo em indivíduos recém expostos.

Descritores: diagnóstico, janela imunológica, exposição recente, biologia molecular, ELISA

ABSTRACT

The laboratorial diagnostic of HIV infection in recent exposed individual requires understanding the window phase and the performance of serological and molecular biology tests. Although the detection of RNA precedes antibody detection in 12 days, the routine use of molecular biology test is not yet recommended because of the rate of false positive results leading to a low positive predictive value of these tests

Serological tests are still recommended for follow up of recent exposed individuals.

Keywords: diagnostic, HIV, window phase, recent exposure, NAT, ELISA

A infecção pelo HIV é diagnosticada a partir de ensaios sorológicos que determinam a presença de anticorpos específicos¹. O primeiro ensaio imunoenzimático surgiu no mercado em 1984 e, desde então, as empresas diagnósticas trabalharam muito para melhorar a sensibilidade e especificidade do teste^{2,3}.

No ELISA de primeira geração, o antígeno utilizado era proveniente de lisado viral obtido de cultura do HIV em células humanas, resultando em elevada inespecificidade. A troca por antígenos recombinantes aumentou a especificidade e sensibilidade dos testes de segunda geração. Mudanças no formato do teste assim como a inclusão de antígenos do HIV-2 e do HIV-1 subtipo O aumentaram ainda mais a sensibilidade dos testes de terceira geração. Os testes de quarta geração permitem a detecção simultânea de anticorpo e antígeno p24 diminuindo em cerca de 3 dias a janela imunológica quando comparados aos testes de terceira geração^{4,5}.

Apesar destes avanços existe um período denominado janela imunológica no qual o indivíduo recém infectado ainda não produziu anticorpos em quantidade suficiente, e o teste sorológico é negativo. Este período tem conseqüências, principalmente, para os bancos de sangue, pois mesmo utilizando testes de alta qualidade pode ocorrer transmissão de HIV.

Os primeiros casos de transmissão de HIV em amostras so-

ronegativas foram publicados em 1988^{6,7}, estes relatos foram seguidos por alguns estudos que sugeriam que a janela imunológica do HIV poderia ser longa e durar até 1 ano^{8,9}. Estas conclusões estavam baseadas na técnica de PCR que tinha acabado de ser desenvolvida, e naquele momento não se sabia que era suscetível a resultados falso positivos devido a contaminação. Vários estudos posteriores não conseguiram reproduzir estes resultados^{10,11}.

Atualmente acredita-se que logo após a exposição existe um período denominado fase de eclipse que se caracteriza por viremia baixa e intermitente e dura em torno de 12 dias. Os testes de Biologia Molecular (NAT) costumam apresentar resultados negativos, mesmo assim bolsas de sangue colhidas neste período podem transmitir HIV. Alguns indivíduos apresentam uma fase de eclipse mais prolongado¹², o que levaria a 5% dos indivíduos expostos a ter um período longo de soroconversão. Acredita-se que nestes casos o vírus estaria com uma baixa replicação nos órgãos linfóides, sendo a viremia intermitente.

Segue-se, então, o período de crescimento exponencial do HIV, onde a quantidade de vírus presente no plasma dobra a cada 17 horas. Este crescimento exponencial tem início em torno de 12 dias antes de surgirem os anticorpos. A partir desta fase os marcadores surgem sucessivamente em um período

do curto de tempo. Os próximos marcadores a serem detectados são o antígeno “p 24” e o DNA, cuja presença pode ser determinada 6 dias antes dos anticorpos¹³.

O teste de EIA é mais sensível nesta fase de infecção do que o W.B.; com isso, o indivíduo apresentará EIA+/W.B. negativo por 3 dias como perfil sorológico, seguindo-se um período de 5 dias em que o quadro é caracterizado por EIA+/W.B. indeterminado (Tabela 1). A banda “p31” é a última a ser detectada, e aparece na fase V da janela segundo feibig e cols¹³.

Recentemente, foi desenvolvida uma metodologia denominada “detuned assay” ou STAHRs que utiliza os testes de EIA de primeira geração e uma diluição de 1/20.000 do soro¹⁴. Os indivíduos socoronvertem neste teste em média 150 - 170 dias após o EIA de terceira geração. Esta metodologia passou a ser uma importante ferramenta para estudos epidemiológicos.

Apesar dos testes de biologia molecular serem detectados antes que os testes sorológicos, o uso destes testes rotineiramente não são recomendados por dois motivos. Em primeiro lugar, o resultado negativo não exclui infecção, pois na fase de eclipse os testes de biologia molecular costumam ser negativos. Dados sobre a duração da fase de eclipse são difíceis de serem obtidos. Aparentemente esta fase pode variar bastante entre as pessoas, principalmente nos indivíduos que recebem profilaxia com anti-retroviral.

Os testes de biologia molecular têm especificidade em torno de 98-99%, ou seja, resultados falso positivos são mais comuns do que nos testes de ELISA cuja especificidade está ao redor de 99,5 a 99,9%. Estudo realizado em indivíduos expostos ao HIV, sugeriu que o valor preditivo de um teste NAT+ em uma amostra ELISA negativa era baixo e este teste não estava indicado no seguimento destes pacientes¹⁵. Assim sendo, a recomendação atual é que realize o teste de ELISA na 6 semana, 3 e 6 mês após a exposição.

Se o médico por algum motivo optar por realizar um teste de biologia molecular, os testes que detectam RNA devem ser preferidos em relação aos que detectam DNA. A detecção do

DNA ocorre cerca de 5 dias após a detecção do RNA. O paciente deve ser informado da possibilidade de resultado falso positivo no teste de biologia molecular

Um outro problema comum para os médicos é o resultado indeterminado no teste de Western blot (WB) que acontece quando se detecta bandas que não preenchem, por si só, o critério de positividade. Estudos mostram que os resultados indeterminados podem variar entre 10-49% das amostras ELISA positivas^{16, 17}, dependendo da escolha do kit utilizado na triagem. Na maioria dos casos o resultado indeterminado representa indivíduos não infectados que apresentam anticorpos inespecíficos que reconhecem algumas das proteínas virais ou proteínas celulares presentes na linhagem de célula utilizado na produção do teste de WB.

São poucas as situações em que o indivíduo pode estar infectado e ter resultado indeterminado no WB: na fase de soroconversão (estágio IV da tabela 1) ou em estágios finais da doença que se caracterizam por uma baixa resposta do sistema imunológico e conseqüentemente, produção mínima de anticorpos. De qualquer forma é fácil discriminar cada situação. No caso da janela imunológica, uma nova amostra coletada com 15 dias de intervalo deve apresentar soroconversão completa. Caso isto não ocorra, é importante que o médico seja enfático e informe o paciente que ele não está infectado pelo o HIV. O resultado indeterminado gera muita dúvida e angústia no paciente e repetições desnecessárias dos testes. Alguns médicos costumam solicitar testes de biologia molecular para acalmar os seus pacientes. Dependendo do caso isto pode ser útil, mas sempre lembrar que resultados falso positivo no NAT podem ocorrer. Assim o diagnóstico de infecção por HIV só deve ser feito depois da soroconversão completa. A hipótese de resultado falso positivo não deve ser esquecida nos casos de amostra com resultado de WB indeterminado e NAT positivo.

Variantes virais (HIV-1 grupos O ou N ou HIV-2) podem levar a resultados indeterminados no WB. No entanto estas cepas são raras no Brasil e em geral os indivíduos infectados têm historia epidemiológica compatível.

Tabela 1. Estágios da janela imunológica do HIV adaptado de Feibig et al.⁽¹³⁾

Estágio	Marcador					Duração
	RNA	P24	EIA 3gr	STAHRs	WB	Dias (IC 95%)
I	+	-	-	-	-	5,0 (3,1-8,1)
II	+	+	-	-	-	5,3 (3,7- 7,7)
III	+	+	+	-	-	3,2 (2,1- 4,8)
IV	+	+/-	+	-	I	5,6 (3,8- 8,1)
V	+	+/-	+	+/-	+	69,5(39,7- 121,7)
VI	+	+/-	+	+	+	Indefinido

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Update: serologic testing for HIV-1 antibody--United States, 1988 and 1989. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*, 1990. 39(22): p. 380-3.
2. George, J.R. and G. Schochetman, Detection of HIV infection using serological techniques, in *AIDS testing: a comprehensive guide to technical, medical, social, legal and management issues.*, G. Schochetman and J.R. George, Editors. 1994, Springer Verlag: New York. p. 62-102.
3. Proffitt, M.R. and B. Yen-Lieberman, Laboratory diagnosis of human immunodeficiency virus infection. *Infect Dis Clin North Am*, 1993. 7(2): p. 203-19.
4. Saville, R.D., et al., Fourth-generation enzyme-linked immunosorbent assay for the simultaneous detection of human immunodeficiency virus antigen and antibody. *J Clin Microbiol*, 2001. 39(7): p. 2518-24.
5. Weber, B., et al., Reduction of diagnostic window by new fourth-generation human immunodeficiency virus screening assays. *J Clin Microbiol*, 1998. 36(8): p. 2235-9.
6. Jullien, A.M., et al., Transmission of HIV by blood from seronegative donors. *Lancet*, 1988. 2(8622): p. 1248-9.
7. Ward, J.W., et al., Transmission of human immunodeficiency virus (HIV) by blood transfusions screened as negative for HIV antibody. *N Engl J Med*, 1988. 318(8): p. 473-8.
8. Imagawa, D.T., et al., Human immunodeficiency virus type 1 infection in homosexual men who remain seronegative for prolonged periods. *N Engl J Med*, 1989. 320(22): p. 1458-62.
9. Wolinsky, S.M., et al., Human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) infection a median of 18 months before a diagnostic western blot. Evidence from a cohort of homosexual men. *Ann Intern Med*, 1989. 111(12): p. 961-72.
10. Sheppard, H.W., et al., A multicenter proficiency trial of gene amplification (PCR) for the detection of HIV-1. *J Acquir Immune Defic Syndr*, 1991. 4(3): p. 277-83.
11. Sheppard, H.W., et al., HIV-1 PCR and isolation in seroconverting and seronegative homosexual men: absence of long-term immunosilent infection. *J Acquir Immune Defic Syndr*, 1993. 6(12): p. 1339-46.
12. Busch, M.P. and G.A. Satten, Time course of viremia and antibody seroconversion following human immunodeficiency virus exposure. *Am J Med*, 1997. 102(5B): p. 117-24; discussion 125-6.
13. Fiebig, E.W., et al., Dynamics of HIV viremia and antibody seroconversion in plasma donors: implications for diagnosis and staging of primary HIV infection. *Aids*, 2003. 17(13): p. 1871-9.
14. Janssen, R.S., et al., New testing strategy to detect early HIV-1 infection for use in incidence estimates and for clinical and prevention purposes. *Jama*, 1998. 280(1): p. 42-8.
15. Roland, M.E., et al., HIV RNA testing in the context of nonoccupational postexposure prophylaxis. *J Infect Dis*, 2004. 190(3): p. 598-604.
16. O'Gorman, M.R., et al., Interpretive criteria of the Western blot assay for serodiagnosis of human immunodeficiency virus type 1 infection. *Arch Pathol Lab Med*, 1991. 115(1): p. 26-30.
17. Glassman, A.B., T. Sherrill, and J. Paolini, Human immunodeficiency virus western blot tests: comparisons and considerations. *Ann Clin Lab Sci*, 1990. 20(5): p. 343-6.

DNA PROVIRAL EM INDIVÍDUOS INFECTADOS PELO HIV-1

PROVIRAL DNA IN INDIVIDUALS INFECTED BY HIV-1

Shirley Komninakis¹, Wagner Alkmim¹, Carla Teixeira¹

1 - Laboratório de Retrovirologia, Disciplina de Infectologia, Departamento de Medicina – Universidade Federal de São Paulo / Escola Paulista de Medicina.

RESUMO

Com o aumento da eficácia dos regimes anti-retrovirais e a diminuição da carga viral plasmática para níveis indetectáveis, nos indivíduos infectados pelo HIV-1, houve a expectativa da erradicação da infecção. Contudo, constatou-se a presença do DNA proviral do HIV-1 presente em sítios anatômicos e celulares, denominados reservatórios, apresentando replicação de vírus competentes. Desta forma, o reservatório viral representa o grande obstáculo para a erradicação do HIV-1 no indivíduo infectado. Esta revisão tem por objetivo trazer informações sobre persistência viral que poderiam complementar e ajudar no manuseio dos indivíduos infectados pelo HIV-1.

Descritores: HIV-1, DNA proviral, tratamento ARV, Reservatórios virais

ABSTRACT

The increasing efficacy of antiretroviral therapy and the decrease of RNA viral load to undetectable levels in a portion of HIV infected individuals treated with antiretrovirals, raised an expectative of HIV eradication. However, the observed presence of the proviral DNA in the anatomical and cellular reservoirs confirmed latency and residual replication as an obstacle to HIV this objective. In this review we emphasize the characteristics of viral persistence related to the presence of proviral DNA among infected individuals.

Keywords: HIV-1, DNA proviral, HAART, Viral reservoirs

INTRODUÇÃO

Desde o reconhecimento da AIDS até os dias atuais grandes esforços têm sido realizados para o melhor entendimento do curso da doença. O desenvolvimento de novas estratégias de tratamento e de testes laboratoriais avançados é de extrema importância para a busca de uma melhor qualidade de vida do indivíduo infectado pelo HIV-1.

Após a introdução da terapia anti-retroviral (ARV) tivemos gradativamente com o tempo, o aumento da complexidade dos regimes de tratamento por meio de drogas que inibem a transcrição reversa e/ou a atividade da protease viral, assim houve a necessidade do desenvolvimento de novas técnicas para o monitoramento do tratamento¹.

Até os dias atuais os parâmetros mais importantes para o acompanhamento dos indivíduos infectados pelo HIV-1 continuam sendo a contagem de linfócitos T CD4+ e a medida de carga viral no sangue periférico². O monitoramento da carga viral fornece informações sobre a progressão da doença, a restauração e a preservação da função imunológica obtidos com o tratamento ARV^{3,4}.

Com a terapia ARV muitos dos protocolos de tratamento diminuíram a carga viral do HIV-1 a níveis indetectáveis e, parece haver uma relação direta entre esta diminuição e um menor risco de progressão para a doença, juntamente com a diminuição da morbidade e mortalidade^{5,6}. Contudo o otimismo inicial de que a infecção pudesse ser depletada caiu diante da evidência de que, apesar do tratamento, genomas virais de replicação competente permanecem em células infectadas

latentes formando um arquivo viral, especialmente em células T CD4+ de memória^{2,7,8}.

Assim, mesmo com carga indetectável, verificou-se a presença de DNA proviral do HIV-1 em muitos compartimentos dos indivíduos infectados, tais como, nos tecidos linfóides, células mononucleares do sangue periférico (PBMCs), sêmen, e que nestes compartimentos ocorre replicação competente do vírus e transcrição^{9,10}. Estes potenciais sítios de replicação, celulares ou anatômicos são conhecidos como reservatórios, os quais são formados nos estágios iniciais da infecção e são representativos da persistência viral ao longo do tempo¹¹.

Portanto, tornou-se necessário estudos para um melhor conhecimento da importância do DNA proviral do HIV-1 presente na forma integrada nas PBMCs, já que atualmente sabe-se que a persistência deste reservatório viral em indivíduos sob tratamento ARV, representa um dos maiores obstáculos na erradicação do vírus.

Atualmente, após vários estudos e com o desenvolvimento de técnicas para análise e quantificação do DNA proviral do HIV-1, parece razoável sugerir que a carga viral plasmática indicaria a infecção ativa e o DNA proviral o estabelecimento e disseminação da infecção, dando uma importante informação sobre a supressão virológica e sobre a eficácia de terapias imunes que objetivam acabar com os reservatórios virais¹².

Devido a crescente evidência da importância dos reservatórios virais, principalmente o DNA proviral integrado nas células, verificamos um aumento expressivo do número de trabalhos sobre este assunto.

Assim, dada à importância do DNA proviral do HIV-1, resolvemos escrever uma breve revisão para tentar trazer informações que poderiam complementar e ajudar no gerenciamento do tratamento dos indivíduos infectados pelo HIV-1.

Estabelecimento e função do reservatório

Além dos reservatórios principais, representados pelas células TCD4+ de memória infectadas latentemente, carregando o DNA do HIV-1 integrado, há vários reservatórios anatómicos e celulares em potencial, como o sistema nervoso central e o trato urogenital masculino, os quais podem contribuir para a persistência do HIV-1^{13,14}.

O estabelecimento de um reservatório de células CD4+ latentemente infectadas resulta da fisiologia normal do sistema imune. A maioria das células T no organismo estão em estado de repouso; aproximadamente metade são células “nãive” (células que ainda não responderam a um antígeno), e as demais são células de memória (células que responderam previamente a algum antígeno). As células circulam através dos tecidos linfóides até encontrar um antígeno que reconheçam, após o qual são submetidas a uma transformação, proliferam e realizam suas funções. Algumas células sobrevivem e retornam ao estado de repouso como células de memória de vida longa².

Na infecção pelo HIV-1, o vírus se replica preferencialmente em células CD4+ ativadas e tende a mata-las rapidamente. Contudo, algumas das células ativadas podem se tornar infectadas durante o processo de reversão para o estado de repouso, resultando em um genoma viral estavelmente integrado em uma célula T de memória¹⁵.

As condições para expressão gênica do vírus são desfavoráveis nas células em repouso, como por exemplo, fatores de transcrição do hospedeiro, necessários para expressão gênica de alto nível, estão ausentes no núcleo de células CD4+ em repouso. Neste caso, o resultado da infecção é uma forma transcripcional silenciosa, mas integrada de forma estável na célula. No futuro, caso essas células sejam reativadas, podem produzir vírus¹⁶.

A formação do provírus é um pré-requisito para a transcrição eficiente e a produção de novos vírus. Além disso, assegura a manutenção estável da informação genômica retroviral dentro da célula hospedeira. Após a integração no cromossomo do hospedeiro o DNA do HIV pode permanecer silencioso (latente) ou ser transcrito ativamente^{17,18}.

Agora está claro que os reservatórios podem persistir por anos e a meia-vida extremamente longa dessas células, combinada com o rigoroso controle da expressão, torna o reservatório adequado para manter cópias virais, inacessíveis as drogas atualmente usadas, capazes de estimular uma nova infecção sistêmica após a retirada da terapia¹⁹. Estudos longitudinais de pacientes sob terapia com níveis indetectáveis de viremia por mais de sete anos mostram que a frequência de células latentemente infectadas é extremamente estável, com uma meia-vida de aproximadamente 44 meses²⁰⁻²². Baseado em estudos de pacientes cuja terapia reduziu os níveis de HIV no plasma para valores menores de 50 cópias/mL, a erradicação do vírus de um reservatório latente necessitaria de 73.4 anos de terapia supressiva².

Além do vírus estar protegido do decaimento bioquímico, causado pelo sistema imune e pela intervenção terapêutica anti-retroviral, bem como a natureza de formar arquivo de um reservatório garantem a persistência da infecção^{19, 23}.

O reservatório permite que o vírus em um indivíduo evolua de uma maneira única. Nesse caso, o que ocorre é a sobrevivência das principais formas geradas e a replicação ativa das formas que são as mais adaptadas para as condições vigentes².

Além disso, tanto o vírus selvagem quanto o resistente às drogas podem coexistir no mesmo reservatório celular^{19,24}.

Agora parece claro que o potencial da terapia combinada prolongada para erradicar o vírus depende das características dos compartimentos e dos reservatórios de vida longa para o HIV-1²⁵.

Logo, o DNA proviral pode ser um marcador informativo para explorar reservatórios virais e avaliar o impacto do tratamento a longo prazo, oferecendo informação significativa que complementa a fornecida pela viremia plasmática²⁴.

DNA proviral em indivíduos com carga viral indetectável e sob interrupção estruturada de tratamento (STI)

Pesquisas recentes demonstram a importância da quantificação do DNA do HIV-1 como um marcador útil em estudos longitudinais de pacientes sob terapia. Mesmo que a carga viral plasmática do HIV-1 seja um parâmetro importante para monitorar a replicação, um número crescente de observações evidenciam que a quantificação do DNA proviral pode fornecer informações cruciais sobre a dinâmica da infecção e reservatórios¹².

Devido a toxicidade e efeitos colaterais ocasionados pelas drogas que constituem a ARV, a emergência de vírus resistentes e pelo custo elevado do tratamento alguns indivíduos infectados recusam o tratamento e um incrível número de pacientes interrompe a terapia prescrita por períodos curtos ou longos^{26,27}. A STI também oferece uma alternativa a terapia anti-retroviral contínua que envolve ciclos de entrada e saída do tratamento. Além disso, no caso de pacientes que não respondem a ARV, por carregarem vírus mutantes resistentes as drogas, a utilização da STI objetiva restaurar a sensibilidade as drogas para reiniciar a terapia com uma subsequente inibição da replicação viral²⁶.

Contudo, pacientes que interrompem a terapia normalmente experimentam uma retomada rápida da carga viral e perda de linfócitos T CD4, uma vez que, a supressão do vírus pelo tratamento não resulta na reconstituição da resposta imune específica para o HIV²⁸.

Na verdade, a interrupção de uma terapia efetiva, mesmo após dois anos de supressão viral, resultam na retomada viral para níveis similares aos de pré-tratamento, indicando que um “plateau” intrínseco da carga viral pode existir e que a ARV não altera significativamente esse “plateau”²⁹.

Foi sugerido que em pacientes sob tratamento com viremia indetectável a longo prazo a viremia plasmática pré-tratamento foi significativamente associada com o “plateau” durante interrupções programadas. Em pacientes tratados a longo prazo, a viremia pré-tratamento pode não estar disponível, e nessa circunstância o DNA proviral, medido no período de interrupção programada, pode ajudar a identificar pacientes que provavelmente apresentem um baixo “plateau” de viremia após a interrupção do tratamento²⁷.

O conceito de que baixos níveis de DNA proviral estão presentes em células mononucleares do sangue periférico (PBMCs) de pacientes com carga viral indetectável suporta a idéia de que o reservatório latente decai mais rapidamente em pacientes que consistentemente mantêm os níveis de RNA no plasma abaixo de 50 cópias/mL²². Por outro lado, alguns relatos demonstram que a ausência de resposta na carga viral plasmática pela terapia antiretroviral independe de qualquer resposta na quantidade de DNA proviral por célula³⁰.

Mesmo que a quantidade de DNA não se correlacione com outros marcadores imunoviroológicos (CD4+ e carga viral) parece haver um nível mais alto, mas não significante, de DNA proviral em pacientes com contagem menor de células CD4+ e valores detectáveis de RNA²².

De acordo com os níveis de CD4+ e DNA, foi demonstrado que o nível de DNA proviral em PBMCs não está fortemente associado com a contagem de células CD4+³¹. Outras observações mostraram uma associação significativamente inversa entre a contagem de células CD4+ e o nível de DNA³².

Estudos prévios demonstraram que os níveis de DNA do HIV-1 nas PBMCs foram correlacionados com a eficácia terapêutica, sugerindo que a quantificação do DNA pode ser uma ferramenta para monitorar o decaimento de DNA dos reservatórios³³.

Embora a carga de RNA viral forneça importante informação sobre a replicação viral, o DNA proviral pode ser considerado um marcador adicional para fornecer informação crucial, não apenas durante o acompanhamento de pacientes sob terapia mas também para indivíduos incluídos em protocolos de interrupção estruturada de tratamento.

CONCLUSÃO

Há um consenso da importância do estabelecimento do reservatório viral do HIV-1 que, mesmo em indivíduos sob

diferentes esquemas de ARV, constitui-se um fator relevante para o impedimento da erradicação da infecção. O estabelecimento do reservatório se faz nos estágios iniciais da infecção e permanece por longos períodos em tecidos conhecidos como “santuários”. A permanência do genoma do HIV-1 na forma integrada nas células T CD4+ de memória evidencia um problema sério, pois assegura a persistência de um reservatório estável. Este é representado por provirus “selvagens” ou mutantes, que podem ser evidenciados quando se faz a análise das seqüências dos genes da transcriptase reversa e protease viral, emergidos durante a parada estruturada do tratamento. Assim, estudos para o conhecimento do DNA proviral do HIV-1 são necessários para uma melhor compreensão da dinâmica do vírus, mesmo em indivíduos que respondem bem ao tratamento com os antiretrovirais.

Embora o significado biológico da carga de DNA proviral em PBMCs ainda não esteja claro, vários estudos sugerem que a carga de DNA celular do HIV-1 pode ser um indicador da disseminação da infecção ao passo que a carga de RNA no plasma indica infecção ativa.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Dybul, M.; Fauci A. S.; Barlett, J. G.; Kaplan, J. E.; Pau, A. K. 2002. Guidelines for using antiretroviral agents among HIV-infected adults and adolescents. *Ann. Intern. Med.* 137: 381-433.
2. Siliciano, R. 2005. Scientific Rationale for Antiretroviral Therapy in 2005: Viral Reservoirs and Resistance Evolution. *Top. HIV Med.* 13: 96-100.
3. Palella, Jr. F. J.; Delaney, K. M.; Moorman, A. C.; Loveless, M. O.; Fuhrer, J.; Satten, G.A. et al. 1998. Declining morbidity and mortality among patients with advanced human immunodeficiency virus infection. HIV Outpatient Study Investigators. *N. Engl. J. Med.* 338: 853-60.
4. Vittinghoff, E.; Scheer, S.; O'Malley, P.; Colfax, G.; Holmberg, S. D.; Buchbinder, S. P. 1999. Combination antiretroviral therapy and recent declines in AIDS incidence and mortality. *J. Infect. Dis.* 179: 717-20.
5. Gulick, R. M.; Mellors, J. W. D.; Havlir, J. J.; Eron, C.; Gonzalez, D.; McMahon, D. D.; Richman, F. T.; Valentine, L.; Jonas, A.; Meibohm, E. A.; Emini, J. A.; Chodakewitz. 1997. Treatment with indinavir, zidovudine, and lamivudine in adults with human immunodeficiency virus infection and prior antiretroviral therapy. *N. Engl. J. Med.* 337: 734-739.
6. Kostrikis, L.G.; Touloumi, G.; Karanickolas, R.; Pantazis, N.; Anastassopoulou, C.; Karafoulidou, A.; Goedert, J.J.; Hatzakis, A. 2002. Quantitation of human immunodeficiency virus type 1 DNA forms with the second template switch in peripheral blood cells predicts disease progression independently of plasma RNA load. *J. Virol.* 76: 10099-10108.
7. Lafaillade, A.; Poggi, C.; Chadapaud, S.; Hittinger, G.; Khiri, H.; Halfon, P. 2001. Impact of immune interventions on proviral HIV-1 DNA decay in patients receiving highly active antiretroviral therapy. *HIV Med.* 2: 189-94.
8. Re, M. C.; Gibellini, D.; Furlini, G.; Vignoli, M.; Vitone, F.; Bon, I.; et al. 2001. Relationships between the presence of anti-Tat antibody, DNA and RNA viral load. *New Microbiol.* 24: 207-15.
9. Chun, T. W.; Stuyver, L.; Mizell, S. B.; Ehler, L. A.; Mican, J. A.; Baseler, M.; Lloyd, A. L.; Nowak, M. A.; Fauci, A. S. 1997. Presence of an inducible HIV-1 latent reservoir during highly active antiretroviral therapy. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 94: 13193-13197.
10. Zhang, H.; Dornadula, G.; Beumont, M.; Livornese, L. Jr.; Van Uiter, B.; Henning, K.; Pomerantz, R. J. 1998. Human immunodeficiency virus type 1 in the semen of men receiving highly active antiretroviral therapy. *N. Engl. J. Med.* 339: 1803-1809.
11. Haggerty, C.; Pitt, E.; Siliciano, R. 2006. The latent reservoir for HIV in resting CD4 cells and other viral reservoirs during chronic infection: insight from treatment and treatment-interruption trials. *Curr. Op. HIV AIDS* 1: 62-68.
12. Re, M. C.; Vitone, F.; Bon, I.; Schiavone, P.; Gibellini, D. 2006. Meaning of DNA detection during the follow-up of HIV-1 infected patients: a brief review *New Microbiologica* 29: 81-88.
13. Clements, J. E.; Li, M.; Gama, L.; Bullock, B.; Carruth, L. M.; Mankowski, J. L.; Zink, M. C. 2005. The central nervous system is a viral reservoir in simian immunodeficiency virus-infected macaques on combined antiretroviral therapy: a model for human immunodeficiency virus patients on highly active antiretroviral therapy. *J. Neurovirol.* 11: 180-189.
14. Harrington, P. R.; Haas, D. W.; Ritola, K.; Swanstrom, R. 2005. Compartmentalized human immunodeficiency virus type 1 present in cerebrospinal fluid is produced by short-lived cells. *J. Virol.* 79: 7959-7966.
15. Swiggard, W. J.; Baytop, C.; Yu, J. J.; Dai, J.; Li, C.; Schretzman, R.; Theodosopoulos, T.; O'Doherty, U. 2005. Human Immunodeficiency Virus Type 1 Can Establish Latent Infection in Resting CD4+ T Cells in the Absence of Activating Stimuli. *J. virol.* 79: 14179-14188.
16. Monie, D.; Simmons R. P.; Nettles, R. E.; Kieffer, T. L.; Zhou, Y.; Zhang, H.; Karmon, S.; Ingersoll, R.; Chadwick, K.; Margolick, J. B.; Quinn, T. C.; Ray, S. C.; Wind-Rotolo, M.; Miller, M.; Persaud, D.; Siliciano, R. F. 2005. A novel assay allows genotyping of the latent reservoir for human immunodeficiency virus type 1 in the resting CD4 T cells of viremic patients. *J. Virol.* 79: 5185-5202.
17. Englund, G.; Theodore, T. S.; Freed, E. O.; Engleman, A.; Martin, M. A. 1995. Integration is required for productive infection of monocyte-derived macrophages by human immunodeficiency virus type 1. *J. Virol.* 69: 3216-3219.

18. Meyerhans, A.; Breinig, T.; Vartanian, J. P.; Wain-Hobson, S. 2003. Forms and Function of Intracellular HIV DNA. Disponível em <<http://hiv-web.lanl.gov/content/hiv-b/COMPENDIUM/2003/part1/Meyerhans.pdf>> Acesso em: 06/08/2006.
19. MARCELLO, A. 2006. Latency: the hidden HIV-1 challenge. *Retrovirology*. 3: 7.
20. Chun, T. W.; Carruth, L.; Finzi, D.; Shen, X.; DiGiuseppe, J. A.; Taylor, H.; Hermankova, M.; Chadwick, K.; Margolick, J.; Quinn, T. C.; et al. 1997. Quantification of latent tissue reservoirs and total body viral load in HIV-1 infection. *Nature* 387: 183–188.
21. Finzi, D.; Blankson, J.; Siliciano, J. D.; Margolick, J. B.; Chadwick, K.; Pierson, T.; Smith, K.; Lisziewicz, J.; Lori, F.; Flexner, C.; Quinn, T. C.; Chaisson, R. E.; Rosenberg, E.; Walker, B.; Gange, S.; Gallant, J.; Siliciano, R. F. 1999. Latent infection of CD4 T cells provides a mechanism for lifelong persistence of HIV-1, even in patients on effective combination therapy. *Nat. Med.* 5: 512–517.
22. Vitone, F.; Gibellini, D.; Schiavone, P.; Re, M. C. 2005. Quantitative DNA proviral detection in HIV-1 patients treated with antiretroviral therapy. *J. Clin. Virol.* 33: 194–200.
23. Re, M. C.; Bon, I.; Monari, P.; Gorini, R.; Schiavone, P.; Gibellini, D.; Laplaca, M. 2003. Drug failure during HIV-1 treatment. New perspectives in monitoring drug resistance. *New Microbiologica*. 26: 405-413.
24. Ramratnam, B.; Mittler, J. E.; Zhang, L.; Boden, D.; Hurley, A.; Fang, F.; Macken, C. A.; Perelson, A. S.; Markowitz, M.; Ho, D. D. 2000. The decay of the latent reservoir of replication-competent HIV-1 is inversely correlated with the extent of residual viral replication during prolonged anti-retroviral therapy. *Nat. Med.* 6: 82-85.
25. Pierson, T.; McArthur, J.; Siliciano, R. 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.
26. Lisziewicz, J.; Lori, F. 2002. Structured treatment interruptions in HIV/AIDS therapy *Microbes and Infection* 4: 207–214.
27. Yerly S.; Gunthard, H. F.; Fagard, C.; Joos, B.; Perneger, T. V.; Hirschel B.; Perrin, L. 2004. Swiss HIV Cohort Study: Proviral HIV-DNA predicts viral rebound and viral setpoint after structured treatment interruptions. *AIDS*, 18:1951-1953.
28. Papanavvas, E.; Ortiz, G. M.; Gross, R.; Sun, J.; Moore, E. C.; Heymann, J. J.; Moonis, M.; Sandberg, J. K.; Drohan, L. A.; Gallagher, B.; Shull, J.; Nixon, D. F.; Kostman, J. R.; Montaner, L. J. 2000. Enhancement of human immunodeficiency virus type 1-specific CD4 and CD8 T cell responses in chronically infected persons after temporary treatment interruption, *J. Infect. Dis.* 182: 766–775.
29. Hatano, H.; Vogel, S.; Yoder, C.; Metcalf, J. A.; Dewar, R.; Davey, R. T.; Polis, M. A. 2000. HIV burden approximates post-HAART viral levels following interruption of therapy in patients with sustained viral suppression, *Aids* 14: 1357–1363.
30. Shiramizu, B.; Gartner, S.; Williams, A.; Shikuma, C.; Ratto-Kim, S.; Watters, M.; Aguon, J.; Valcour, V. 2005. Circulating proviral HIV DNA and HIV-associated dementia. *AIDS* 19: 45-52.
31. Tierney, C.; Lathey, J. L.; Christopherson, C.; Bettendorf, D. M.; D'Aquila, R. T.; Hammer, S. M.; Katzenstein, D. A. 2003. Prognostic value of baseline human immunodeficiency virus type 1 DNA measurement for disease progression in patients receiving nucleoside therapy. *J. Infect. Dis.* 187: 144-8.
32. Riva, E.; Antonelli, G.; Scagnolari, C.; Pistello, M.; Capobianchi, M. R.; Manforte, D.; Pezzetti, A.; Dianzani, F. 2003. Human Immunodeficiency Virus (HIV) DNA load and level of immunosuppression in treatment-naïve HIV-1-infected patients. *J. Infect. Dis.* 187:1826-1828.
33. McDermott, J. L.; Giri, A. A.; Martini, I.; Bono, M.; Giacomini, M.; Campelli, A.; Tagliaferro, L.; Cara, A.; Varnier, O. E.; 1999. Level of human immunodeficiency virus DNA in peripheral blood mononuclear cells correlates with efficacy of antiretroviral therapy. *J. Clin. Microbiol.* 37: 2361-2365.

INTERAÇÃO VIRUS-HOSPEDEIRO E A EVOLUÇÃO DO HIV

VÍRUS-HOST INTERPLAY AND HIV EVOLUTION

Élcio Leal¹, Luiz Mario Janini^{1,2}

1 - Laboratório de Retrovirologia, Disciplina de Infectologia, Departamento de Medicina.

2 - Disciplina de Microbiologia, Departamento de Micro-Imuno-Parasitologia Universidade Federal de São Paulo.

RESUMO

A infecção pelo HIV implica em uma série de interações entre o vírus e a célula hospedeira. Diversas proteínas celulares participam diretamente do ciclo replicativo do HIV, muitas dessas proteínas inibem o vírus. Os mecanismos envolvidos nessa interação são complexos, no entanto estudos recentes estão desvendando os detalhes da interação vírus-célula. Os resultados desses trabalhos podem fornecer detalhes da biologia viral e mesmo possibilitar novas estratégias anti-retrovirais.

Descritores: Adaptação viral, Interação vírus-hospedeiro, HIV

ABSTRACT

HIV infection is an interplay between the virus and the host cell resources. Several cellular proteins play direct roles during HIV replication cycle. Some of these proteins are used by the virus to promote viral propagation while others tend to impose barriers. Although some of the mechanisms in this interplay are very complex, recent studies are starting to unveil aspects of the virus-cell interaction. A better understanding of this interaction may open new therapeutic avenues.

Keywords: Viral adaptation, Virus-host interaction, HIV

INTRODUÇÃO

Existe uma ampla gama de fatores que participam diretamente no estabelecimento de doenças emergentes. Assim, alguns fatores são fundamentais nos primeiros eventos de transmissão de um patógeno para um novo hospedeiro, enquanto outros são mais relevantes no estabelecimento da nova doença na população e, por conseguinte, no desencadeamento de uma epidemia. As características genéticas inerentes aos parasitas e aos hospedeiros influenciam diretamente os eventos de transmissão Schliekelman *et al.*, 2001¹; Woolhouse *et al.*, 2000². Assim, a similaridade genética entre hospedeiros é um fator importante na transmissão de um determinado parasita. Dessa forma, as chances de transmissão de um parasita entre espécies evolutivamente próximas, por exemplo homem e chimpanzé, são maiores que entre espécies evolutivamente distantes. De fato, a epidemia de AIDS teve origem a partir de 1930 por eventos de transmissão do vírus da imunodeficiência dos símios (SIV) encontrado em algumas subespécies de chimpanzés (*Pan troglodytes troglodytes*) originárias do Centro-Oeste da África Korber *et al.*, 2000³; Gao *et al.*, 1999⁴. Fatores como: migrações, destruição e colonização de ambientes naturais, falta de infra-estrutura sanitária, crescimento populacional desordenado, entre outros tantos, têm influenciado no surgimento e disseminação de várias doenças Hill *et al.*, 1997⁵; Leal & Zanotto, 2000⁶; Stearns, 1999⁷. Por exemplo, acredita-se que o HIV-2 teve origem entre 1940 e 1945 pela transmissão zoonótica de SIVs que infectam uma espécie de macaco (*Cercocebus torquatus atys*) do gênero *Cercocebus* que habita a Guiné-Bissau Lemey *et al.*, 2003⁸. Esse estudo mostra que as estimativas de expansão do HIV-2 coincidem

com a guerra de independência (1963-1974) dessa ex-colônia Portuguesa. Provavelmente, esse conflito teve uma participação significativa na disseminação do HIV-2 no país. Em decorrência da desestruturação sócio-econômica da Guiné-Bissau é possível que as pessoas tivessem que buscar refúgio na selva e suplementação protéica em espécies da fauna nativa, incluindo primatas infectados pelo SIV. No entanto, as incursões humanas no habitat natural dos símios e o consumo de carne de animais infectados, vêm ocorrendo a milhares de anos em solo Africano. Então, por que somente a menos de 100 anos o HIV transpôs a barreira entre símios e humanos? O mais intrigante é que o HIV-1 e o HIV-2 foram transmitidos aos humanos a partir de diferentes hospedeiros, respectivamente chimpanzé e macaco carvoeiro, contudo essa transmissão ocorreu quase simultaneamente. Quais os fatores decisivos para que o HIV pudesse infectar os humanos e posteriormente adquirir *momentum* para desencadear a pandemia de AIDS? O panorama completo dos eventos que culminaram na pandemia de AIDS ainda está longe de ser inteiramente entendido. No entanto, as pesquisas com HIV/AIDS nos últimos 20 anos mostram que a dinâmica da interação vírus-hospedeiro é extremamente complexa.

Dinâmica da interação parasita-hospedeiro

Os mecanismos genéticos envolvidos na interação entre parasitas e hospedeiros têm sido estudados sob diferentes aspectos da biologia evolutiva. A hipótese de mudanças genéticas adaptativas resultantes de um processo de co-evolução (hipótese da "rainha vermelha") entre os diferentes patógenos e seus hospedeiros é bastante atrativa e tem sido abordada em diferentes organismos Chao *et al.*, 1977⁹; Lenski & Levin, 1985¹⁰; Satta *et al.*, 1994¹¹; Woolhouse *et al.*, 2000². As evidên-

cias empíricas de co-evolução são consistentes; no entanto, a interpretação desses achados envolve considerações acerca dos diversos fatores associados a este mecanismo Woolhouse *et al.*, 2002¹². Uma forma bastante concisa de abordar o tema da co-evolução pode ser feita através do estudo do surgimento de polimorfismos recíprocos durante a interação do parasita com seu hospedeiro e a sua manutenção nas populações Charlesworth *et al.*, 2001¹⁵; Little, 2002¹⁴; Moore *et al.*, 2002¹⁵.

A dinâmica populacional do HIV é fortemente influenciada pela interação do vírus com o hospedeiro Crandall *et al.*, 1999¹⁶; Frost *et al.*, 2001¹⁷; Ross & Rodrigo, 2002¹⁸. Os eventos de infecção e a malha de transmissão explorada também são determinantes importantes que afetam a dinâmica do HIV Grenfell *et al.*, 2004¹⁹; Pybus *et al.*, 2000²⁰; Rambaut *et al.*, 2004²¹. Sendo assim, a evolução do HIV resulta de uma combinação de fatores inerentes à biologia do vírus (taxa de substituição, recombinação) e fatores relacionados com o hospedeiro (estrutura genética dos indivíduos, malha de transmissão, pressão do sistema imunológico). No HIV os mecanismos de co-evolução têm sido estudados destacando o padrão de mutações em genes virais e do hospedeiro que influenciam na susceptibilidade à infecção. Por exemplo, foi observado que existe uma relação entre a baixa susceptibilidade à infecção causada pelo HIV e uma deleção no receptor de quimiocinas CCR5 Carrington & O'Brien, 2003²²; Schliekelman *et al.*, 2001²³. Além disso, alguns autores sugeriram que existe uma relação entre a presença de determinados haplótipos no complexo de histocompatibilidade principal (MHC) com a gravidade da infecção Gao *et al.*, 2001²⁴; Carrington *et al.*, 1999²⁵.

Outro aspecto importante da co-evolução é a possibilidade que determinados padrões polimórficos do vírus favoreçam a sua disseminação numa determinada população. Assim, em populações com uma composição de haplótipos (MHC) homogênea, a disseminação de um determinado patógeno pode ser facilitada Gilbert *et al.*, 1998²⁶; Hill, 1998²⁷. Por exemplo, foi observado que o vírus *Epstein-Barr* pode se disseminar mais rapidamente em algumas populações que compartilham o mesmo padrão haplotípico no MHC Campos-Lima *et al.*, 1993²⁸. Com o HIV-1 também existem evidências empíricas desse tipo de escape no paciente Kelleher *et al.*, 2001²⁹; Price *et al.*, 1997³⁰. No entanto não existe um consenso quanto à contribuição desses variantes que escapam do sistema imunológico na disseminação da epidemia de AIDS Leslie *et al.*, 2005³¹. Apesar disso, alguns estudos mostraram o aparecimento de padrões coincidentes de mutações que conferem resistência aos anti-retrovirais no HIV-1 em pessoas com os mesmos haplótipos (MHC) Moore *et al.*, 2002¹⁵; Yusim *et al.*, 2002³². Nesse contexto, existe a possibilidade de variantes do HIV, as quais evadem o sistema imunológico do paciente, se propagarem mais rapidamente na população McAdam & Gotch, 1999³³; Moore *et al.*, 2002¹⁵; Nájera *et al.*, 1994³⁴; Rouzine & Coffin, 1999a³⁵; Yusim *et al.*, 2002³².

Resposta imune à infecção pelo HIV-1

Os pacientes com infecção primária pelo HIV apresentam resposta imune humoral e celular intensas que afetam diretamente a infecção pelo HIV Koup *et al.*, 1994³⁶; Rosenberg *et al.*, 1997³⁷. Particularmente, a manutenção da carga viral em níveis baixos tem sido associada com a presença de células citotóxicas (CTL) circulantes Greenough *et al.*, 1997³⁸; Ogg *et al.*, 1999³⁹. Apesar do sistema imunológico ser capaz de reconhecer várias proteínas do HIV e apresentar uma resposta celular vigorosa, principalmente durante a fase assintomática da infecção, a infecção torna-se crônica com progressão para AIDS, ao contrário do que é observado em outras infecções

virais como o vírus *Epstein-Barr* e o vírus da *Influenza A* Lidsay *et al.*, 2001⁴⁰.

Alguns estudos sugerem que a presença de resposta citotóxica direcionada aos diferentes epítomos do gene *gag* esteja associada a uma progressão lenta para AIDS Klein *et al.*, 1995⁴¹; Riviere *et al.*, 1997⁴²; Betts *et al.*, 1999⁴³. Por outro lado, estudos feitos *in vitro*, onde a resposta CTL está direcionada principalmente contra poucos epítomos dos genes *env* e *pol*, sugerem que a progressão tende a ser rápida Goulder *et al.*, 1997⁴⁴; Hay *et al.*, 1999⁴⁵; Zhang *et al.*, 1994⁴⁶. Dessa forma, não somente a presença de atividade CTL, bem como a especificidade, duração e abrangência da resposta contra os diferentes tipos de epítomos, são de fundamental importância na manutenção da replicação do HIV em níveis baixos.

A pressão que o sistema imunológico exerce no HIV deve-se principalmente ao reconhecimento de epítomos virais, os quais são apresentados na superfície de células infectadas. Estas células apresentam os peptídeos resultantes da hidrólise de proteínas virais feita pelo complexo proteossoma no citosol das células Janeway, 2001⁴⁷; Litman *et al.*, 1999⁴⁸. Os epítomos apresentados na superfície das células infectadas ligam-se ao MHC. Este complexo MHC-peptídeo é então reconhecido pelos receptores de linfócitos T (TCR). O reconhecimento do complexo MHC-peptídeo feito pelo TCR inicia a resposta imune humoral e celular. O controle da infecção pelo HIV é feito principalmente por uma determinada categoria de linfócitos (linfócitos T CD8) que destroem as células infectadas, esse mecanismo é chamado de atividade citotóxica (CTL) Janeway, 1997⁴⁹.

Indivíduos infectados que não recebem tratamento anti-retroviral sofrem uma redução constante dos níveis de células T CD4+, culminando com o aparecimento de infecções oportunistas e AIDS Ogg *et al.*, 1999³⁹. Contudo, alguns indivíduos infectados por mais de 17 anos pelo HIV-1 não apresentam evidência de progressão da doença Klein & Miedema, 1995⁴¹. Observou-se também que em alguns casos, pessoas podem ser soronegativas mesmo estando expostas ao HIV de maneira constante. Por exemplo, algumas prostitutas da África, indivíduos que mantêm relação sexual com parceiro infectado e crianças nascidas de mães infectadas Apesar desses indivíduos serem soronegativos é possível a detecção no sangue periférico de células T CD8+ citotóxicas anti-HIV Clerici *et al.*, 1992⁵⁰; Rowland-Jones *et al.*, 1995⁵¹; Furci *et al.*, 1997⁵²; Mazzoli *et al.*, 1997⁵³. Nestes casos alguns fatores têm sido descritos que ajudam a explicar os mecanismos de resistência ao desenvolvimento e progressão para a AIDS. Assim, foi observado que a resistência pode ser resultante da infecção por vírus HIV-1 com mutações em um ou mais genes Deacon *et al.*, 1995⁵⁴; Kirchoff *et al.*, 1995⁵⁵. Em outros casos, existe a associação entre mutações em genes de receptores celulares de quimiocinas e a resistência à infecção pelo HIV-1 Smith *et al.*, 1997⁵⁶. Também foi observada uma correlação entre a heterogeneidade do MHC e a progressão para AIDS em indivíduos infectados pelo HIV-1 Carrington *et al.*, 1999²⁵.

No entanto, na maioria dos pacientes infectados o sistema imunológico não é capaz de eliminar o vírus. Algumas estratégias utilizadas pelo HIV tornam a resposta imune pouco eficaz no controle da replicação viral e da infecção:

(1) Interferência do vírus na apresentação e reconhecimento das proteínas virais. Sob esse aspecto, observou-se que uma das atividades da proteína Nef é induzir a redução específica da expressão de algumas classes de MHC na superfície de células infectadas pelo HIV, interferindo na apresentação normal de peptídeos virais Collins *et al.*, 1998⁵⁷. Ainda nesse sentido, observou-se a ocorrência de variantes do HIV (mutantes) capazes de escapar do reconhecimento feito pelo sistema imunológico Phillips *et al.*, 1999⁵⁸; Borrow *et al.*, 1997; Goulder *et al.*, 1997⁴⁴.

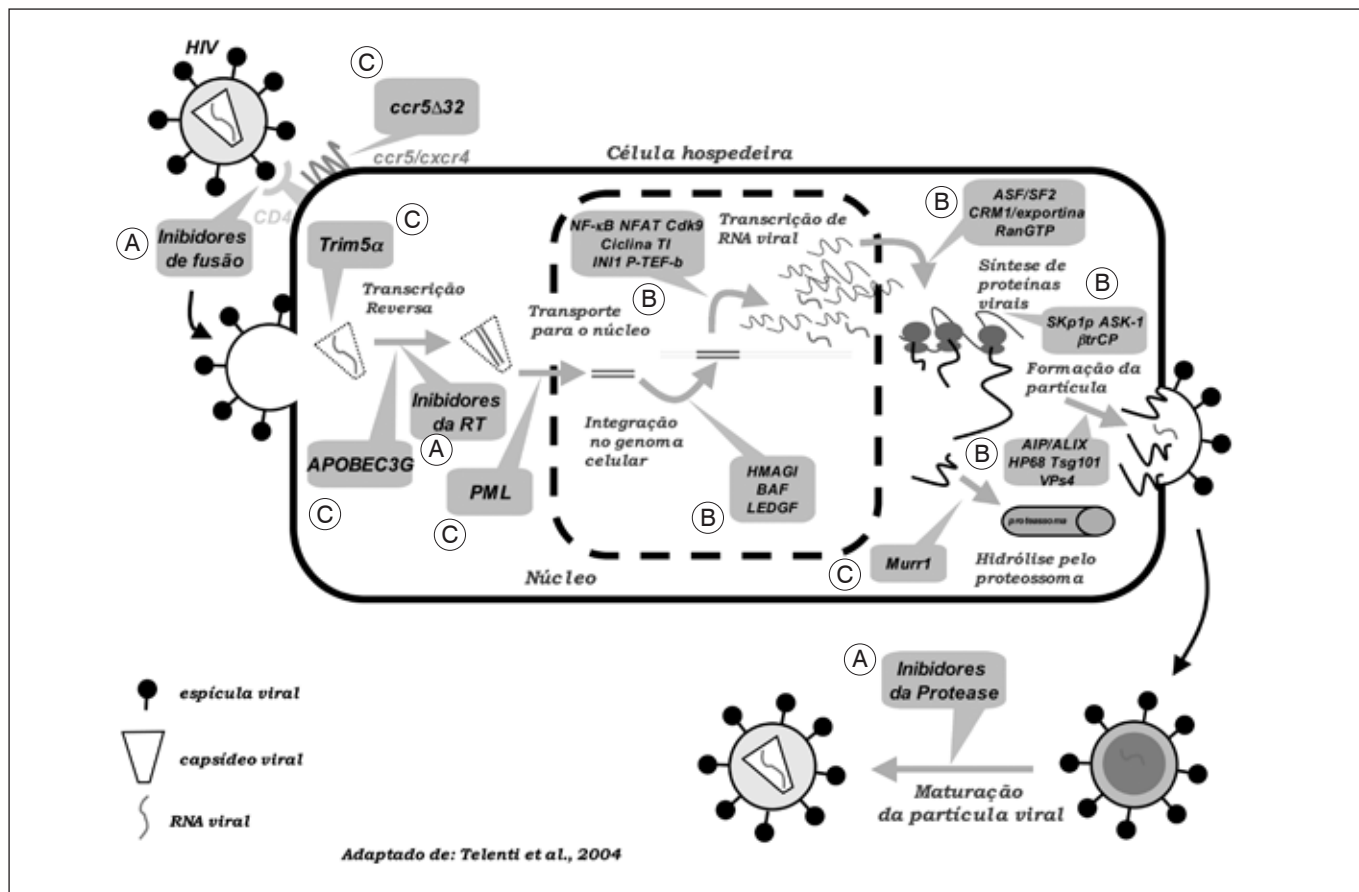


Figura 1. Ciclo replicativo do HIV e interação com a célula.

As setas cinza representam as diferentes etapas do ciclo de replicação do HIV onde existe a interferência de componentes celulares ou ação de medicamentos anti-retrovirais. Os balões A indicam as etapas onde os medicamentos anti-retrovirais atuam. Os balões B indicam as etapas onde componentes celulares atuam. Os balões C indicam proteínas que inibem o ciclo viral.

(II) Colonização rápida de diferentes tipos de tecidos. Durante a infecção pela mucosa o HIV usa as células apresentadoras de antígenos (macrófagos e células de Langerhans). Estas células infectadas migram para os tecidos linfóides para processamento e apresentação de antígenos, onde o HIV passa a replicar e a colonizar rapidamente outros tecidos Zaitseva et al., 1997⁵⁹; Kacani et al., 1998⁶⁰. A colonização rápida de diferentes tipos de tecidos pode resultar no surgimento de variantes virais do HIV, que influenciam na progressão para AIDS Shankarappa et al., 1999⁶¹.

(III) Infecção de células latentes. Concomitante à colonização dos tecidos linfóides, o HIV pode infectar linfócitos T CD4+ inativos, permanecendo nestas células na forma de provírus latente. Os linfócitos com HIV latente constituem um reservatório viral, visto que não ocorre a replicação do provírus enquanto as células permanecem inativas e consequentemente não ocorre a apresentação de antígenos e indução de resposta imune Finzi et al., 1999⁶²; Wong et al., 1997⁶³.

(IV) Depleção de alguns tipos específicos de células T. O desenvolvimento de uma resposta imune intensa depende da integridade dos diferentes tipos de células envolvidas na indução e manutenção da resposta imune Janeway, 1997⁴⁹. Na infecção pelo HIV ocorre uma depleção dos linfócitos T auxiliares (Th), o que causa uma diminuição acentuada na manutenção da resposta imune Kalams et al., 1994⁶⁴; Rosenberg et al., 1997³⁷. Além do comprometimento da manutenção da resposta imune, durante a infecção pode ocorrer a eliminação de determinados clones de células CTL específicos

para alguns variantes do HIV McKinney et al., 1999⁶⁵. Todas essas estratégias combinadas possibilitam que o HIV cause um comprometimento gradual e aparentemente irreversível do sistema imunológico Chun et al., 1999⁶⁶.

Essa interação do HIV com o sistema imunológico do paciente induz mudanças drásticas no genoma viral. Em decorrência disso a diversificação do HIV em um indivíduo infectado é maior que a observada em outros vírus RNA. Em um mesmo indivíduo o grau de diversidade do HIV pode variar entre 3 a 5 % no gene *env*, 1 a 2% no gene *gag* e 0,4 a 1 % no gene *pol* Nájera et al., 1994³⁴; Shankarappa et al., 1999⁶¹; Yoshimura et al., 1996⁶⁷. Esta diversidade, quando localizada em regiões importantes relacionadas com o reconhecimento antigênico, pode culminar no escape imunológico de alguns variantes. Apesar dessa ação direta da pressão seletiva feita pelo sistema imunológico, o padrão de evolução e a diversidade observada no genoma do HIV é consequência da combinação de diferentes fatores como: seleção natural, mutação, deriva gênica, malha de transmissão e colonização de diferentes tecidos Rambaut et al., 2004²¹.

Resposta imune inata à infecção pelo HIV-1

Os vestígios do processo de adaptação decorrentes da interação co-evolutiva entre vírus e hospedeiro podem ser facilmente determinados, avaliando as taxas evolutivas em genes alvos da resposta imune direcionada aos epítomos virais Jenkins et al., 2002⁶⁸. Assim, a presença de seleção positiva em genes

virais esta diretamente relacionada à pressão seletiva exercida pelo sistema imunológico dos hospedeiros. Contudo, a dinâmica da interação entre vírus e hospedeiro ainda depende da ação não tão direta das pressões exercidas pela resposta imune inata. Nesse sentido, observou-se que a interação precoce entre o complexo viral pré-integrativo e proteínas nucleares, como a integrase interactor 1 (INI1) e a proteína da leucemia pró-mielocítica (PML), ocasiona um estado antiviral que interfere com os primeiros estágios da infecção pelo HIV. Turelli et al., 2001⁶⁹. Outros fatores anti-virais atuam no capsídeo viral, assim impedindo a replicação do vírus após a sua entrada na célula Hatzioannou et al., 2003⁷⁰; Stremlau et al., 2005⁷¹. Ademais, a proteína Murr1, envolvida na regulação do cobre intra-celular é capaz de inibir a produção do HIV em linfócitos T CD4 através de uma via proteossomal Ganesh et al., 2003⁷². Cada vez mais novos fatores celulares de atividade anti-viral estão sendo descritos engrossando a lista dos elementos celulares de defesa, como os interferons e as RNases Goff, 2003⁷³.

Outros estudos proporcionaram evidências adicionais da participação direta de alguns genes na imunidade inata às infecções virais. Especificamente, o gene TRIM5 α ("protein tripartite motif 5") bloqueia a infecção de fibroblastos de Rhesus pelo HIV-1, possivelmente pela interação com proteínas da cápside viral Stremlau et al., 2005⁷¹. Este bloqueio, representado pela ação do TRIM5 α , restringe a infecção pelo HIV em Macacos do Velho Mundo, entretanto, os vírus da imunodeficiência dos símios que naturalmente infectam Macacos do Velho Mundo, são menos suscetíveis ao bloqueio pelo TRIM5 α . Estas barreiras celulares hospedeiro específicas podem em muito explicar a distribuição destes vírus nas populações humanas e símias Lee & Kewalramani, 2004⁷⁴.

Outro exemplo notável de interferência na infecção pelo HIV é o gene da apolipoproteína humana B (APOBEC3G, ou hA3G). Esse gene localiza-se no cromossomo 22 e é flanqueado por vários outros genes que codificam proteínas relacionadas, classificadas como APOBEC3A até H Harris & Liddament, 2004⁷⁵; Jarmuz et al., 2002⁷⁶. As proteínas APOBEC3F (hA3F) e APOBEC3B (hA3B) possuem atividade antiviral específica contra o HIV-1 Bishop et al., 2004⁷⁷; Liddament et al., 2004⁷⁸; Wiegand et al., 2004⁷⁹; Zheng et al., 2004⁸⁰, enquanto as proteínas APOBEC3B (hA3B) e APOBEC3C (hA3C) inibem o SIV. As proteínas APOBEC3 pertencem a uma família grande de citidina deaminases (CTDAs), que ainda inclui as proteínas APOBEC1 (A1), APOBEC2 (A2) e a deaminase dependente de ativação (AID) que é responsável pela geração de diversificação das imunoglobulinas (*i.e.* recombinação somática, conversão gênica e troca de classes de imunoglobulinas) durante a maturação da resposta imune humoral em vertebrados Harris & Liddament, 2004⁷⁵; Jarmuz et al., 2002⁷⁶; Honjo et al., 2004⁸¹; Neuberger et al., 2003⁸².

O mais impressionante da ação antiviral da APOBEC3 é o seu mecanismo de ação: as proteínas da APOBEC3G, quando incorporadas as partículas virais do HIV-1, induzem a deaminação das citidinas em uridinas (C \rightarrow U) presentes na fita negativa do vírus. Com isso, ocorrem substituições de guanosinas por adenosinas (G \rightarrow A) na fita de polaridade positiva do DNA viral, assim induzindo o surgimento de códons de terminação e perda de fase de leitura dos genes Lecossier et al., 2003⁸³; Mangeat et al., 2003⁸⁴; Zhang et al., 2003⁸⁵. A frequência de substituições de guanosinas por adeninas pode ultrapassar 25% do total de guanosinas Harris et al., 2003⁸⁶, esse mecanismo é chamado de hipermutação Pathak & Temin, 1990⁸⁷. Visto que o genoma dos vírus RNA é extremamente compacto, uma decorrência do processo de hipermutação é a indução da inativação de genes virais e conseqüente perda da informação genômica viral Mangeat et al., 2003⁸⁴; Janini et al., 2001⁸⁸. A

ocorrência de hipermutação foi extensivamente descrita em diversos genomas virais Janini et al., 2001⁸⁸; Suspène et al., 2005⁸⁹; Li et al., 1991⁹⁰; Pelletier et al., 1995⁹¹. Contudo, o estudo da participação da hipermutação como um componente importante da imunidade inata, com atividade anti-retroviral, vem adquirindo grande ímpeto em razão da descoberta da ação direta da APOBEC3G na atividade anti-HIV Bishop et al., 2004⁷⁷; Sheehy et al., 2002⁹²; Schumacher et al., 2005⁹³.

Alguns estudos estão abordando a origem e função dos genes da família APOBEC. Especial atenção tem sido dada à elucidação da atividade celular das APOBECs, pois são conhecidas a atividade fisiológica somente dos genes AID e APOBEC1, envolvidos, respectivamente, na diversificação das imunoglobulinas e na edição de RNA mensageiros das apolipoproteínas. Além disso, genes da família APOBEC são encontrados em várias espécies na escala evolutivas, desde peixes ósseos, aves até mamíferos. Em mamíferos, por exemplo, houve uma expansão no número de genes da família APOBEC, Isso sugere a participação de alguns membros dessa família em atividades diversas que afetam a fisiologia celular. Por exemplo, a indução da expressão de APOBEC1C em camundongos aumenta a incidência de carcinoma hepatocelular Yamanaka et al., 1995⁹⁴.

Outro aspecto importante da família APOBEC é a recente diversificação de alguns de seus membros. Em primatas, por exemplo, na família da APOBEC3, ocorreram duplicações gênicas (*i.e.* APOBEC3A, 3B, 3C, 3D, 3E, 3F e 3G) que resultou na formação de um agrupamento no cromossomo 22. Por outro lado, em camundongos existe somente um gene da APOBEC3 (Mmusc APOBEC3) Conticello et al., 2005⁹⁵. Os eventos de duplicação gênica advêm de pressões evolutivas intensas Gu & Gu, 2003⁹⁶; Ohno, 1970⁹⁷. No caso da APOBEC3, a duplicação gênica implica necessariamente na participação de um fator seletivo e na aquisição de vantagem adaptativa na linhagem dos primatas. De fato, alguns estudos demonstraram a presença de seleção positiva na APOBEC3 em linhagens de primatas Zhang & Webb, 2004⁹⁸; Sawyer et al., 2004⁹⁹. Ademais esses estudos sugerem que isso decorreu devido ao massivo parasitismo ocasionado pelos retrovírus ao longo da história evolutiva dos primatas Esnault et al., 2005¹⁰⁰; Zhang & Webb, 2004⁹⁸; Sawyer et al., 2004⁹⁹; Holmes, 2004¹⁰¹. Note-se que a origem da atividade de deaminação da APOBEC3 em primatas (aproximadamente 20 milhões de anos atrás) precede enormemente a origem do HIV em humanos (menos de 80 anos atrás) Conticello et al., 2005⁹⁵. Assim, a indução da duplicação gênica da APOBEC3 (APOBEC3G e3F) envolve a participação de uma ampla gama de fatores seletivos entre os quais incluem-se os eventos ocasionais de infecção pelos retrovírus Esnault et al., 2005¹⁰⁰. Visto que a história evolutiva da APOBEC3 envolveu um processo de milhões de anos de adaptação às recorrentes incursões de diferentes patógenos, isso induziu o surgimento de polimorfismos de nucleotídeo únicos (SNP) na APOBEC3G, especificamente, em alguns grupos étnicos (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/SNP/>). Fato interessante é que, apesar desses SNPs terem sido fixados nas populações muito antes dos eventos de transmissão zoonótica do HIV aos humanos, a atividade anti-HIV da APOBEC3 pode apresentar variações de acordo com esses polimorfismos. De fato, um SNP na posição 186 (H \rightarrow R) do gene APOBEC3G, freqüentemente observado em Afro-Americanos, pode estar associado à indução mais rápida para AIDS An et al., 2004¹⁰². A presença de SNPs possivelmente afete algumas atividades celulares da APOBEC3G, especificamente o grau de hipermutação. No entanto, o impacto desses polimorfismos na epidemia pelo HIV precisa ser abordado mais detalhadamente em nível populacional.

Adaptação do HIV aos anti-retrovirais

A aquisição de resistência aos anti-retrovirais em determinados variantes do HIV-1 é consequência direta do surgimento de mutações nos genes da protease (*pr*) e da transcriptase reversa (*rt*). O surgimento dessas mutações no genoma viral está associado a vários fatores, como as altas taxas de mutação do HIV Bebenek *et al.*, 1989¹⁰³; Jung *et al.*, 2002¹⁰⁴; Mansky & Temin, 1995¹⁰⁵ e a supressão parcial da replicação viral durante o tratamento Chun *et al.*, 1997¹⁰⁶; Fleury *et al.*, 2000¹⁰⁷; Lewin *et al.*, 1999¹⁰⁸. A consequência direta desta combinação de fatores é que a população viral num indivíduo infectado é composta por uma grande gama de variantes (mutantes), que podem conter mutações de resistência Novak, 1999¹⁰⁹.

A ausência de atividade de transcrição reversa em células eucarióticas, possibilitou o uso de drogas inibidoras da enzima transcriptase reversa (RT) e o uso desses inibidores no tratamento da infecção pelo HIV. Assim, a zidovudina (AZT), com ação anti-retroviral contra vírus de leucemia murinos (LCMV) e que apresentou ação inibitória contra o HIV-1 *in vitro*, tornou-se a primeira droga a ser usada no tratamento da AIDS Domingo *et al.*, 1999¹¹⁰. Concomitantemente, houve um estímulo para a avaliação da atividade anti-HIV de diversos análogos de nucleosídeos, descritos ou recém sintetizados, o que resultou na aprovação de cinco inibidores de RT análogos aos nucleosídeos (NRTIs) Sansom & Wlodawer, 1999¹¹¹.

O domínio catalítico da RT, apresenta dois sítios de ligação que podem ser considerados alvos para intervenção por quimioterapia: o sítio de ligação do substrato, local de atuação dos inibidores análogos (NRTIs) e um sítio de ligação, onde atuam os inibidores de RT não nucleosídicos (NNRTIs) Wainberg, 1999¹¹². As drogas NRTIs são fosforiladas no citosol e convertidas numa forma 5'-trifosfato e atuam como um inibidor competitivo ou um substrato alternativo da RT Sansom & Wlodawer, 1999¹¹¹. Dessa forma, o inibidor pode ser incorporado à cadeia de DNA resultando na interrupção no crescimento desta Weller, 1999¹¹³.

As drogas NNRTI não interagem com o sítio ativo da RT e sim num outro sítio de ligação alostérico. Embora os NNRTIs são quimicamente distintos, vários estudos cristalográficos têm demonstrado que estes compostos apresentam o mesmo modo de ligação à RT. A ligação dos NNRTIs ao alvo induz modificações estrutural na RT em decorrência disso a enzima é inativada. Visto que os NNRTIs ligam-se à RT de modo similar, as mutações podem conferir resistência cruzada entre diferentes drogas desta classe de inibidor Domingo *et al.*, 1999¹¹⁰.

Durante o tratamento anti-retroviral prolongado observa-se que a supressão da replicação viral é muito mais intensa nos variantes do tipo selvagem que nos variantes com mutações de resistência Ribeiro & Bonhoeffer, 2002¹¹⁴; Richman *et al.*, 1991¹¹⁵. Por outro lado, a vantagem adaptativa conferida pelas mutações de resistência durante o tratamento, na ausência de anti-retrovirais, torna-se um fator limitante para a replicação desses mutantes. Diversas mutações de resistência foram associadas com uma redução drástica no valor adaptativo dos mutantes de resistência na ausência dos anti-retrovirais Back *et al.*, 1996¹¹⁶. Por exemplo, a mutação M184V, localizada adjacente ao sítio catalítico YMDD da RT do HIV causa uma redução na atividade dessa enzima Back *et al.*, 1996¹¹⁶. Isso pode acarretar numa desvantagem replicativa para os mutantes de resistência. Por exemplo, quando o tratamento é interrompido os vírus resistentes surgidos durante o tratamento são substituídos por variantes sensíveis aos anti-retrovirais Sharma & Crumpacker, 1997¹¹⁷; Silva *et al.*, 2006¹¹⁸. Durante os eventos de transmissão ocorrem reduções drásticas no tamanho da população viral, de forma que a fixação dos alelos de resistência está mais sujeita aos eventos estocásticos Rouzine & Coffin, 1999b¹¹⁹. Por isso, Frost *et al.* 2001¹⁷ sugerem que as

vantagens adaptativas das mutações de resistência que surgem no paciente não são relevantes na população.

No entanto, em pacientes que nunca receberam anti-retrovirais (virgens de tratamento), observou-se que alguns variantes de resistência podem persistir por longo tempo Blower *et al.*, 2000¹²⁰; Gomez-Cano *et al.*, 1998¹²¹; Larder *et al.*, 1989¹²²; Moore *et al.*, 1991¹²³; Nájera *et al.*, 1994¹²⁴; Richman *et al.*, 1991¹¹⁵. Vários estudos têm demonstrado que os efeitos deletérios destas mutações na cinética replicativa do HIV podem ser minimizados pela presença de mutações compensatórias as quais recuperam o valor adaptativo dos mutantes de resistência Boyer *et al.*, 1998¹²⁴; Kelleher *et al.*, 2001²⁹; Kleim *et al.*, 1996¹²⁵; Mammano *et al.*, 1998¹²⁶.

O processo de substituição alélica (fixação de mutações) é dinâmico e sofre a influência de mecanismos determinísticos (não influenciados por efeitos do acaso) e estocásticos (influenciados por efeitos do acaso) Rouzine & Coffin, 1999b¹²⁷. Particularmente, nos eventos de transmissão (infecção) entre indivíduos, ocorre uma redução bastante acentuada na população viral que é transmitida para o novo indivíduo infectado. Com isso, os eventos de substituição são altamente afetados por mecanismos estocásticos Frost *et al.*, 2001¹⁷; Haase *et al.*, 1996¹²⁸; LeighBrown *et al.*, 1997¹²⁹; Perelson *et al.*, 1996¹³⁰; Rouzine & Coffin, 1999b¹²⁷. Mesmo nesta circunstância existe pressão seletiva, principalmente no envelope viral (gp120), devido à adaptação do vírus no novo ambiente celular Shankarappa *et al.*, 1999⁶¹. Assim, os efeitos estocásticos podem ser mínimos em razão das altas taxas de mutação e da pressão seletiva Holmes & Zanotto, 1998¹³¹; LeighBrown & Richman, 1997¹³²; LeighBrown, 1997¹³³; Rouzine & Coffin, 1999a,¹²⁷ b). Consequentemente, a presença de mutações de resistência, deletérias na ausência do tratamento, pode refletir uma etapa de transição entre o seu surgimento por mutação e sua eliminação por seleção purificadora Leal *et al.*, 2004¹³⁴. Além disso, o gene *pol* é pouco imunogênico, de forma que a pressão seletiva do sistema imunológico tende a ser menos intensa Phillips, 1999⁵⁸. Portanto, as mutações de resistência surgidas em um paciente têm poucas chances de serem transmitidas na população LeighBrown, 1999¹³⁵; Yusim *et al.*, 2002³². Contudo, as altas taxas de recombinação observadas no HIV podem favorecer o surgimento de populações virais com um perfil de mutações de resistência complexo Morris *et al.*, 1999¹³⁶; Rambaut *et al.*, 2004²¹.

Intervenção de proteínas células no ciclo replicativo do HIV

O repertório genético de um indivíduo possui um importante papel no nível de sua susceptibilidade às infecções pelo HIV e a sua consequente evolução para a doença clínica. Algumas destas variações estão relacionadas à diversidade imunogenética, como a presença de determinados alelos do sistema principal de histocompatibilidade ou polimorfismos observados nos genes de citocinas ou de receptores de citocinas (CCR5, CCR2, CX3CR1, SDF1, MIP1a, RANTES, IL-10, IL-4) Carrington *et al.*, 1999²⁵; O'Brien & Nelson, 2004⁹⁵. Células alvo primárias, isoladas de diferentes indivíduos também podem possuir uma permissividade diferenciada à infecção pelo HIV Williams & Cloyd, 1991¹³⁷; Spira & Ho, 1995¹³⁸; Eisert *et al.*, 2001¹³⁹; Ciuffi *et al.*, 2004¹⁴⁰. Macrófagos isolados de pares de gêmeos quando infectados pelo HIV-1 apresentam uma cinética de produção viral muito semelhante, reforçando a importância dos fatores genéticos individuais na susceptibilidade à infecção viral. Chang *et al.*, 1996¹⁴¹; Naif *et al.*, 1999¹⁴².

O ciclo replicativo do HIV-1 é caracterizado por diversas interações do vírus com proteínas celulares do hospedeiro (Figura 1). A interação precoce entre o complexo viral pré-integrativo e proteínas nucleares, como a integrase interactor 1 (INI1) e a

proteína da leucemia pró-mielocítica (PML), é capaz de criar um estado antiviral que interfere com os primeiros estágios da infecção pelo HIV Turelli *et al.*, 2001⁶⁹. Temos outro exemplo na proteína tipo dedo de zinco ZAP que inibe a produção do RNA viral Gao *et al.*, 2002¹⁴³. Outros fatores anti-virais se dirigem às proteínas do capsídeo viral impondo um bloqueio pós-entrada Hatzioannou *et al.*, 2003⁷⁰; Stremelau *et al.*, 2005⁷¹. A proteína Murr1 envolvida na regulação do cobre intra-celular induz a degradação de proteínas do HIV em linfócitos T CD4 através do complexo proteassomal. Embora as restrições à entrada do vírus na célula hospedeira sejam um fator determinante da cinética da infecção viral Buttica *et al.*, 2003¹⁴⁴, proteínas celulares envolvidas nos estágios finais do ciclo replicativo viral contribuem para a variação na susceptibilidade encontrada nos indivíduos Ciuffi *et al.*, 2004¹⁴⁰. Da mesma forma, polimorfismos em genes dos hospedeiros envolvidos no ciclo replicativo viral podem levar à expressão diferenciada destes genes ou a funções diferenciadas de proteínas variantes determinando as diferenças individuais na susceptibilidade. Cada célula de um indivíduo pode então ser comparada a um laboratório evolutivo, onde diferenças entre os indivíduos ou espécies hospedeiras ditam o sucesso ou fracasso das variantes virais provocando uma adaptação espécie específica ou até mesmo indivíduo específica das populações virais, em consonância com as proteínas do hospedeiro. Neste contexto, mutantes virais com maior ou menor índice adaptativo podem influenciar a estrutura da epidemia. O entendimento da importância de determinados variantes genéticos presentes em indivíduos que possam influenciar a susceptibilidade à infecção pelo HIV-1 pode ser alcançada através de sistemas de estudo *in vitro*. Estes sistemas poderão nos ajudar a mapear geneticamente

os determinantes de susceptibilidade ao HIV. É importante determinar que momentos do ciclo replicativo viral podem sofrer a maior influência das variações individuais entre os hospedeiros Ciuffi *et al.*, 2004¹⁴⁰. Uma abordagem para isto seria o emprego de vírus viáveis e vetores lentivirais em um estudo populacional para que as etapas polimórficas do ciclo viral possam ser identificadas. A variação no padrão de transcrição é tão importante quanto a variação total observada durante a entrada viral, o que deve levar a estudos mais detalhados dos genes que participam da ativação e manutenção da maquinaria de transcrição da célula Ganesh *et al.*, 2003⁷². Novos fatores celulares de atividade anti-viral estão sendo descritos engrossando a lista dos elementos celulares de defesa, como os interferons e as RNases Goff, 2003⁷³.

Perspectivas

Em resposta à pressão exercida pelo sistema imunológico ou pelos diferentes regimes anti-retrovirais, ocorre a seleção de mutações que proporcionam algum tipo de vantagem adaptativa ao HIV. Apesar dessa seleção ocorrer no paciente, alguns variantes virais podem se disseminar na população. A disseminação desses vírus depende de uma ampla gama de fatores relacionados ao vírus e ao hospedeiro. Estudos recentes estão mostrando a participação direta de vários genes celulares nas diferentes etapas do ciclo de vida do HIV. Esses trabalhos sugerem uma interação muito complexa entre o HIV e a célula hospedeira. No entanto, o entendimento dos principais fatores envolvidos na interação do HIV com os hospedeiros pode contribuir para a descoberta de novas estratégias terapêuticas ou profiláticas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- SCHLIEKELMAN, P.; GARNER, C.; SLATKIN, M. Natural selection and resistance to HIV. *Nature*, v.411, p. 545-546, 2001
- WOOLHOUSE, M. E. J.; Webster, J. P. In search of the red queen. *Parasitology Today*, v. 16, p. 506-508, 2000.
- KORBER, B. et al. Timing the ancestor of the HIV-1 pandemic strains. *Science*, v. 288, p. 1780-1796, 2000.
- Gao, F. et al. Origin of HIV-1 in the chimpanzee *Pan troglodytes troglodytes*. *Nature*, v. 397, p. 436-441, 1999.
- HILL, A. V. et al. Genetic analysis of host-parasite coevolution in human malaria. *Philos Trans R Soc Lond*, v. 352, p. 1317-1325, 1997.
- Leal, E. S.; Zanotto, P. M. A. Viral diseases and human evolution. *Mem Inst Oswaldo Cruz*, v. 95, Suppl 1, p. 193-200, 2000.
- STEARNS, S. C. *Evolution in Health and Disease. Tracing the origin and history of the HIV-2 epidemic*. Edited by Stephen C. Stearn. Oxford University Press, UK, 1999; pp.328.
- LEMEY, P. Tracing the origin and history of the HIV-2 epidemic. *Proc Natl Acad Sci*, 100(11):6588-92, 2003.
- CHAO, L.; LEVIN, B. R.; STEWART, F. A. A complex community in a single habitat: a experimental study with bacteria and phage. *Ecology*, v. 58, p. 369-378, 1977.
- LENSKY, R. E.; LEVIN, B. R. Constraints on coevolution of bacteria and virulent phage: a model, some experiments, and predictions for natural communities. *Am Nat*, v. 125, p. 585-602, 1985.
- SATTA, Y. et al. Intensity of natural selection at the major histocompatibility complex loci. *Proc Natl Acad Sci*, v. 91, p. 7184-7188, 1994.
- WOOLHOUSE, M. E. J. et al. Biological and biomedical implications of the co-evolution of pathogens and their hosts. *Nat Gen*, v. 32, p. 569-577, 2002.
- Charlesworth, D.; Wright, S. I. Breeding systems and genome evolution. *Curr Opin Genet Dev*. 2001 Dec;11(6):685-90. Review.
- LITTLE, T. J. The evolutionary significance of parasitism: do parasite-driven dynamics occur *ex silico*? *J Evol Biol*, v. 15, p. 1-9, 2002.
- Moore, C. B. et al. Evidence of HIV-1 adaptation to HLA-restricted immune responses at a population level. *Science*, v. 296, p. 1439-1442, 2002.
- Crandall, K. A. et al. Parallel evolution of drug resistance in HIV: Failure of nonsynonymous/synonymous substitution rate ratio to detected selection. *Mol Biol Evol*, v. 16, p. 371-382, 1999.
- Frost, S. D. W. et al. Evidence for positive selection driving the evolution of HIV-1 env under potent therapy. *Virology*, v. 284, p. 250-258, 2001.
- GRENFELL, B. T. et al. Unifying the epidemiological and evolutionary dynamics of pathogens. *Science*, v. 303, p. 327-332, 2004.
- Pybus, O. G. et al. An integrated framework for the inference of viral population history from reconstructed genealogies. *Genetics*, v. 155, p. 1429-1437, 2000.
- Rambaut, A. et al. The causes and consequences of HIV evolution. *Nat Genet*, v. 5, p. 52-61, 2004.
- CARRINGTON, M.; O'BRIEN, S. J. The influence of HLA genotype on AIDS. *Annu Rev Med*, v. 54, p. 535-551, 2003.
- SCHLIEKELMAN, P.; GARNER, C.; SLATKIN, M. Natural selection and resistance to HIV. *Nature*, v.411, p. 545-546, 2001.
- Gao, X. et al. Effect of a single amino acid change in MHC class I molecules on the rate of progression to AIDS. *N Engl J Med*, v. 344, p. 1668-1675, 2001.
- Carrington M., et al. HLA and HIV-1: Heterozygote advantage and B35-Cw4 disadvantage. *Science*, v. 283, p. 1748-1752, 1999.
- Gilbert, S. C. et al. Association of malaria parasite population structure, HLA, and immunological antagonism. *Science*, v. 279, p. 1173-1176, 1998.
- HILL, A. V. The immunogenetics of human infectious diseases. *Ann Rev Immunol*, v. 16, p. 593-617, 1998.
- Campos-Lima, P. O. et al. HLA-A11 epitope loss isolates of Epstein-Barr virus from a highly A11+ population. *Science*, v. 260, p. 98-100, 1993.
- Kelleher, A. D. et al. Clustered mutations in HIV-1 gag are consistently required for escape from HLA-B27 restricted CTL responses. *J Exp Med*, v. 193, p. 375-385, 2001.
- Price, D. A. et al. Positive selection of HIV-1 cytotoxic T lymphocyte escape variants during primary infection. *Proc Natl Acad Sci*, v. 94, p. 1890-1895, 1997.
- LESLIE, A.J., et al., Transmission and accumulation of CTL escape variants drive negative associations between HIV polymorphisms and HLA. *JEM V*. 201, p. 891-902, 2005.
- Yusim, K. et al. Clustering patterns of cytotoxic T-lymphocyte epitopes in human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) proteins reveal imprints of immune evasion on HIV-1 global variation. *J Virol*, v. 76, p. 8757-8768, 2002.

33. McAdam, S.; Gotch, F. The cytotoxic T lymphocytes response to the immunodeficiency viruses. In: DALGLEISH, A.; WEIS, R. (Ed.). HIV and the new viruses. London: Academic Press, 1999. p. 75-87.
34. Nájera, I. et al. Natural occurrence of drug resistance mutations in the reverse transcriptase of human immunodeficiency virus type 1 isolate. *Aids Res Hum Retrovir*, v. 10, p. 1479-1488, 1994.
35. HOLLAND, J. (Ed.). Origin and evolution of viruses. London: Academic Press, 1999a. p. 225-262.
36. Koup, R. A. et al. Temporal association of cellular immune responses with the initial control of viremia in primary human immunodeficiency virus type 1 syndrome. *J Virol*, v. 68, p. 4650-4655, 1994.
37. Rosenberg, E. S. et al. Vigorous HIV-1-specific CD4+ T cell responses associated with control of viremia. *Science*, v. 278, p. 1447-50, 1997.
38. Greenough, T. C. et al. Human immunodeficiency virus type 1-specific cytotoxic T lymphocytes (CTL), virus load, and CD4 T cell loss: evidence supporting a protective role for CTL in vivo. *J Infect Dis*, v. 76, p. 118-25, 1997.
39. Ogg, G. S. et al. Decay kinetics of human immunodeficiency virus-specific effector cytotoxic T lymphocytes after combination antiretroviral therapy. *J Virol*, v. 73, p. 797-800, 1999.
40. LIDSAY, J. et al. The immune response to viruses. In: KNIPE, D. M.; HOWLEY, P. R. (Ed.). *Fields Virology*. 4. ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2001. p. 285-320.
41. Klein, M. R.; Miedema, F. Long-term survivors of HIV-1 infection. *Trends Microbiol*, v. 10, p. 386-391, 1995.
42. Riviere, Y. et al. Gag-specific cytotoxic responses to HIV type 1 are associated with a decreased risk of progression to AIDS-related complex or AIDS. *AIDS Res Hum Retrov*, v. 11, p. 903-907, 1997.
43. Betts, M. R. et al. Human immunodeficiency virus type 1-specific cytotoxic T lymphocyte activity is inversely correlated with HIV type 1 viral load in HIV type 1-infected long-term survivors. *AIDS Res Hum Retrov*, v. 15, p. 1219-1228, 1999.
44. Goulder, P. et al. Co-evolution of human immunodeficiency virus and cytotoxic T-lymphocyte responses. *Immunol Rev*, v. 159, p. 17-29, 1997.
45. Hay, C. M. et al. Lack of viral escape and defective in vivo activation of human immunodeficiency virus type 1-specific cytotoxic T lymphocytes in rapidly progressive infection. *J Virol*, v. 73, p. 5509-5519, 1999.
46. Zhang, W. H. et al. Functional consequences of mutations in HIV-1 Gag p55 selected by CTL pressure. *Virology*, v. 203, p. 101-105, 1994.
47. JANEWAY, C. A. How the immune system works to protect the host from infection: A personal view. *Proc Natl Acad Sci USA*, v. 98, p. 7461-7468, 2001.
48. LITMAN, G. W.; ANDERSON, M. K.; RAST, J. P. Evolution of antigen binding receptors. *Annu Rev Immunol*, v. 17, p. 109-147, 1999.
49. Janeway, C. A.; Travers, P. *Immunobiology: The immune system in health and disease*. 2.ed. [S.l.]: Garland Publishing, 1997.
50. Clerici M, et al. Cell-mediated immune response to human immunodeficiency virus (HIV) type 1 in seronegative homosexual men with recent sexual exposure to HIV-1. *J Infect Dis*, v. 65, p. 1012-9, 1992.
51. Rowland-Jones, S. et al. HIV-specific cytotoxic T-cells in HIV-exposed but uninfected Gambian women. *Nat Med*, v. 1, p. 59-64, 1995. Erratum in: *Nat Med* 1995 Jun;1(6):598.
52. Furci, L. et al. Human immunodeficiency virus type 1 glycoprotein 120-specific T lymphocytes provide intermolecular help for anti-CD4 autoantibody production in exposed uninfected subjects. *AIDS Res Hum Retrovir*, v. 20, p. 1461-1469, 1997.
53. Mazzoli, S. et al. HIV-specific mucosal and cellular immunity in HIV-seronegative partners of HIV-seropositive individuals. *Nat Med*, v. 3, p. 1250-1257, 1997.
54. Deacon, N. J. et al. Genomic structure of an attenuated quasi species of HIV-1 from a blood transfusion donor and recipients. *Science*, v. 10, p. 988-991, 1995.
55. Kirchhoff, F. et al. Absence of intact nef sequences in a long-term survivor with nonprogressive HIV-1 infection. *N Engl J Med*, v. 332, p. 228-232, 1995.
56. Smith, M.W. et al. Contrasting genetic influence of CCR2 and CCR5 variants on HIV-1 infection and disease progression. Hemophilia Growth and Development Study (HGDS), Multicenter AIDS Cohort Study (MACS), Multicenter Hemophilia Cohort Study (MHCS), San Francisco City Cohort (SFCC), ALIVE Study. *Science*, v. 277, p. 959-965, 1997.
57. Collins, K.L. et al. HIV-1 Nef protein protects infected primary cells against killing by cytotoxic T lymphocytes. *Nature*, v. 391, p. 397-401, 1998.
58. Phillips, A. J. HIV dynamics: lessons from the use of antiretrovirals. In: DALGLEISH, A.; WEIS, R. (Ed.). HIV and the new viruses. London: Academic Press, 1999. p. 50-74.
59. Zaitseva, M. et al. Expression and function of CCR5 and CXCR4 on human Langerhans cells and macrophages: implications for HIV primary infection.
60. Kacani, L. et al. Dendritic cells transmit human immunodeficiency virus type 1 to monocytes and monocyte-derived macrophages. *J Virol*, v. 72, p. 6671-6677, 1998.
61. FINZI, D. et al. Latent infection of CD4+ T cells provides a mechanism for lifelong persistence of HIV-1, even in patients on effective combination therapy. *Nat Med*, v. 5, p. 512-517, 1999.
61. Shankarappa, R. et al. Consistent viral evolutionary changes associated with the progression of human immunodeficiency virus type 1 infection. *J Virol*, v. 73, p. 10489-10502, 1999.
63. WONG, J. K. et al. Recovery of replication-competent HIV despite prolonged suppression of plasma viremia. *Science*, v. 278, p. 1291-1295, 1997.
64. Kalam, S. A. et al. Longitudinal analysis of T cell receptor (TCR) gene usage by human immunodeficiency virus 1 envelope-specific cytotoxic T lymphocyte clones reveals a limited TCR repertoire. *J Exp Med*, v. 179, p. 1261-1271, 1994.
65. MCKINNEY, D. M. et al. The antiviral activity of HIV-specific CD8+ CTL clones is limited by elimination due to encounter with HIV-infected targets. *J Immunol*, v. 163, p. 861-867, 1999.
66. CHUN, T. W. et al. Re-emergence of HIV after stopping therapy. *Nature*, v. 401, p. 874-875, 1999.
67. YOSHIMURA, F. K. et al. Inpatient sequence variation of the gag gene of human immunodeficiency virus type 1 plasma virions. *J Virol*, v. 70, p. 8879-8887, 1996.
68. Jenkins, G. M. et al. Rates of molecular evolution in RNA viruses: a quantitative phylogenetic analysis. *J Mol Evol*, v. 54, p. 152-161, 2002.
69. TURELLI, P. et al. Cytoplasmic recruitment of IN1 and PML on incoming HIV preintegration complexes: interference with early steps of viral replication. *Mol Cell* 7, 1245-1254, 2001.
70. Hatzioannou, T. et al. Restriction of multiple divergent retroviruses by Lv1 and Ref1. *EMBO J*, 22, 385-394, 2003.
71. STREMLAU, M. et al. Species-specific variation in the B30.2 (SPRY) domain of TRIM5alpha determines the potency of human immunodeficiency virus restriction. *J Virol*, v. 5, p.3139-45. 2005.
72. Ganesh, L., et al. The gene product Murr1 restricts HIV-1 replication in resting CD4+ lymphocytes. *Nature*, 426, 853-857, 2003.
73. Goff, S.P. Death by deamination: a novel host restriction system for HIV-1. *Cell*, 114, 281-283, 2003.
74. Lee, K., Kewalramani, V.N., In defense of the cell: TRIM5alpha interception of mammalian retroviruses. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* v 101, 10496-10497, 2004.
75. HARRIS, R. S.; LIDDAMENT, M. T. Retroviral restriction by APOBEC proteins. *Nat Rev Immunol*, v.11:868-77, 2004.
76. JARMUZ, A., et al.. An anthropoid-specific locus of orphan C to U RNA-editing enzymes on chromosome 22. *Genomics* v.79 p.285-296, 2002.
77. BISHOP, K. N., et al. Cytidine Deamination of Retroviral DNA by Diverse APOBEC Proteins APOBEC3G is one member of the mammalian cytidine deaminase family. *Current Biology*, V. 14, p. 1392-1396, 2004.
78. LIDDAMENT, M. T. et al. APOBEC3F properties and hypermutation preferences indicate activity against HIV-1 in vivo. *Curr Biol*, v. 15 p. 1385-91, 2004.
79. WIEGAND, H. L. et al. A second human antiretroviral factor, APOBEC3F, is suppressed by the HIV-1 and HIV-2 Vif proteins. *EMBO J*, v. 12, p.2451-2458, 2004.
80. ZHENG, Y. H. et al. Human APOBEC3F is another host factor that blocks human immunodeficiency virus type 1 replication. *J Virol*, V. 11,p. 6073-6, 2004.
81. HONJO, T., et al., AID: How Does It Aid Antibody Diversity?. *Immunity*, V. 20, p. 659-668, 2004.
82. NEUBERGER, M. S. et al. Immunity through DNA deamination. *Trends in Biochemical Sciences* v.28, p. 305-312, 2003.
83. LECOSSIER, D., et al. Hypermutation of HIV-1 DNA in the absence of the Vif protein. *Science* v. 300, p. 1112, 2003.
84. MANGEAT, B., et al., Broad antiretroviral defense by human Apobec3G through lethal editing of nascent reverse transcripts. *Nature* v.424, p.99-103, 2003.
85. ZHANG, H. et al. The cytidine deaminase CEM15 induces hypermutation in newly synthesized HIV-1 DNA. *Nature* v.424, p.94-98, 2003.
86. Harris, R.S., et al. DNA deamination mediates innate immunity to retroviral infection. *Cell* 2003. 113, 803-809.
87. PATHAK, V.K.; TEMIN, H. M. Broad spectrum of in vivo forward mutations, hypermutations, and mutational hotspots in a retroviral shuttle vector after a single replication cycle: substitutions, frameshifts, and hypermutations. *Proc Natl Acad Sci V*, 87, p. 6019-6023, 1990.
88. JANINI, M., et al. Human immunodeficiency virus type 1 DNA sequences genetically damaged by hypermutation are often abundant in patient peripheral blood mononuclear cells and may be generated during near-simultaneous infection and activation of CD4(+) T cells. *J. Virol*, V.75, p. 7973-7986, 2001.
89. SUSPÈNE, R. et al., Extensive editing of both hepatitis B virus DNA strands by APOBEC3 cytidine deaminases in vitro and in vivo. *Proc Natl Acad Sci* v. 102 p. 8321-8326, 2005.

90. Li, Y. et al. Molecular characterization of human immunodeficiency virus type 1 cloned directly from uncultured human brain tissue: identification of replication-competent and -defective viral genomes. *J. Virol.* V. 65, p. 3973-3985, 1991.
91. PELLETIER, E., et al.. The tempo and mode of SIV quasispecies development in vivo calls for massive viral replication and clearance. *Virology*
92. SHEEHY, A. M., Gaddis, N. C., Choi, J. D. & Malim, M. H. Isolation of a human gene that inhibits HIV-1 infection and is suppressed by the viral Vif protein. *Nature* v.418, p.646-650, 2002. *Nat Med*, v. 3, p. 1369-1375, 1997.
93. SCHUMACHER, A. J., et al. APOBEC3G hypermutates genomic DNA and inhibits Ty1 retrotransposition in yeast. *Proc Natl Acad Sci* v. 102, p. 9854 – 9859, 2005.
94. YAMANAKA, S., et al. Apolipoprotein B mRNA-Editing Protein Induces Hepatocellular Carcinoma and Dysplasia in Transgenic Animals. *Proc Natl Acad Sci* V. 92, p. 8483-8487, 1995.
95. CONTICELLO, S. G., et al., Evolution of the AID/APOBEC Family of Polynucleotide (Deoxy)cytidine Deaminases. *Mol. Biol. Evol.* v. 22, p.367–377. 2005.
96. GU J, GU X. Induced gene expression in human brain after the split from chimpanzee. *Trends Genet.* v. 19: p.63–65, 2003.
97. OHNO S, 1970 Evolution of gene duplication. Springer-Verlag, Berlin.
98. ZHANG, J, WEEB, D. M. Rapid evolution of primate antiviral enzyme APOBEC3G. *Human Molecular Genetics*, V. 13, p.1785–1791, 2004.
99. SAWYER, S.L.; et al. Ancient adaptive evolution of the primate antiviral DNA-editing enzyme APOBEC3G. *PLoS Biol* v.2 e275, 2004.
100. ESNAULT, C. et al., APOBEC3G cytidine deaminase inhibits retrotransposition of endogenous retroviruses *Nature* V. 433, p.430, 2005.
101. HOLMES, E.C. Adaptation and Immunity. *PLoS Biol* 2(9): e307, 2004
102. AN, P. et al. APOBEC3G Genetic Variants and Their Influence on the Progression to AIDS. *J. Virol.* p. 11070–11076 v. 78. 2004.
103. Bebenek, K. et al. Specificity and mechanism of error-prone replication by human immunodeficiency virus-1 reverse transcriptase. *J Biol Chem*, v. 264, p. 16948-16956, 1989.
104. Jung, A. et al. Recombination in multiply infected spleen cells in HIV patients. *Nature*, v. 418, p. 144, 2002.
105. Mansky, L. M.; Temin, H. M. Lower in vivo mutation rate of human immunodeficiency virus type 1 than that predicted from the fidelity of purified reverse transcriptase. *J Virol*, v. 69, p. 5087-5094, 1995.
106. Chun, T. W. et al. Presence of an inducible HIV-1 latent reservoir during highly active antiretroviral therapy. *Proc Natl Acad Sci USA*, v. 94, p. 13193-13197, 1997.
107. Fleury, S. et al. Long-term kinetics of T cell production in HIV-infected subjects treated with highly active antiretroviral therapy. *Proc Natl Acad Sci USA*, v. 97, p. 5393-5398, 2000.
108. Lewin, S. R. et al. Use of real-time PCR and molecular beacons to detect virus replication in human immunodeficiency type 1-infected individuals on prolonged effective antiretroviral therapy. *J Virol*, v. 73, p. 6099-6103, 1999.
109. Novak, M. HIV mutation-rate. *Nature*, v. 347, p. 522, 1999.
110. Domingo, e. et al. Viral quasispecies and fitness variations. In: DOMINGO, E.; WEBSTER, R.; HOLLAND, J. (Ed.). *Origin and evolution of viruses*. London: Academic Press, 1999, p. 148-150.
111. Sansom, c.; wlodawer, A. Drugs targeted at HIV-Successes and resistance In: RODRIGO, A. G.; LEARN JR., G. H. (Ed.). *Computational and evolutionary analysis of HIV molecular sequences*. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 1999, p. 269-286.
112. Wainberg, M. A. HIV resistance to antagonists of viral reverse transcriptase X.ed. In: DALGLEISH, A.; WEIS, R. (Ed.). *HIV and the new viruses*. London: Academic Press, 1999, p. 223-249.
113. Weller, i. v. d. The impact of antiviral therapy on HIV disease. In: DALGLEISH, A.
114. Ribeiro, R. M.; Bonhoeffer, S. Production of resistant HIV mutants during antiretroviral therapy. *Proc Natl Acad Sci*, v. 99, p. 15572-15577, 2002.
115. Richman, D. et al. Human immunodeficiency virus type 1 mutants resistant to nonnucleoside inhibitors of reverse transcriptase arise in tissue culture. *Proc Natl Acad Sci*, v. 88, p. 11241-11245, 1991.
116. Back, N. K. et al. Reduced replication of 3TC-resistant HIV-1 variants in primary cells due to a processivity defect of the reverse transcriptase enzyme. *EMBO J*, v. 15, p. 4040-4049, 1996.
117. Sharma, P. L.; Crumpacker, C. S. Attenuated replication of human immunodeficiency virus type 1 with a didanosine-selected reverse transcriptase mutation. *J Virol*, v. 71, p. 8846-8851, 1997.
118. SILVA W.P. et al., Reactivation of ancestral strains of HIV-1 in the gp120 V3 env region in patients failing antiretroviral therapy and subjected to structured treatment interruption. *Virology*. 2006 [no prelo]
119. Rouzine, I.; Coffin, J. M. Interplay between experimental and theory in development of a working model for HIV-1 population dynamics. In: DOMINGO, E.; WEBSTER, R.;
120. Blower, S. M. et al. A tale of two futures: HIV and antiretroviral therapy in San Francisco. *Science*, v. 287, p. 650-654, 2000.
121. Gomez-Cano, M. et al. Prevalence of drug resistance mutations over time in naïve HIV-1 positive subjects living in Spain. *AIDS*, v. 12, p. 1015-1020, 1998.
122. Larder, B. A. et al. HIV with reduced sensitivity to zidovudine isolated during prolonged therapy. *Science*, v. 243, p. 1731-1734, 1989.
123. Moore, R. D. et al. Zidovudine and the natural History of the acquired immunodeficiency syndrome. *N Engl J Med*, v. 324, p. 1412-1412, 1991.
124. Boyer, P. L. et al. A mutation at position 190 of human immunodeficiency virus type 1 reverse transcriptase interacts with mutations at positions 74 and 75 via template primer. *Antimicrob Agents Chemother*, v. 42, p. 447-452, 1998.
125. Kleim, J. P. et al. Selective pressure of a quinoxaline nonnucleoside inhibitor of human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) reverse transcriptase (RT) on HIV-1 replication results in the emergence of nucleoside RT-inhibitor-specific (RT Leu-74 Val or Ile and Val-75 Leu or Ile) HIV-1 mutants. *Proc Natl Acad Sci USA*, v. 93, p. 34-38, 1996.
126. MaMMano, F. et al. Resistance-associated loss of viral fitness in human analysis of protease and gag coevolution in protease inhibitor-treated patients. *J Virol*, v. 72, p. 7632-7637, 1998.
127. Rouzine, I.; Coffin, J. M. Linkage disequilibrium test implies a large effective population number for HIV in vivo. *Proc Natl Acad Sci*, v. 96, p. 10758-10763, 1999b.
128. Haase, A. T. et al. Quantitative image analysis of HIV-1 infection in lymphoid tissue. *Science*, v. 274, p. 985-989, 1996.
129. Leigh Brown, A. J. et al. Analysis of HIV-1 env gene sequences reveals evidence for a low effective number in the viral population. *Proc Natl Acad Sci USA*, v. 94, p. 1862-1865, 1997.
130. Perelson, A. S. et al. HIV-1 dynamics in vivo: virion clearance rate, infected cell life-span, and viral generation time. *Science*, v. 271, p. 1582-1586, 1996.
131. Holmes, E. C.; Zlotoff, P. M. A. Genetic drift of human immunodeficiency virus type 1? *J Virol*, v. 72, p. 886-887, 1998.
131. WEIS, R. (Ed.). *HIV and the new viruses*. London: Academic Press, 1999, p. 189-206.
132. Leigh Brown, A. J.; Richman, D. D. HIV-1: Gambling on the evolution of drug resistance? *Nat Med*, v. 3, p. 268-271, 1997.
133. Leigh Brown, A. J. Viral evolution and variation in the HIV pandemic. In: DALGLEISH, A.; WEIS, R. (Ed.). *HIV and the new viruses*. London: Academic Press, 1999.
134. Leal, E. S.; Holmes, E. C.; Zlotoff, P. M. A. Distinct patterns of natural selection in the reverse transcriptase gene of HIV-1 in the presence and absence of antiretroviral therapy. *Virology*. 325: 181-191, 2004.
135. LEIGHBROWN, A. J. et al. Reduced susceptibility of human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) from patients with primary HIV infection to nonnucleoside reverse transcriptase inhibitors is associated with variation at novel amino acid sites. *J Virol*, v. 74, p. 10269-10273, 2000.
136. Morris, A. et al. Mosaic structure of the human immunodeficiency virus type 1 genome infecting lymphoid cells and the brain: Evidence for frequent in vivo recombination events in the evolution of regional populations. *J Virol*, v. 73, p. 8720-8731, 1999.
137. WILLIAMS, L. M.; CLOYD, M. W. Polymorphic human gene(s) determines differential susceptibility of CD4 lymphocytes to infection by certain HIV-1 isolates. *Virology*, 1991, 184(2):723-8.
138. SPIRA, A. I.; HO, D. D. Effect of different donor cells on human immunodeficiency virus type 1 replication and selection in vitro. *J Virol*, ;69(1):422-9, 1995.
139. EISERT, V. et al. Analysis of cellular factors influencing the replication of human immunodeficiency virus type I in human macrophages derived from blood of different healthy donors. *Virology*; 286, 31–44, 2001.
140. CIUFFI, A. et al. Entry and transcription as key determinants of differences in CD4 T-cell permissiveness to human immunodeficiency virus type 1 infection. *J Virol*, v. 78(19):10747-54, 2004.
141. CHANG, J. et al. Twin studies demonstrate a host cell genetic effect on productive human immunodeficiency virus infection of human monocytes and macrophages in vitro. *J. Virol.* V. 70, 7792–7803, 1996.
142. NAIF, H.M., et al. Definition of the stage of host cell genetic restriction of replication of human immunodeficiency virus type 1 in monocytes and monocyte-derived macrophages by using twins. *J. Virol* v. 73, 4866–4881, 1999.
143. GAO, G., et al. Inhibition of retroviral RNA production by ZAP, a CCCH-type zinc finger protein. *Science*, 297, 1703-1706, 2002.
144. BUTTICAZ, C. Protection from HIV-1 infection to primary CD4 T cells by CCR5 silencing is effective for the full spectrum of CCR5 expression. *Antivir. Ther* v. 8, 373-377, 2003.

DESTAQUES DO XV INTERNATIONAL HIV DRUG RESISTANCE WORKSHOP, SITGES, ESPANHA

Por Ricardo Sobhie Diaz

Prevalência de resistência primária

Assume-se que a transmissão de cepas de HIV-1 resistentes a anti-retrovirais poderia comprometer o tratamento inicial destes pacientes. Nesta reunião, vários estudos foram apresentados sendo que em média, 10% das pessoas com infecção recente nos EUA e Europa ocidental apresentam HIV com mutações de resistência que confeririam resistência a pelo menos um anti-retroviral, como apresentado na tabela 1, abaixo. Obviamente, o impacto da resistência primária neste grupo de indivíduos ocorrerá em média daqui a dez anos, quando estes pacientes tiverem indicação de tratamento com anti-retroviral (se as diretrizes atuais que sugerem o tratamento quando houver uma diminuição de CD4 forem mantidas).

Tabela 1. Prevalência de resistência primária do HIV-1 aos anti-retrovirais.

Autor	Local	N	ITRN	ITRNN	IP	Qualquer	Anos
Wensing ⁽⁶⁾	Europa	1083	5%	3%	3%	9%	2002-2003
Garcia-Diaz ⁽⁴⁾	Londres	239	4%	2%	1%	7%	2004-2005
Oelte ⁽³⁾	Alemanha	831	5%	3%	2%	9%	2001-2005
Yerly ⁽⁵⁾	Suíça	691	3-12%	0%-7%	0%-5%	8%	1996-2005
Little ⁽⁷⁾	EUA/Australia	1191	3%	11%	3%	13%	2000-2006
Ross ⁽¹⁾	EUA	1795	4%	6%	3%	10%	2000-2004
Eshleman ⁽²⁾	EUA	195	9%	7%	2%	16%	1999-2003
Bennett ⁽⁸⁾	Chicago	66	15%	12%	3%	25%	2003-2005
	Los Angeles	73	14%	11%	2%	20%	2003-2005
Truong ⁽⁹⁾	SF-DST	54	5%	5%	0	9%	2004
	SF-PHIV	48	4%	0%	5%	10%	2004

SF-PHI = São Francisco, infecção primária pelo HIV; SF-DST = São Francisco, clínica de doenças sexualmente transmissíveis.

Os estudos de vigilância que têm sido conduzidos desde 1990 identificam 3 ondas diferentes de transmissão de vírus resistentes aos anti-retrovirais. A primeira onda ocorreu antes de 2000 revelando até 20% de resistência, sendo esta composta principalmente de vírus com mutações de resistência aos ITRN. Nestes casos, as mutações seriam principalmente as mutações aos análogos timidínicos (TAM) e a mutação do 3TC, a M184V, provavelmente representando o uso de monoterapia, terapia dupla e terapia seqüencial ao qual os pacientes foram submetidos. De 2000 a 2005 observou-se um aumento de resistência primária aos ITRNN decorrente do uso de efavirenz e nevirapina. Entretanto, a tendência em futuro próximo pode ser a presença de vírus multi-resistentes na resistência primária. Além disto, neste congresso, um estudo francês relatou o primeiro caso de transmissão de vírus resistente a enfuvirtida⁽¹⁰⁾. Neste estudo foram testados 56 indivíduos com infecção recente procedentes da região sul da França entre 2004 e 2005. A prevalência de resistência primária foi de 16,4% e dois pacientes (3,6%) apresentaram mutações relacionadas à resistência à enfuvirtida na região gp41 do gene do envelope do HIV (mutações N42D em um indivíduo e G36D em outro). O primeiro indivíduo adquiriu um vírus resistente a múltiplas drogas de seu parceiro sexual e o outro indivíduo não apresentava nenhuma resistência além da mutação à enfuvirtida.

Patogenicidade e fitness do HIV e mutações relacionadas aos anti-retrovirais.

Os pacientes com resistência a enfuvirtida que continuam recebendo a droga, normalmente mantêm ou aumentam a contagem de CD4 a despeito da falha virológica⁽¹¹⁾. Um estudo deste congresso demonstrou que pacientes com a mutação de resistência no códon 38 da gp41 continuaram a apresentar aumento da contagem de CD4 a despeito da falha virológica. Este fato não ocorreu entre pacientes com mutações de resistência nos codons 40 ou 43⁽¹²⁾. Mais interessante, o aumento de CD4 parece não ter nenhuma relação com os níveis de carga viral nestes casos. Especula-se então que deve estar ocorrendo uma redução da patogenicidade do vírus relacionada à mutação no códon 38.

Resistência em vírus submetidos à IP com ritonavir.

Pacientes previamente virgens de tratamento e falhando a esquemas contendo IP incrementados por ritonavir aparentemente não desenvolvem ou desenvolvem muito raramente mutações na protease. Foi apresentado o estudo MONARK sobre uso de Lopinavir-r em monoterapia⁽¹³⁾. Neste estudo 136 indivíduos previamente não expostos a anti-retrovirais foram randomizados para receber ZDV/3TC e lopinavir-r ou lopinavir-r em monoterapia. Depois de uma média de seguimento de 64 semanas, 24 indivíduos (3 no braço recebendo esquema triplo e 21 no braço recebendo monoterapia) apresentaram episódios de viremia e foram submetidos a testes de resistência. Somente 2 indivíduos no braço da monoterapia apresentaram (poucas) mutações relacionadas a resistência. Em outro estudo conhecido como M03-613⁽¹⁴⁾, 92 indivíduos adquiriram supressão viral pelo uso de ZDV/3TC/lopinavir-r por um período superior a 24 semanas e alteraram seu esquema para lopinavir-r em monoterapia. Após um seguimento superior a 56 semanas, 9 (10% apresentaram falha virológica, sendo que somente dois deles desenvolveram mutações de resistência na protease.

Foi também investigado o impacto das mutações diferentes que causam resistência aos inibidores de protease incrementados com ritonavir, especialmente o atazanavir e saquinavir⁽¹⁵⁾. Usando a metodologia de *bootstrap*, os autores refinaram a interpretação para prever o impacto das mutações em relação à diminuição da carga viral na 12ª semana de tratamento em pacientes experimentados. Para o atazanavir, 13 mutações foram associadas a menor resposta ao tratamento, sendo estas as mutações nas posições 10, 16, 33, 46, 54, 60, 62, 71, 82, 84, 85, 90, e 93 da protease⁽¹⁶⁾. Usando-se uma metodologia para mensuração do impacto destas mutações, foi definido que a maior importância ficou restrita às mutações nos codons 16 > 60 > 84 > 33 nesta decrescente ordem de impacto. Com relação à associação saquinavir-ritonavir, foram determinadas 12 mutações relacionadas à perda de susceptibilidade ao tratamento entre pacientes experimentados; as mutações nas posições 10, 15, 20, 24, 46, 54, 62, 71, 73, 82, 84 e 90 da região da protease⁽¹⁷⁾. Usando a metodologia para mensuração do impacto destas mutações ficou definido que as mutações nas posições 84 > 24 > 90 > 20 teriam a maior importância, também de acordo com esta ordem decrescente.

Os dados do estudo RESIST que avaliaram o desempenho do Tipranavir, serviu para definição de cut-offs clínicos para a fenotipagem de diversos IP em análise realizada pelos pesquisadores da Virologic⁽²⁰⁾. Com relação ao Tipranavir, sabe-se que 16 posições na protease estariam relacionadas a resistência a esta droga, sendo que as mutações de maior impacto foram definidas como as 54V, 82T, 47V e 84V. Aparentemente, as mutações de menor impacto seriam as 46L, 10V, 13V e 20M. Por outro lado, a mutação I50V parece ser deselecionada, ou seja, o vírus retorna ao tipo selvagem nesta posição quando submetido ao tipranavir. Além disto existe uma maior resposta ao Tipranavir-r em presença desta mutação.

Tabela 4. Cut-off* clínico de IP com incremento do ritonavir de acordo com o teste Monogram(40)

IP	Inferior	Superior
Ampronavir	4	11.5
Indinavir	5.2	20
Lopinavir	9	55
Saquinavir	2.3	12
Tipranavir	2	8

Referências

1. Ross L, Florance A, Wine B, et al. Prevalence of HIV-1 drug resistance-associated mutations in a large cohort of antiretroviral therapy naive HIV-infected individuals in the United States from 200-2004. Abstracts of the XV International Drug Resistance Workshop; June 13-17, 2006; Sitges, Spain. Abstract 107.
2. Eshleman S, Husnik M, Hudelson S, et al. Analysis of antiretroviral drug resistance and HIV-1 subtype among men who have sex with men recently infected with HIV-1 in the United States: the EXPLORE study. Abstracts of the XV International Drug Resistance Workshop; June 13-17, 2006; Sitges, Spain. Abstract 109.
3. Oelte M, Kaiser R, Daumer M, et al. Trends in drug resistance in chronically HIV-infected patients in Germany, 2001-2005. Abstracts of the XV International Drug Resistance Workshop; June 13-17, 2006; Sitges, Spain. Abstract 112.
4. Garcia-Diaz A, Booth C, Nebbia G, Chawla A, Johnson M, Geretti AM. Transmitted drug resistance clusters with the infecting HIV-1 subtype: a single centre analysis of all new HIV-1 diagnoses in London. Abstracts of the XV International Drug Resistance Workshop; June 13-17, 2006; Sitges, Spain. Abstract 113.
5. Yerly S, von Wyl V, Boni J, et al. Transmission of HIV-1 drug resistance in Switzerland: a 10-year molecular epidemiology. Abstracts of the XV International Drug Resistance Workshop; June 13-17, 2006; Sitges, Spain. Abstract 105.
6. Wensing AM, Vercauteren J, van de Vijver D, et al. Transmissão de drug resistance in Europe is characterized by single mutations and revertants. Abstracts of the XV International Drug Resistance Workshop; June 13-17, 2006; Sitges, Spain. Abstract 98.
7. Little S, May S, Hecht F, et al. Increase in transmitted NNRTI drug resistance among recently HIV-infected patients from North America and Australia. Abstracts of the XV International Drug Resistance Workshop; June 13-17, 2006; Sitges, Spain. Abstract 97.
8. Bennett D, Smith A, McCormick L, et al. Categorization of transmitted HIV drug resistance using the WHO/CDC HIV drug resistance threshold survey method. Abstracts of the XV International Drug Resistance Workshop; June 13-17, 2006; Sitges, Spain. Abstract 103.
9. Truong H, Klausner J, Hecht F, Grant R. Reduced levels of primary resistance to nRTIs in San Francisco is discernible using two independent sentinel populations. Abstracts of the XV International Drug Resistance Workshop; June 13-17, 2006; Sitges, Spain. Abstract 102.

-
10. Peuchant O, Capdepon S, Ragnaud J, et al. Primary resistance to enfuvirtide in recently infected, antiretroviral-naive patients. Abstracts of the XV International Drug Resistance Workshop; June 13-17, 2006; Sitges, Spain. Abstract 95.
 11. Poveda E, Rodes B, Labernardiere JL, et al. Evolution of genotypic and phenotypic resistance to enfuvirtide in HIV-infected patients experiencing prolonged virological failure. *J Med Virol.* 2004;74:21-28.
 12. Melby T, De Spirito M, De Masi R, et al. Impact of enfuvirtide resistance genotype on CD4 increases in patients with ongoing viral replication while receiving enfuvirtide. Abstracts of the XV International Drug Resistance Workshop; June 13-17, 2006; Sitges, Spain. Abstract 35.
 13. Norton M, Delaugere C, Batot G, Delfraissy J, Rouzioux C. Drug resistance outcomes in a trial comparing lopinavir/ritonavir monotherapy to LPV/r + zidovudine/lamivudine (MONARK trial). Abstracts of the XV International Drug Resistance Workshop; June 13-17, 2006; Sitges, Spain. Abstract 74.
 14. Hackett J, Holzmayer V, Marlowe N, et al. Selection of PI resistance mutations during virological failure of LPV/r monotherapy in an induction-maintenance study. Abstracts of the XV International Drug Resistance Workshop; June 13-17, 2006; Sitges, Spain. Abstract 75.
 15. Flandre P, Marcelin AG, Soriano V, Yerly S, Katlama C, Calvez V. A method to estimate the weights for mutations within genotypic resistance scores: application to atazanavir and saquinavir. Abstracts of the XV International Drug Resistance Workshop; June 13-17, 2006; Sitges, Spain. Abstract 167.
 16. Vora S, Marcelin AG, Gunthard H, et al. Clinical validation of atazanavir/ritonavir genotypic score in protease inhibitor-experienced patients. *AIDS.* 2006;20:35-40.
 17. Marcelin AG, Flandre P, de Mendoza C, et al. Interpretation of genotype for resistance to boosted saquinavir in HIV-1-infected PI-experienced patients. 4th European HIV Drug Resistance Workshop; March 29-31, 2006; Monte Carlo, Monaco. Abstract 56.
 18. Coakley E, Chappey C, Flandre P, et al. Defining lower and upper phenotypic clinical cut-offs for tipranavir, lopinavir, saquinavir and amprenavir co-administered with ritonavir within the RESIST dataset using the Phenosense assay (monogram BioSciences). Abstracts of the XV International Drug Resistance Workshop; June 13-17, 2006; Sitges, Spain. Abstract 71.

Roberto José Carvalho da Silva

Prevalência da infecção pelo Papilomavírus Humano (HPV) em homens soropositivos para HIV e homens parceiros de mulheres com infecção pelo HPV.

São Paulo, 2006, 99 p

Dissertação (Mestrado)

Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

Resumo

O Papilomavírus humano (HPV) é provavelmente o agente mais prevalente das doenças sexualmente transmissíveis do trato genital. Este estudo foi realizado para comparar as prevalências de HPV nos 144 raspados penianos de homens HIV positivos e negativos. Utilizou PCR PGMY09/11 e hidridização em pontos. A prevalência de HPV nos indivíduos HIV positivo foi de 59% e no HIV negativo de 67%. A lesão acetobranca pela peniscopia não demonstrou significativa positividade para HPV. Pacientes HIV positivo mostraram múltiplos tipos de HPV e os tipos oncogênicos (16/18) foram os de maior frequência. Os HPV tipo 6/11 foram os mais frequentes nos dois grupos. Observou-se maior prevalência de HPV nos HIV positivos com linfócitos T CD4 menor que 200 células/mm³. A carga viral plasmática do HIV não foi um fator de positividade para HPV.

Paula Jayme de Araujo

Estudo das características relacionadas à falha no retorno para aconselhamento pós-teste e entrega de resultado de HIV no Centro de Testagem e Aconselhamento Betinho

São Paulo, 2006, 94 p

Dissertação (Mestrado)

Resumo

Os Centros de Testagem e Aconselhamento (CTA) disponibilizam a testagem para o HIV e o aconselhamento. Alguns pacientes não retornam para pegar o resultado. Investigou-se características associadas a “falha no retorno” (FNR) no CTA-Betinho, em 2003 e 2004. Conduziu-se um estudo observacional transversal. A FNR foi de 19,4% (n=548). Foram associadas a FNR: faixa etária; faixa etária adolescente; origem do cliente; tipo de orientação; primeiro teste no CTA; CTA-Itinerante; tempo de espera do resultado e tempo de espera maior que 30 dias; resultado HIV reagente. Após análise multivariada, permaneceram: faixa etária adolescente; CTA-Itinerante; tempo de espera do resultado maior que 30 dias; resultado HIV reagente. Aspectos de vulnerabilidade estariam contribuindo para FNR. Procedimentos implantados no CTA poderiam diminuir a FNR. Os resultados condizem com a literatura internacional.

Roberto da Justa Pires Neto

Análise do teste de resistência genotípica do HIV-1 como método auxiliar na terapia anti-retroviral de resgate em condições reais de assistência.

Ribeirão Preto, 2006, 122 p + anexos

Tese (Doutorado)

Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto – USP

Resumo

A infecção pelo HIV /aids é um dos mais importantes problemas de saúde pública em todo o mundo. Além do enorme contingente de portadores oficialmente notificados, milhões de indivíduos no mundo convivem com o HIV de forma assintomática, muitos destes sem conhecer seu estado de portador. O HIV apresenta grande heterogeneidade biológica devido ao fato de o mesmo possuir genoma com elevado potencial de variabilidade, foco de atenção de pesquisadores no mundo todo. Apesar dos significativos avanços no combate a aids, obtidos com o advento da terapia anti-retroviral, limitações existem e novos problemas surgiram. Dentre eles, a emergência de cepas virais resistentes aos medicamentos anti-retrovirais que surge a partir de mutação única ou acúmulo de mutações nos genes da transcriptase reversa e/ou protease. A resistência do HIV às drogas anti-retrovirais representa preocupante ameaça ao sucesso no controle da infecção pelo HIV obtido com a terapia anti-retroviral. Esta ameaça forçou pesquisadores a desenvolverem métodos laboratoriais capazes de detectar a presença de resistência do HIV a uma determinada droga. Estes métodos são denominados de testes de resistência do HIV aos anti-retrovirais. O objetivo deste estudo foi avaliar, em condições reais de assistência, o emprego do teste de resistência genotípica do HIV-1 como método auxiliar na terapia anti-retroviral de resgate de pacientes em situação de falha à essa terapia. Foram avaliados 112 portadores do HIV-1 em situação de falha terapêutica. Parte destes pacientes foi submetida a resgate terapêutico guiado por teste de resistência genotípica do HIV-1. Verificou-se que a disponibilização de teste de resistência genotípica do HIV-1 para a rede pública foi viável, sendo o teste utilizado de forma ampla e universal e atendendo a critérios estabelecidos. O acesso ao teste de resistência genotípica do HIV-1 foi, de maneira geral, satisfatório e auxiliou na terapia de parcela significativa de pacientes portadores de infecção pelo HIV/aids, possibilitando tratamento de resgate mais adequado. O acesso ao teste de resistência genotípica do HIV-1 na rede pública foi, em parte, comprometido pela demora entre a solicitação e a liberação do resultado final. O perfil de resistência do HIV-1 às drogas anti-retrovirais foi variável e esteve relacionado com o grau de exposição prévia. Sexo mascu-

lino, antecedente de boa adesão à terapia anti-retroviral, uso prévio de até quatro drogas e não-exposição prévia às drogas da classe dos inibidores da transcriptase reversa não-análogos de nucleosídeos foram fatores relacionados a uma melhor resposta à terapia anti-retroviral de resgate guiada por teste de resistência genotípica do HIV-1. Em estudo comparativo, a terapia de resgate guiada por teste de resistência genotípica do HIV não foi superior à terapia de resgate convencional do ponto de vista da durabilidade. Estratégias devem ser desenvolvidas para o uso mais racional do teste de resistência genotípica do HIV-1 na rede pública.

Renato Ferreira de Freitas

Estudo computacional da interação entre inibidores não nucleosídeos da transcriptase reversa do vírus HIV-1 com aminoácidos do sítio inibitório

Ribeirão Preto, 2006, 127 p + anexos

Dissertação (Mestrado)

Faculdade de Filosofia Ciências e Letras de Ribeirão Preto - USP

Resumo

Os inibidores não nucleosídeos da transcriptase reversa (NNRTI) são substâncias que são usadas no combate ao vírus HIV (Vírus da Imunodeficiência Humana). Quando essas moléculas se ligam a RT elas promovem uma mudança conformacional nessa enzima tomando o sítio ativo catalítico inativo. Embora os NNRTI representem um importante componente da quimioterapia anti-HIV, sua utilidade clínica está ameaçada pela emergência de vírus que apresentam mutações que os tornam resistentes aos NNRTI. Por exemplo, com a mutação Y181C a RT se torna resistente ao inibidor 9 CI- TIBO, pertencente a classe dos NNRTI. A perda de interações do tipo 'pi'-'pi' stacking é apontada como uma das razões para o surgimento de resistência da enzima RT frente aos NNRTI. Embora estas interações exerçam um papel relevante na ação de um inibidor, não existem estudos que buscam analisá-las baseada na mecânica quântica. Em virtude desse fato, o objetivo desse trabalho é empregar as potencialidades do uso das técnicas que analisam a função de onda, como orbitais naturais de ligação (NBO), análise populacional natural (NPA) e a densidade eletrônica, através do método AIM (átomos em moléculas), para obter uma compreensão aprofundada das interações estabilizadoras ou desestabilizadoras entre um NNRTI e os aminoácidos do sítio alostérico em contato com o inibidor. Foi escolhida para esse estudo inibidores da classe TIBO, pois essa classe de moléculas têm sido objeto de estudo em nosso laboratório, onde já foi feita a sua análise conformacional e um estudo

QSAR-3D. Além disso, essas substâncias encontram-se complexadas com a enzima HIV-1 RT selvagem e também com essa enzima mutante (Y181C). Uma terceira estrutura cristalina usada no estudo foi a do inibidor 9 CI- TIBO. Com isso as propostas desse trabalho foram: i) elucidar quais os tipos de interações não covalentes que ocorrem entre o inibidor TIBO e os aminoácidos do seu sítio ativo; ii) quais as possíveis causas da perda de atividade com a mutação Y181C; iii) tentar apontar qual a razão da maior atividade do inibidor 8 CI-TIBO frente ao 9 CI- TIBO. Para cumprir esses objetivos foi realizada a análise geométrica, da função de onda, utilizando os métodos NBO, NPA e da densidade eletrônica empregando o método AIM, assim como, a análise da energia de interação de inibidores da família TIBO com os aminoácidos Y181 (C181), K101, Y188 e H235. A análise geométrica dos monômeros TIBO revelou que os dois inibidores (8 e 9 CI-TIBO) apresentam conformações diferentes. Pelos métodos NBO e AIM foi verificada a existência de interações do tipo C-H...S e C-H...Cl na 8 CI-TIBO. Apenas a primeira interação foi observada no inibidor 9 CI-TIBO, o que dá a esta molécula uma maior liberdade conformacional. Além disso, a sobreposição da estrutura dos dímeros TIBO/Y188 revelou que a distância entre o inibidor 8 CI- TIBO e o aminoácido Y188 (M) é a mais curta. A análise NBO e AIM das interações intermoleculares dos dímeros TIBO/Y181 (C181) e TIBO/Y188 demonstraram que as interações dos inibidores com os aminoácidos são estabilizadas por interações hidrofóbicas do tipo van der Waals, além de ligações de hidrogênio fracas do tipo C-H...N e C-H...O. Os dímeros 8 CI-TIBO/H235 apresentam apenas uma ligação de hidrogênio fraca do tipo C-H...O. A interação dos dímeros TIBO/K101 é estabilizada, de acordo com as análises NBO e AIM, por duas ligações de hidrogênio do tipo N-H...O e N-H...S. A primeira interação tem sido descrita em vários trabalhos, mas é a primeira vez que segunda é reportada. A análise NPA e a soma das energias eletrônicas de estabilização, 'sigma''delta'E POT. (2)', ambas obtidas pelo método NBO, juntamente com o valor da densidade no BCP (ponto crítico de ligação), oriunda do método AIM, indicam que a mutação Y181C afeta a interação do inibidor não somente com o aminoácido na posição em que ela ocorre, mas também com os aminoácidos K101, Y188 e H235. O valor de 'sigma''delta'E POT. (2)' para a interação do inibidor TIBO com os aminoácidos Y181 (C181), K101, Y188 e H235 indicam que o inibidor 8 CI-TIBO apresenta uma interação mais efetiva com esses aminoácidos do que a 9 CI-TIBO. Esse resultado é bastante interessante e mostra que 'sigma''delta'E POT. (2)' pode ser utilizado como um parâmetro qualitativo para analisar as diferenças de atividade biológica observadas para diferentes ligantes que atuam sobre um mesmo sítio ativo.

Patrícia Lima Balbo

Epidemiologia de fatores sociais relacionados à saúde bucal relatados pelas mães ou pelos responsáveis por crianças HIV+/Aids atendidas no HCRP.

Ribeirão Preto, 2006, 98 p + anexos

Dissertação (Mestrado)

Faculdade Medicina de Ribeirão Preto

Resumo

A entrada da mulher na causalidade da aids provocou o aumento da transmissão vertical. A assistência aos casos de aids pediátrica deve considerar o atendimento odontológico, para prevenir, promover e recuperar a saúde bucal destas crianças. O objetivo deste estudo foi abordar, de maneira descritiva/exploratória, os fatores sociais associados ao cotidiano das mães ou cuidadoras responsáveis, no que se refere aos cuidados bucais, de crianças HIV+ atendidas no HCRP. Foi realizado um estudo transversal, através de uma amostra de conveniência composta por mães/cuidadoras de crianças HIV+ que faziam acompanhamento no ambulatório da UETDI do HCRP, de maio a outubro de 2005, totalizando 50 voluntários. Uma sessão de aconselhamento sobre saúde bucal foi realizada, com todas as mães/cuidadoras individualmente, cujas informações foram coletadas através de um questionário, numa entrevista estruturada, coletando dados sobre qualidade de vida, nível socioeconômico e aspectos relacionados com a percepção, promoção e cuidados de saúde bucal. Estas informações somente foram usadas para a finalidade da pesquisa após a sessão de aconselhamento sobre saúde bucal e após o consentimento livre e esclarecido. Foi usada a metodologia do WHOQoL-bref, para avaliar os domínios de qualidade de vida (Físico, Psicológico, Social e Meio ambiente); o método CCEB foi empregado para obter uma categorização socioeconômica; e uma “Escala Odontológica”, que foi construída com a finalidade de mensurar os conhecimentos sobre saúde bucal deste estudo (Percepção, Promoção, Cuidados), à semelhança dos indicadores compostos. A análise estatística dos dados foi realizada pelo método multivariado de agrupamentos (análise de clusters), usando os domínios do WHOQoL-bref e da “Escala Odontológica”; o método de Cronbach foi usado para a verificação da consistência interna dos instrumentos; tabelas e medidas descritivas foram usadas. Do ponto de vista da qualidade de vida, foram encontrados dois grupos distintos: o grupo com melhores níveis de qualidade de vida relatou ter menos dificuldade no atendimento odontológico, uma maior parcela de residentes em casa própria e, dentre as informantes que já haviam levado seus filhos ao dentista, foi encontrado uma menor proporção de integrantes da categoria socioeconômica mais baixa (D+E). A “Escala Odontológica” gerou seis grupos sendo que um dos grupos sempre se destacou por

apresentar melhores níveis de satisfação com a saúde, de qualidade de vida, de percepção de necessidades e também foram os que receberam mais orientações relacionadas à saúde bucal. Os resultados deste estudo remetem à necessidade de se conhecer as demandas dos indivíduos HIV+, para adequar os serviços odontológicos dentro de programas multiprofissionais de assistência à saúde.

Elizabeth de Los Santos Fortuna

Herpesvírus humano tipo 8 (HHV-8): estudo de segmentos alvo do genoma viral em amostras de sangue, saliva e urina de pacientes infectados pelo HIV/aids, com e sem Sarcoma de Kaposi

São Paulo, 2005, 146 p + anexo

Tese (Doutorado)

Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo

Resumo

Desde a descoberta do herpes vírus humano tipo 8 (HHV-8) como o agente etiológico do sarcoma de Kaposi (SK) nas suas diferentes formas clínico-epidemiológicas, vários estudos vêm sendo conduzidos com o intuito de determinar as vias de transmissão desse vírus em populações endêmicas e de risco epidemiológico. Em regiões endêmicas, a transmissão viral foi relacionada à transmissão horizontal de mães para filhos e entre irmãos e a sexual principalmente, nos casos de SK/aids. Com o objetivo de determinar segmentos do genoma viral em fluídos biológicos e conseqüentemente seu potencial infectante foi conduzido o presente trabalho. Foram avaliados quanto à presença de segmentos localizados em posições estratégicas do genoma do HHV-8 em sangue, saliva e urina de 76 pacientes com SK/aids, 19 pacientes com HIV/aids, 4 casos de SK clássico e 11 indivíduos sadios (HIV-soronegativos, sem SK). Foram utilizadas as técnicas de PCR “nested” para as ORF K1, ORF 25, ORF 26, ORF K8.1 e ORF 73 em DNA extraído de material de biópsia de lesão de SK (controle positivo), células do sangue periférico, saliva e urina. Os resultados de PCR positivo para o HHV-8 foram analisados quanto a variáveis epidemiológicas, clínicas e laboratoriais. Foram consideradas como variáveis: sexo, cor, origem étnica, tempo de infecção por HIV e de acompanhamento do SK, terapia ARV e para SK, contagem de células CD4+ e sorologia para o HHV-8 (IFI-LANA e IFI-Lítico). Os testes estatísticos de regressão logística e de razão de chances foram usados para detectar as associações estatisticamente significantes entre as PCRs positivas e as variáveis estudadas nos grupos SK/aids e HIV/aids. Os subtipos do HHV-8 foram também determinados pela técnica de PCR-RFLP da ORF K1 (VR1). Os resultados obtidos mostraram a detecção de DNA/HHV-8 em 80,2% POR CENTO` do

material de biópsia, 69,7 `POR CENTO` no sangue, 59,2 `POR CENTO` na saliva e 21,0 `POR CENTO` na urina de pacientes com SK/aids. No grupo HIV/aids, a PCR para o HHV-8 resultou positiva em 47,4 `POR CENTO` dos casos no sangue e em 26,3 `POR CENTO` na saliva e urina. Já no grupo SK clássico 100 `POR CENTO` das biópsias e salivas resultaram PCR positiva, 67 `POR CENTO` do sangue e 33 `POR CENTO` das urinas. A avaliação sorológica revelou 73,3 `POR CENTO` de reatividade para IFI-LANA e 85,3 `POR CENTO` para a IFI-Lítico no grupo SK/aids, enquanto o grupo HIV/aids mostrou reatividade de 15,8 `POR CENTO` para IFI-LANA e 47,4 `POR CENTO` para IFI-Lítico; todos os pacientes apresentaram resultados reagentes nas duas sorologias para o HHV-8 no grupo de SK clássico. No grupo controle sadio não houve reatividade na sorologia para o HHV-8, com exceção de um caso, que mostrou ser reagente na IFI-LANA. Foi possível realizar a subtipagem do HHV-8 em amostras de 69 pacientes, sendo detectadas 27 cepas do subtipo A, 13 do subtipo S, 28 do subtipo C e 1 do subtipo E. Após as análises estatísticas foi verificado que as PCRs que identificam as regiões ORF 26, ORF K8.1 e ORF 73 foram as que apresentaram melhor desempenho na identificação de DNA/HHV-8. Houve associação entre a reatividade de IFI-Lítico e a presença do vírus no sangue periférico, assim como a reatividade para IFI-LANA e a detecção de DNA/HHV-8 na saliva. Houve uma tendência dos subtipos S e C de HHV-8 serem detectados em pacientes com infecção profunda ou disseminada de SK. Estes resultados sugerem que a boca pode ser um sítio de latência da infecção por HHV-8 e confirmam a atuação de sangue, saliva e urina como fluidos potencialmente infectantes.

Katya Cristina Rocha

Avaliação da fenotipagem leucocitária e da resposta linfoproliferativa de pacientes HIV soronegativos com neurocriptococose

São Paulo, 2006, 181 p + anexos

Tese (Doutorado)

Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

Resumo

A criptococose é uma infecção oportunista e está associada à uma pobre resposta inflamatória e a uma queda da resposta T dependente. O objetivo desse trabalho foi avaliar parâmetros imunológicos celulares em pacientes com neurocriptococose. O leucograma dos pacientes evidenciou: linfopenia, monocitopenia, eosinopenia e neutropenia. Observou-se linfopenia TCD4+ e TCD8+ . O GXM do soro mostrou correlação com linfoproliferação e expressão de moléculas em leucócitos. As células de pacientes com elevadas quantidades de GXM proliferaram menos para antígenos e

adequadamente para o mitógeno. Tendo em vista o que foi observado, os dados sugerem um defeito de sinalização monócito-linfócito, provavelmente provocado pelo açúcar da cápsula do C. neoformans

Aldo de Albuquerque Cunha

Estudo sobre a infecção por citomegalovirus em indivíduos infectados pelo HIV

Ribeirão Preto, 2006, 80 p + anexos

Tese (Doutorado)

Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto – Universidade de São Paulo

Resumo

A citomegalovirose é infecção importante nos indivíduos infectados pelo HIV apesar de ter sofrido redução em frequência com o aparecimento da terapia anti-retrovirus combinada. Neste trabalho estudou-se a infecção e a doença por citomegalovirus (CMV), em indivíduos infectados pelo HIV, detectando-se CMV por métodos virológicos qualitativos e quantitativos, bem como, determinando genótipos dos CMV infectantes. Deste estudo, que foi realizado no Centro de Pesquisa em Virologia da FMRP-USP, entre 2002 e 2005, participaram 101 pacientes. Extratos de DNA obtidos do creme leucocitário sanguíneo dos participantes foram submetidas a uma semi-nested PCR, para detecção do genoma de CMV. Trinta e uma amostras de pacientes que tiveram CMV detectado foram submetidos a uma PCR em tempo real quantificadora e a uma genotipagem gB do CMV detectado. Para a PCR quantificadora de CMV realizou-se, com sucesso, a clonagem parcial do gene gB de CMV em plasmídeo e padronizou-se o método. Os resultados foram analisados buscando associar aos resultados de CMV, dados clínicos dos participantes, como carga viral do HIV, teores de linfócitos T 'CD IND. 4', regularidade do uso de anti-retrovirais, incidência de infecção oportunista e ocorrência de óbito. Desta forma, foi possível observar que 31 participantes tiveram CMV detectado em seu creme leucocitário, o que configurou uma positividade de 30,7%. Dois participantes, 6% dos que tiveram CMV detectado no creme leucocitário, apresentaram quadro sugestivo de citomegalovirose doença. Foram a óbito 16% dos participantes no grupo que teve CMV detectado no creme leucocitário ($p=0.007$; $OR= 23,07$, intervalo de confiança = 1.201 a 443.3). Os 5 óbitos observados ocorreram apenas neste grupo. Os participantes que foram a óbito apresentaram teores de linfócitos T 'CD IND. 4' abaixo de 55 células/mm POT. 3' ($p=0,001$; 'coef IND. corr' = -0,655). A frequência de participantes com CMV detectado em creme leucocitário foi significativamente mais elevada entre aqueles no estágio 'C IND. 3' ($p=0.0052$). As cargas de CMV de 31 pacientes exibiram teores de 100 a 35000 cópias virais por

1,5 x '10 POT. 5' leucócitos. Entre os participantes, foi preponderante na genotipagem de CMV o gB2 (45,16%) seguido do gB3 (35,48%). O genótipo gB2 de CMV mostrou-se o mais virulento nos pacientes infectados pelo HIV porque, sua frequência foi significativamente mais elevada nos pacientes que tinham teores de linfócitos T 'CD IND. 4' abaixo de 200 células/ml ($p = 0,0044$; $\chi^2 = 10,85$), 80% dos que foram a óbito tiveram este genótipo detectado no creme leucocitário, o mesmo foi associado a cargas de CMV acima de 200 cópias /1,5 x '10 POT. 5' leucócitos ($p = 0,0015$ $\chi^2 = 15,47,3$) e) e a infecção por CMV de genótipo não gB2 mostrou-se um fator preditivo de evolução sem óbito (valor preditivo negativo de 94%).

Patrícia Emília Braga

HIV/AIDS: gênero e fatores prognósticos para a sua incidência e mortalidade em um Centro de Referência da cidade de São Paulo

São Paulo, 2005, 112 p.[+ anexos]

Tese (Doutorado)

Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo

Resumo

A infecção por HIV/aids pode ser considerada uma das mais devastadoras epidemias já vistas pela humanidade. Desde seu início, tem apresentado perfis epidemiológicos heterogêneos nas diversas regiões do mundo e em subgrupos populacionais específicos. Apesar de se observar significativa melhora no prognóstico da infecção, resultante dos avanços terapêuticos recentes, o impacto das intervenções em termos de incidência e de mortalidade parece ter sido menos evidente entre mulheres. Com o propósito de comparar o perfil clínico evolutivo e a sobre vida de mulheres e homens vivendo com HIV/aids acompanhados em serviço de referência de São Paulo, foi estudada amostra aleatória de pacientes atendidos na Casa da Aids, do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da USP, no período de janeiro de 1998 a dezembro de 2002. Definiram-se dois eventos de interesse (desenvolvimento de aids e óbito por aids), tomando como variáveis dependentes o tempo de sobrevivência livre de aids e o tempo para ocorrência do óbito por aids. Para avaliação do primeiro desfecho foram considerados apenas os indivíduos que não apresentavam diagnóstico de aids à admissão ao serviço. A data inicial de cada indivíduo na coorte foi a da realização do teste sorológico confirmatório de infecção por HIV, tendo sido os pacientes avaliados em

seu seguimento no serviço até 30/03/2003. As características sócio-demográficas e clínicas dos pacientes, bem como os resultados de exames laboratoriais foram obtidos dos prontuários médicos. Os dados de mortalidade foram oriundos de bancos de informações de óbitos. Na análise dos resultados, foram comparadas proporções por meio da estatística Qui-quadrado, enquanto o teste t de Student e o teste não-paramétrico de Mann-Whitney foram utilizados na avaliação de médias e medianas, respectivamente. Compararam-se as taxas de incidência e de mortalidade pela distribuição binomial. As probabilidades acumuladas de sobrevida foram calculadas utilizando o estimador produto limite de Kaplan-Meier e o modelo de risco proporcionais de Cox na estimativa das razões de risco. A coorte analisada no estudo de mortalidade por aids compreendeu 1072 pacientes (71 por cento homens e 47 por cento com diagnóstico de infecção por HIV mais anterior a 1997).

Luiza Harunari Matida.

Análise de sobrevida das crianças com AIDS no Brasil.

São Paulo: s.n, 2006. [77] paginas

Universidade Federal de São Paulo. Escola Paulista de Medicina.

Disciplina Infectologia Pediátrica

Tese (Doutorado)

Resumo

A terapia anti-retroviral (TARV) contribui para a diminuição da morbidade e da mortalidade, com conseqüente aumento da sobrevida. No Brasil, há diferenças regionais relativas à dinâmica da epidemia do HIV e ao seu enfrentamento no grupo das gestantes e das crianças com HIV/AIDS. Este estudo verifica o tempo de sobrevida após o diagnóstico de aids em 914 crianças infectadas por transmissão vertical, entre os anos de 1983 e 1998 e acompanhadas até 2002, nas cinco regiões brasileiras. O tempo decorrido do nascimento ao diagnóstico de infecção pelo HIV, ao longo dos anos, apresenta uma diminuição, principalmente nos estados das regiões Sul e Sudeste. Houve melhora significativa da sobrevivência, mais de 75 por cento dos casos ainda estavam vivendo quatro anos após o diagnóstico, no grupo de 1997 e 1998. Esta análise brasileira mostra ser possível para um país em desenvolvimento, estabelecer um sistema efetivo de acesso gratuito e universal à TARV, mesmo : com dificuldades regionais para a organização de uma infra-estrutura ideal de I saúde, tendo como resultado um aumento significativo na sobrevivência. .

