

**O Genótipo CCR5Δ32 em pacientes infectados pelo HIV candidatos à transplante de medula****The CCR5Δ32 Genotype in HIV-infected patients who are candidates for bone marrow transplantation**

DOI:10.34119/bjhrv3n3-089

Recebimento dos originais: 05/04/2019

Aceitação para publicação: 26/05/2020

**Daniel Fernandes da Silva**

Formação acadêmica mais alta: Graduado em Biomedicina  
Centro Universitário ICESP  
daniel.obehemoth@gmail.com

**Maria Francisca Breve Cardoso Monteiro**

Formação acadêmica mais alta: Graduanda em Biomedicina  
Centro Universitário ICESP  
f.bv.eve@hotmail.com

**Guilherme Junio Pinheiro**

Formação acadêmica mais alta: Mestre em Ciências e Tecnologias e Saúde - Université Paris Descartes-Sorbonne Paris Cité  
Instituição: Centro Universitário ICESP  
Endereço: QS 05 Rua 300 Lote 01-Campus de Águas Claras  
E-mail: guipinheirojunio@gmail.com

**Judith Aparecida Trevisan**

Formação acadêmica mais alta: Mestra em Gestão dos Serviços de Saúde - Instituto da Ciência e do Trabalho ISCTE - PORTUGAL  
Instituição: Centro Universitário ICESP  
Docente e Coordenadora do Curso de Graduação em Enfermagem  
Endereço: QS 05 Rua 300 Lote 01-Campus de Águas Claras  
E-mail: judith.trevisan@icesp.edu.br

**Anna Maly de Leão e Neves Eduardo**

Formação acadêmica mais alta: Mestra em Ciências e Tecnologias da Saúde - UnB  
Instituição: Faculdade Anhanguera de Brasília  
Endereço: QS 1, rua 212 – lotes 11,13 e 15, Pistão Sul - Taguatinga Sul, 71950-550  
E-mail: annamaly07@hotmail.com

**Erica Carine Campos Caldas Rosa**

Formação acadêmica mais alta: PhD. Doutorada em Ciências da Saúde-UNB  
Instituição: Centro Universitário ICESP  
Endereço: QS 05 Rua 300 Lote 01-Campus de Águas Claras  
E-mail: erica.campos@icesp.edu.br

**RESUMO**

Estudos mostram que a interação do HIV com os receptores e correceptores presentes em suas células-alvo pode ser prejudicada devido uma mutação presente em uma pequena parcela da população mundial, na qual o gene que codifica os receptores de quimiocina CCR5 sofrem uma deleção de 32 pares de base. Quando o vírus entra em contato com um indivíduo homocigoto para o gene CCR5 $\Delta$ 32 ( $\Delta$ 32/  $\Delta$ 32), a sua integração na célula é impedida. Nesse caso, o sujeito apresenta uma resistência para a infecção. O artigo tem como objetivo apresentar o impacto dessa mutação em candidatos ao transplante de medula óssea que são infectados pelo vírus do HIV. Avaliando dois casos de remissão de carga viral, descritos em literatura, sem uso do tratamento antirretroviral, onde os pacientes, que apresentavam neoplasias malignas para as células hematopoiéticas, foram submetidos a transplantes de medula onde os doadores eram homocigotos para a mutação  $\Delta$ 32. Obteve-se como conclusão, que a mutação CCR5 $\Delta$ 32 implica em novos métodos de possíveis tratamentos para o HIV.

**Palavras-Chave:** “CCR5”; “CCR5 $\Delta$ 32”; “HIV”; “epidemiologia”; “Inflamação”, “Diagnósticos” e “transplante de células-tronco”

**ABSTRACT**

Studies show that the interaction of HIV with receptors and coreceptors present in target cells may be impaired due to a mutation present in a small portion of the world population in which the gene encoding CCR5 chemokine receptors undergoes a deletion of 32 base pair. When the virus contacts an individual homozygous for the CCR5 $\Delta$ 32 gene ( $\Delta$ 32 /  $\Delta$ 32), its integration into the cell is prevented. In this case, the patient has a resistance to infection. The article aims to present the impact of this mutation on candidates for bone marrow transplantation who are infected with the HIV virus. Evaluating two cases of viral load remission without antiretroviral treatment, where patients with malignant neoplasms for hematopoietic cells underwent bone marrow transplants where donors were homozygous for the  $\Delta$  32 mutation. It was concluded that the CCR5 $\Delta$ 32 mutation implies new methods of possible treatments for HIV.

**Keywords:** “CCR5”; “CCR5 $\Delta$ 32”; “HIV”; “epidemiology”; “Inflammation”, “Diagnosis” and “stem cell transplantation”

**1 INTRODUÇÃO**

Desde a sua compreensão em 1981, a síndrome da imunodeficiência adquirida (AIDS) se mostrou como causadora de impactos em escala mundial, infectando desde então, cerca de 70 milhões de pessoas. (PIOT et al., 1988; VANDEVELDE et al., 1996). Dois anos mais tarde, em 1983, o vírus da imunodeficiência humana (HIV) foi isolado pela primeira vez, e identificado como o agente patogênico causador da AIDS (MONTAGNIER, 1985; MONTAGNIER et al., 1984), (BARRETT; CALLAHAN; ORKIN, 1998). Mais tarde, em 1984, foi compartilhado por pesquisadores britânicos e franceses que a molécula CD4 agia como receptor primário para o HIV se ligar às suas principais células-alvo, os linfócitos T. (DALGLEISH et al., 1984).

As informações a respeito da infecção pelo HIV evidenciavam que ela acontecia por meio da interação das glicoproteínas virais do envelope, a glicoproteína transmembrana gp41 juntamente com a gp120 com a partícula CD4 na célula-alvo. Todavia, há mais de dez anos sabia-se que a partícula CD4 não era o bastante para permitir a entrada do HIV na célula almejada e que o vírus necessitava de outras partículas para disseminar a infecção (GURYANOV et al., 2019; WANG, B. et al., 1997), influenciando o processo infeccioso causado pelo vírus (GUAN, 2019). O acesso do HIV para a célula requer a ligação do seu complexo proteico (gp120 + gp41) com os receptores CD4 e correceptores CCR5 e/ou CXCR4. Com a evolução da infecção, cepas que apresentam tropismo para o correceptor CCR5 pode evoluir e apresentar também tropismo para os receptores que quimiocinas CXCR4 (DENG et al., 1996; WANG, W. et al., 2014; YU et al., 2018). As cepas do HIV-1 que utilizam o correceptor CCR5(cepas R5) são responsáveis pelas infecções mais graves pelo HIV-1. As cepas do vírus que utilizam o correceptor CXCR4(X4) contribuem para a progressão rápida da doença (KITAYAMA et al., 2017; VERHEYEN et al., 2019).

Estudos descreveram uma mutação que confere um alto nível de resistência à infecção pelo HIV-1 in vitro e in vivo(LIU, R. et al., 1996; PAXTON, W. A.; et al., 1996; PAXTON, W. A. et al., 1996). Esta mutação denominada delta( $\Delta$ ) 32 consiste em uma deleção de 32 pares de bases (pb) no alelo responsável pela sintetização do receptor de quimiocina CCR5 (DENG et al., 1996; LIU, R. et al., 1996) e está presente principalmente na população caucasiana (LIU, R. ET AL., 1996; MOTTA ET AL., 2000). De acordo com Gupta, et. al (2019) a cura para o HIV-1 permanece em constante pesquisa.

Desde a segunda metade da década de 90, tem sido considerada a possibilidade de transplante de células tronco hematopoiéticas (TCTH) com o genótipo homozigoto para CCR5 $\Delta$ 32 em pacientes com neoplasias hematológicas e infectados pelo HIV (HUTTER et al., 2015; HUTTER et al., 2009).

Este trabalho teve como objetivo revisar em literatura já existente, dados que possam ajudar na compreensão da infecção e da mutação CCR5 $\Delta$ 32 e evidenciar a relevância do impacto da mutação CCR5 $\Delta$ 32 em pacientes infectados pelo HIV candidatos ao transplante de medula, podendo apresentar-se como suporte adicional para pesquisas futuras.

## **2 METODOLOGIA**

Este estudo trata-se de uma pesquisa do tipo qualitativa. Para isso, foi realizada uma revisão de literatura que é uma apreciação de dados realizada com base em um referencial

teórico previamente analisado e publicado. Para tal, foi necessário realizar pesquisas por artigos científicos publicados em bases de dados confiáveis como: Scielo (Scientific Eletronic Library Online), Lilacs (Literatura Latino-americana e do Caribe em Ciências e Saúde, além da plataforma de pesquisa PubMed (Publisher Medline), sobre a influência do genótipo CCR5Δ32 em pacientes infectados pelo HIV candidatos ao transplante de medula. Com o objetivo de filtrar os artigos, foram utilizados os seguintes descritores retirados do site Descritores em Ciências da Saúde (DeCS): “CCR5”; “CCR5Δ32”; “HIV”; “epidemiology”; “bone marrow transplantation” and “Diagnosis”.

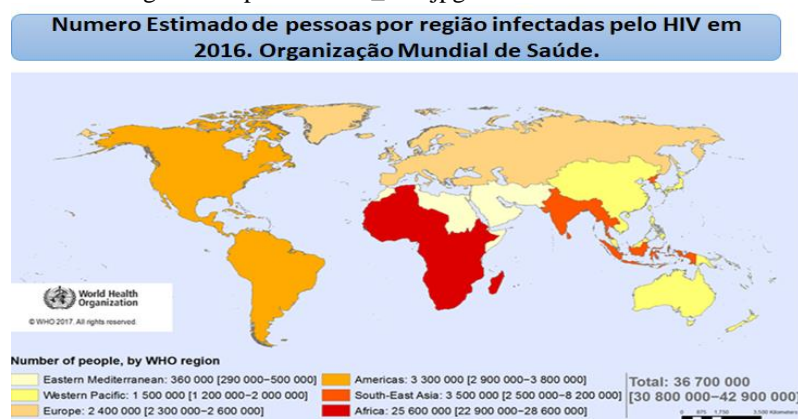
Foram selecionados 200 artigos sobre o tema apresentado, destes 81 foram selecionados levando em consideração critérios de inclusão como: artigos originais, nacional e internacional, em língua portuguesa, inglesa e espanhola, publicados entre 1999 e 2019 (sem eliminar publicações importantes anteriores ao período pesquisado). Artigos que não contemplaram os critérios citados acima foram excluídos da pesquisa.

### 3 REFERENCIAL TEÓRICO

#### 3.1 EPIDEMIOLOGIA

No ano de 2017, o número global de indivíduos vivendo com HIV é de 36,9 milhões, sendo que 1,8 milhões são crianças menores de 15 anos de idade (Figura 3).

Figura 1: Estimativa de pessoas pelo vírus HIV por região.  
Modificado de [https://www.who.int/gho/hiv/epidemic/hiv\\_001.jpg](https://www.who.int/gho/hiv/epidemic/hiv_001.jpg)

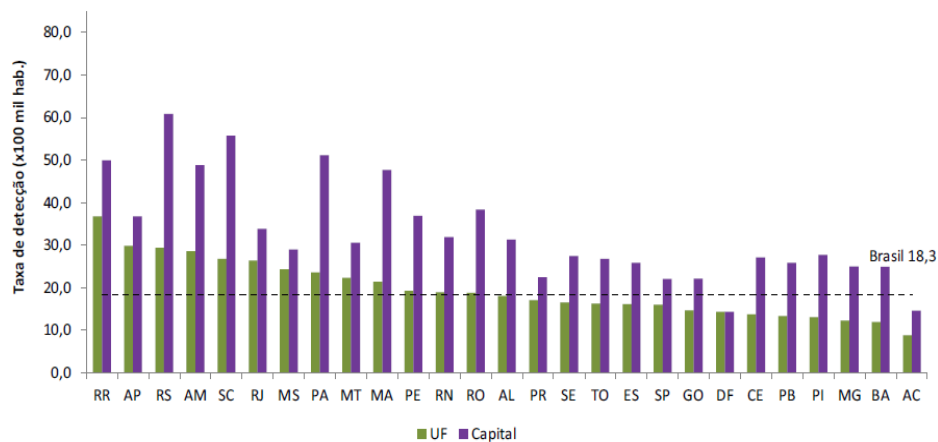


No Brasil, em 2017, foram diagnosticados cerca de 42.420 novos casos de HIV e 37.791 casos de aids, com uma taxa de detecção de 18,3/100.000 habitantes (2017), totalizando, no período de 1980 a junho de 2018, 982.129 casos de aids detectados no país (BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. SECRETARIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE.

DEPARTAMENTO DE VIGILÂNCIA; SEXUALMENTE TRANSMISSÍVEIS, 2016; SAÚDE, 2018).

Na Figura 2, são apresentados os casos de infecção pelo HIV notificados casos no SINAN (Sistema de Informação de Agravos de Notificação) no período de 2007 a junho de 2018 de acordo com o sexo. Nesse período um total de 169.932 (68,6%) casos em homens e 77.812 (31,4%) casos em mulheres. A razão de sexos para o ano de 2017, desconsiderando casos de HIV em gestantes, foi de 2,6 (M:F), ou seja, 26 homens para cada dez mulheres (DEPARTAMENTO DE VIGILÂNCIA, 2018).

Figura 2: Taxa de detecção de AIDS (x100 mil hab.) segundo UF e capital de residência. Brasil, 2017\*.  
Fonte (DEPARTAMENTO DE VIGILÂNCIA, 2018). Sinan; Siscel/Siclom; SIM. Nota: (\*) Casos notificados no Sinan e Siscel/Siclom até 30/06/2018; no SIM, de 2000 a 2017.



De acordo com o Boletim Epidemiológico HIV/AIDS e outras Infecções Sexualmente Transmissíveis-IS do DF, o Distrito Federal registrou 10.735 casos de aids, sendo 7.903 em homens e 2.832 em mulheres, na condição em que a doença apresenta sinais e sintomas clínicos que finalizam o diagnóstico como da imunodeficiência adquirida. Desses, estão notificados no Sinan 2.704 novos casos de aids e 3.352 de HIV, no período deste Boletim, 2012 a 2017(SAÚDE, 2018). Percebe-se, no entanto, que em homens apresentam uma proporção maior de novas contaminações do que em mulheres, em tendência de crescimento, demonstrando que os homens se encontram mais vulneráveis à infecção pelo HIV (Tabela 1)(SAÚDE, 2018).

### 3.2 HIV ESTRUTURA E RELAÇÃO COM O SISTEMA IMUNE

O HIV é uma partícula esférica que mede entre 100 e 120 nanômetros (nm) de diâmetro (Figura 2), faz parte da família dos retrovirus e pertence ao gênero lentivirinae. Apresenta em sua estrutura proteínas e glicoproteínas importantes para sua infecção e evolução, que são

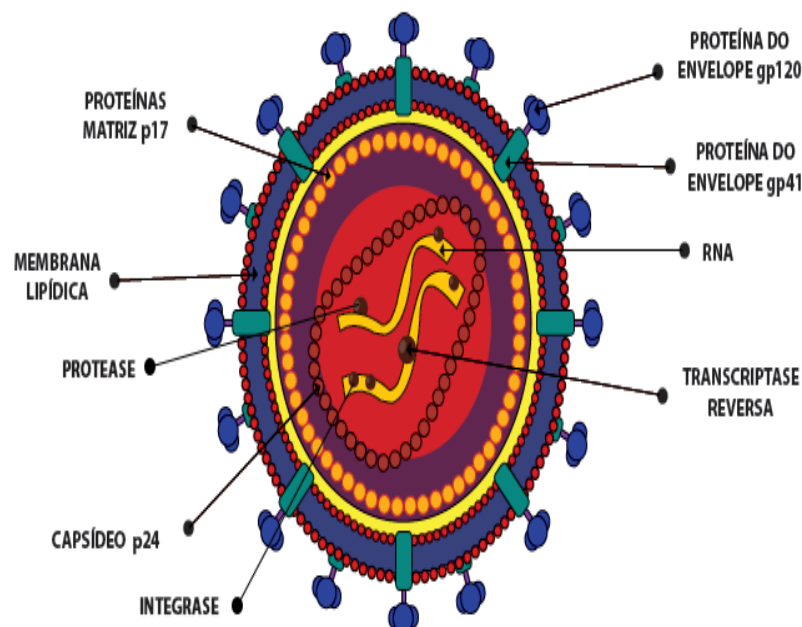
nomeadas com as abreviações de glicoproteína(gp) e proteína(p), seguidas pelo peso molecular indicado em Kilodaltons(Kda). O envelope viral é sua camada mais externa, e é constituído por um complexo de proteínas formado pela gp120 e a gp41, e uma camada bilipídica(Figura 1)(BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. SECRETARIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE. DEPARTAMENTO DE VIGILÂNCIA; SEXUALMENTE TRANSMISSÍVEIS, 2016; GUAN, 2019; HESS et al., 1994).

Tabela 1 - Casos de AIDS notificados (número absoluto, coeficiente de detecção por 100.000 habitantes e razão de sexos), segundo ano de diagnóstico e sexo. Distrito Federal, 2012 a 2017

Ano Diagnóstico	Número de casos aids			Razão M/F	Coeficiente de detecção		
	Masculino	Feminino	Total		Masculino	Feminino	Total
2012	462	114	576	4,1	36,5	8,3	21,8
2013	483	119	602	4,1	36,4	8,1	21,6
2014	361	75	436	4,8	26,7	5	15,3
2015	324	85	409	3,8	23,5	5,5	14,0
2016	282	65	347	4,3	20,3	4,3	12,0
2017	265	69	334	3,8	18,8	4,5	11,4
<b>Total</b>	<b>2177</b>	<b>527</b>	<b>2704</b>	<b>4,1</b>	<b>26,8</b>	<b>5,9</b>	<b>15,9</b>

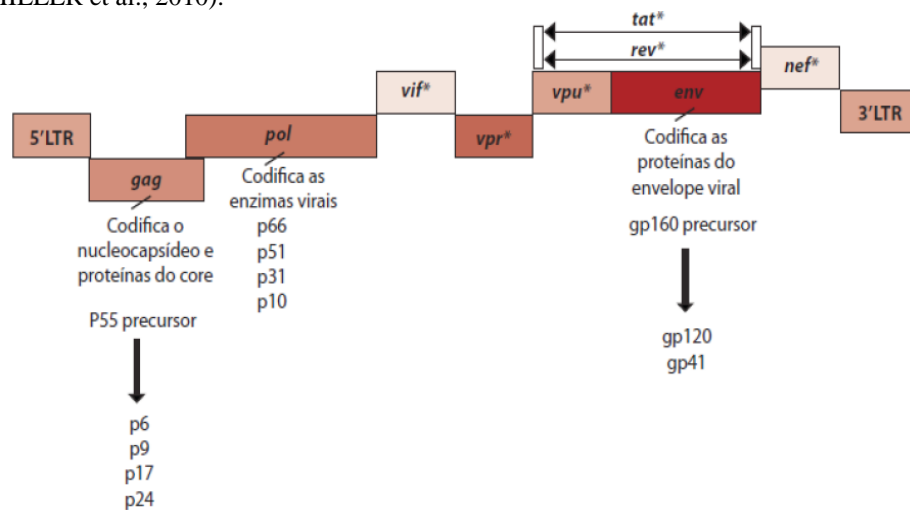
Fonte: SINAN. Dados provisórios digitados até 09/10/2018.

Figura 3: Estrutura do Vírus HIV.  
Modificado de DIAHV/SVS/MS.



Na face interna encontra-se o genoma composto pelo ácido ribonucleico (RNA) do qual é envolvido por duas camadas de proteínas. Logo abaixo do envelope viral encontra-se a primeira camada formada pela proteína p17. Em seguida está o capsídeo composto pela proteína p24 e por último próximo ao RNA, tem-se a presença das proteínas: nucleocapsídeo (p7) e as enzimas fundamentais para a evolução da infecção: transcriptase reversa (p51), protease (p11) e integrase (p31). As proteínas do HIV-2 têm funções parecidas com as do HIV-1, porém apresentam diferenças na composição dos aminoácidos e no peso molecular (Figura 2) (DENG et al., 1996; MILLER et al., 2010)

Figura 4: Genoma do HIV onde há a identificação dos grupos de genes responsáveis pela produção das proteínas virais.  
Modificado de (MILLER et al., 2010).



O HIV tem tropismo pelas células que expressam o CD4 na superfície. Essas unidades nada mais é do que os linfócitos TCD4 conhecido como T4 ou auxiliares e macrófagos. Sabendo disto, a molécula CD4 funciona como mediador celular, já que atua como receptor para o vírus HIV (DALGLEISH et al., 1984; DRAGIC et al., 1996). A primeira fase da infecção pelo vírus ocorre devido a interação entre a glicoproteína gp120 com os receptores CD4 das células do hospedeiro. A interação ou a ligação causa mudanças nas conformações da gp120 encarregada pela ativação dos correceptores CXCR4 ou CCR5, como também ativam gp41. Essas mudanças causam alterações na estrutura celular permitindo a fusão do HIV na célula. Para que o vírus se multiplique é essencial a presença da enzima transcriptase reversa, em que essa proteína participa da tradução do RNA em DNA de fita dupla. Depois esse DNA viral é transportado para junto do núcleo celular, porém (WANG, Y. J. et al., 2010) antes de adentrar o núcleo, com a participação da enzima integrase, o genoma viral passa por várias clivagens e então é inserida

ao genoma da célula hospedeira. Dessa forma, a célula é acionada e provoca a tradução do DNA em RNA mensageiro (RNAm), ou melhor, o processo de transcrição desencadeia as proteínas virais. As macromoléculas são desagregadas pela ação da enzima protease do vírus HIV que se juntam ao RNA na superfície da célula até sua liberação para infectar outras células (BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. SECRETARIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE. DEPARTAMENTO DE VIGILÂNCIA; SEXUALMENTE TRANSMISSÍVEIS, 2016).

Para compreender melhor o processo de infecção faz-se necessário conhecer os meios de defesa dos linfócitos T. Estas células diferenciam-se em TH1, TH2 e TH17 (que estão mais relacionadas com a patologia). O perfil TH1 promove a imunidade celular enquanto o TH2 ativa e controla a função dos os linfócitos B e linfócitos (TDC8), e o TH17 atua nas respostas extracelulares (GORDON et al., 2010; MANNHALTER et al., 1995; SERETI; RODGER; FRENCH, 2010). Por isso os indivíduos infectados tem decaimento no mecanismo de defesa do sistema Imunológico porque as células infectadas não ativam células TCD8 e linfócitos B. A expansão clonal do vírus, resulta na análise das células hospedeira e conseqüentemente a destruição das células CD4 (GORDON et al., 2010). Quando o vírus do HIV se acopla ao genoma da célula e a célula se multiplica aparece uma ação citopática do vírus HIV. Os mecanismos da linfopenia T auxiliares(T4) ocorre da seguinte forma: destruição da membrana celular pelo vírus, perda da função celular em decorrência da acumulação de detritos moleculares do HIV( RNA, DNA, proteínas do core, entre outros), formação de complexos intracelulares de moléculas de glicoproteínas 120 e CD4, destruição de centenas de percussores do Timo e da medula óssea, inibição ou destruição de células produtoras de fatores de desenvolvimento de células T auxiliares e formação de Sincícios(BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. SECRETARIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE. DEPARTAMENTO DE VIGILÂNCIA; SEXUALMENTE TRANSMISSÍVEIS, 2016).

### 3.3 ETAPAS DA INFECÇÃO

Após a infecção pelo HIV, três fases são caracterizadas em um indivíduo não tratado, diferenciados entre eles por marcadores biológicos e sintomas clínicos. No primeiro, que pode variar entre 2 e 4 semanas, a multiplicação e disseminação acelerada do vírus pelo organismo leva a uma alta replicação viral e pico do antígeno p24 no sangue. Nesse estágio, o paciente aparenta sintomas semelhantes ao de uma gripe, tais como erupções cutâneas, febre e dor de cabeça, devido a resposta natural do corpo à infecções (HESS et al., 1994; PIOT et al., 1988)



Na segunda fase, chamada de soro conversão, o vírus continua a se multiplicar, porém em níveis inferiores. O indivíduo então passa a não apresentar sintoma clínico, ao passo em que o sistema imune começa a produzir anticorpos (Ac) em conjunto com a queda da carga viral (CV) para um estado latente. A medida que a CV diminui, e o paciente produz anticorpos, os níveis de p24 no sangue caem devido a formação do complexo antígeno-anticorpo (p24-AC) (AMMARANOND et al., 2011; HESS et al., 1994). Esta fase pode durar cerca de uma década em pacientes que não se submetem ao tratamento antirretroviral (TAR)(BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. SECRETARIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE. DEPARTAMENTO DE VIGILÂNCIA; SEXUALMENTE TRANSMISSÍVEIS, 2016), já para as pessoas tomam medicamentos para o TAR, podem permanecer em período de latência por várias décadas ou até o fim da vida. Vale ressaltar que, indivíduos que seguem no tratamento, podem apresentar carga viral indetectável e, assim, não transmitir o vírus aos seus parceiros sexuais.

Já no terceiro estágio ou evolução para a AIDS, compreende a depleção dos níveis de CD4, diminuindo a efetividade do sistema imunológico (SI) do hospedeiro, e aumento da carga viral (34). O que possibilita aparecimento de novos sintomas clínicos ou acometimento por doenças oportunistas(CENTERS FOR DISEASE, 1983).Os sintomas característicos da doença apresentam-se de acordo com a elevação dos níveis do vírus no sangue e podem incluir febre, inchaço dos linfonodos, calafrios, perda de peso e fraqueza, dentre outros (CONTROL, 1992).

### 3.4 DIAGNÓSTICO

Diversos testes vêm sendo desenvolvidos com o objetivo de serem mais sensíveis e específicos para a liberação de um resultado preciso e concluído com rapidez.

Os testes moleculares são os mais eficazes para a confirmação diagnóstica, por permitirem informar o número de cópias/ml e a escala logarítmica em base 10, ou seja, o diagnóstico de infecções agudas e/ou recentes e apresentarem melhor custo (ROSENBERG et al., 2015). Dentre estes se destaca o PCR quantitativo em tempo real (PCRq) (ANISENKO et al., 2018; PAVLOVIC et al., 2017; TEO et al., 2002; YODER; FISHEL, 2008). Nos Hemocentros do país atualmente é obrigatório realizar além dos testes sorológicos (3ª e 4ª geração) e rápido (TR) também o Teste do ácido Nucléico também conhecido como NAT/HIV que complementa os testes sorológicos já realizados, ampliando a segurança transfusional primeiramente implementado na Fundação Oswaldo Cruz de Biomanguinhos no estado do Rio de Janeiro.

O teste é resultante de uma parceria com a empresa alemã de produtos de Biologia molecular a QIAGEN e Instituto de Biologia Molecular do Paraná (IBMP), Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ) destinado às bolsas de transfusão de sangue nos Hemocentros do País. Os ensaios de terceira geração permitiram a detecção de imunoglobulina M (IgM) e imunoglobulina G (IgG) e representaram um avanço no diagnóstico da infecção recente pelo HIV. Porém, novas tecnologias foram desenvolvidas, como, por exemplo, os testes de quarta geração, que possibilitam a detecção do complexo antígeno e anticorpo, o que reduz o período da janela imunológica (CHIU et al.; WHO, 2015).

Os testes complementares convencionais (western blot – WB, imunoblot – IB ou imunoblot rápido – IBR) apresentam menor sensibilidade que os imunoenaios de 3<sup>a</sup> e 4<sup>a</sup> gerações, podendo gerar resultados falso negativos, ou seja, não confiáveis (BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. SECRETARIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE. DEPARTAMENTO DE VIGILÂNCIA; SEXUALMENTE TRANSMISSÍVEIS, 2016).

### 3.5 RECEPTORES DE QUIMIOCINAS

Devido sua capacidade de controle de adesão, quimiotaxia e ativação leucocitária, uma família de Citocinas, que apresentam peso molecular entre 8-12 kDa e em média 70 a 80 aminoácidos de comprimento, são nomeadas como quimiocinas (GUERREIRO; SANTOS-COSTA; AZEVEDO-PEREIRA, 2011). Tais quimiocinas são divididas em quatro famílias que dependem da posição de seus resíduos de cisteína (MELIK-PARSADANIANTZ; ROSTENE, 2008; PETERS et al., 2015).

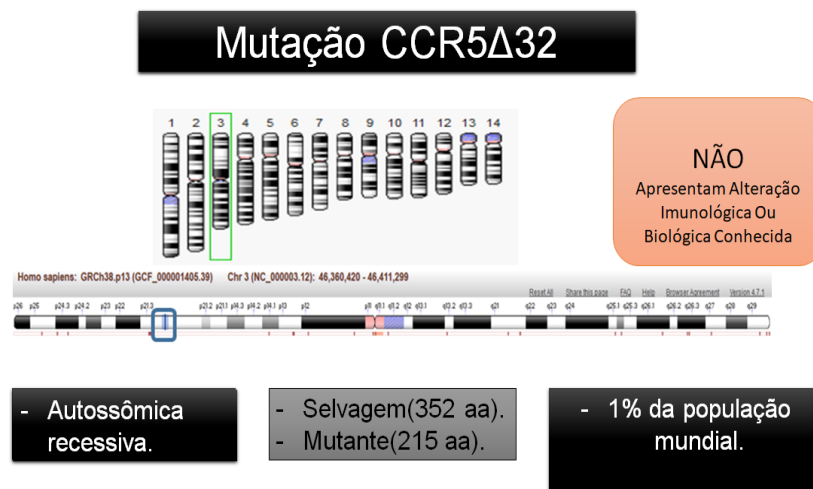
Estes podem, ainda, ter mais de um ligante reconhecido e, ao mesmo tempo, diferentes receptores podem estar interagindo com tal ligante. Sua expressão está diretamente associada ao esquema de migração celulares, em particular os linfócitos (DENG et al., 1996; DRAGIC et al., 1996; PAXTON, W. A.; et al., 1996; VARGAS et al., 2006).

Sabe-se que as quimiocinas e seus receptores são fundamentais para o desempenho de importantes processos biológicos, como: neuromodulação, angiogênese, hematopoese, maturação de células dendríticas, desenvolvimento embrionário, infecção e processos inflamatórios, crescimento tumoral e metástase, e desenvolvimento de linfócitos T e B, além do empenho imunológica (GUERREIRO; SANTOS-COSTA; AZEVEDO-PEREIRA, 2011; GUPTA et al., 2019) (MELIK-PARSADANIANTZ; ROSTENE, 2008).

## 3.5.1 Gene CCR5(CKR5) e Receptor CCR5

Os receptores CCR5 são codificados pelo gene CKR5 no Éxon 4 que está localizado no braço curto do Cromossomo 3 na região do p21.3 (LOC102724297), onde há a formação de um grupo de alelos que codificam outros receptores (figura 5). São expressos em macrófagos, linfócitos do tipo TH1, nos tecidos não linfoides e linfoides, e em células dendríticas. Além de ser um dos principais correceptores do HIV, junto com CXCR4, no qual controla a evolução da doença ou a sensibilidade para a infecção (MONTAGNIER et al., 1984). É um dos receptores que se envolve no processo de inflamação (PIOT et al., 1988; VARGAS et al., 2006).

Figura 5: Localização do gene CCR5:O gene está situado no cromossomo 3 (3p21.31).  
Fonte: Modificado de Genome Data View.:

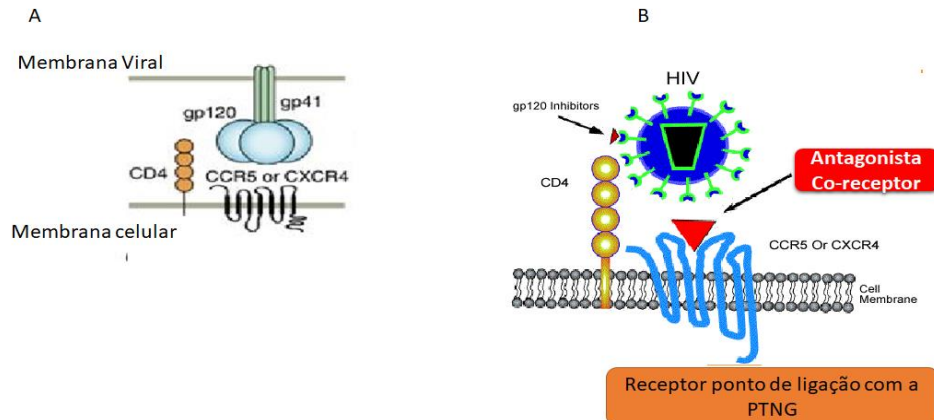


## 3.6 MUTAÇÃO CCR5 DELTA 32 ( $\Delta$ 32)

A mutação CCR5  $\Delta$ 32 é uma variante genética do gene CCR5 resultante de uma de uma deleção de 32 pares de bases na região que codifica o gene CKR5(CCR5), que apresenta uma proteína não funcional como produto final (VARGAS et al., 2006) Esta deleção causa uma alteração na fase de leitura, ou seja, frameshift, que afeta as três últimas regiões transmembrana do receptor de quimiocina CCR5(Figura 6)(DENG et al., 1996).

Figura 6: Receptor CCR5. Em A, verifica-se as proteínas virais gp120 e gp41 ligando-se ao receptor CCR5. Em B visualiza-se as alças do receptor CCR5 e o sitio de ligação na membrana celular.

Fonte: Modificado de (FALKENHAGEN et al., 2013) e 48th International Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy (ICAAC 2008).

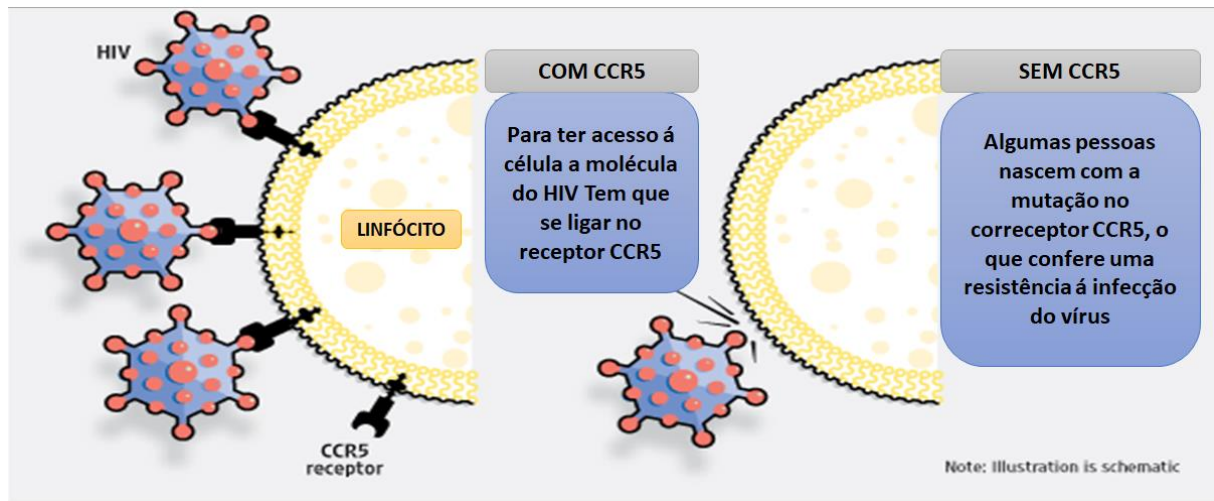


O alelo mutante contém 215 aminoácidos, enquanto o gene selvagem contém 352 aminoácidos (Figura 5), que origina uma proteína truncada que não pode ser detectada na superfície celular (VARGAS et al., 2006). Esta mutação tem característica autossômica recessiva, e, portanto, os indivíduos que são heterozigotos (CCR5/CCR5 $\Delta$ 32) expressam, de maneira re-duzida, os receptores. Já indivíduos em homozigose para a mutação, apresentam ausência do receptor CCR5 (GRANELLI-PIPERNO et al., 1996; QUINN et al., 1987; WANG, B. et al., 1997).

Enquanto indivíduos heterozigotos apresentam redução da suscetibilidade e um retardo na progressão da infecção e evolução para a AIDS, os homozigotos apresentam alta resistência à infecção, por não apresentar nenhum receptor CCR5, sem apresentar nenhuma modificação conhecida no sistema imune (FALKENHAGEN et al., 2013) (Figura7).

Figura 7: Como a mutação protege do HIV. O vírus liga-se a célula através da interação entre a glicoproteína (gp) 120 e o receptor CD4, tendo os receptores CCR5 como correceptor ligante para a alça 3 da gp. Em indivíduos que não há a expressão do CCR5, o vírus não consegue ligar-se a célula-alvo.

Fonte: Modificado de <http://eemb40.blogspot.com/2011/01/black-death-and-hiv-resistance.html> (OWEN, 2011).



Este gene possui uma condição de limitação efetiva sendo considerada favorável, pois fornece resistência ao HIV-1. Pois o vírus necessita do receptor de quimiocina na célula-alvo como correceptor ligante para a alça V3 da gp120 (BUNNIK et al., 2010) (PALOMINO; MARTI, 2017)

### 3.6.1 Frequência da Mutação CCR5 $\Delta 32$

Esta mutação está presente em cerca de 1% da população mundial. É encontrada principalmente na Europa em populações Caucásicas, com uma frequência de cerca de 10% que variam em sua área geográfica, já na população africana não há levantamento da incidência dessa mutação. No Brasil, a frequência varia entre 0,030 e 0,065 (VARGAS et al., 2006)

Em um estudo recente, Solloch et al (2017) estudaram as frequências alélicas da mutação CCR5 $\Delta 32$  de diversas populações por sequenciamento de última geração. Foram analisados dados de tipagem do CCR5 de 1.333.035 potenciais doadores de CTHs captados em três centros nacionais de doação de DKMS. As frequências alélicas e geno-típicas foram determinadas para 87 países de origem como autoavaliados pelos doadores.

As frequências do alelo CCR5- $\Delta 32$  variaram de 0 em doadores da Etiópia a 16,4% em amostras de indivíduos noruegueses. A maior frequência do genótipo CCR5- $\Delta 32$  /  $\Delta 32$  foi encontrada na amostra das Ilhas Faroé (2,3%), enquanto em 27 amostras, predominantemente de doadores da Ásia, América do Sul e África, nenhum dos indivíduos apresentou esse genótipo. O declínio da frequência do alelo CCR5 $\Delta 32$  característico do norte para o sudeste da

Eurásia, sustenta os achados de estudos anteriores (DIAZ et al., 2000; HUSAIN et al., 1998; SOLLOCH et al., 2017)

### 3.7 TRANSPLANTE DE MEDULA

A medula óssea localiza-se no interior dos ossos e é composta por células tronco hematopoiéticas (CTH), em sangue de cordão umbilical. É responsável por produzir as células que compõem o sangue (hemácias, leucócitos e plaquetas) (DERAKHSHANI et al., 2019).

Para o transplante ocorrer, é necessário a realização de testes que comprovem a compatibilidade HLA entre os indivíduos e que atestem que a medula não será rejeitada pelo receptor. A partir daí o doador passa por um procedimento realizado em local cirúrgico, onde, com agulhas, serão efetuadas punções nos ossos longos, posteriores aos da pelve (preferência pelo fêmur). Para o receptor, é necessário um tratamento para destruir suas células da medula, que consiste em condicionamento por quimioterapia e em alguns casos, pela radiação total do corpo (5), e prepare o paciente para receber as novas CTHs (DERAKHSHANI et al., 2019; MARQUES et al., 2018)

O transplante consiste em um rápido procedimento, semelhante à transfusão sanguínea, no qual é infundida uma bolsa de criopreservação rica em células progenitoras medulares no receptor. As mesmas circulam e se alojam na região onde antes estava a medula do paciente, e ali desenvolvem-se gerando uma nova memória imunológica (FERREIRA et al., 2019)

São três os tipos de transplante de células tronco hematopoiéticas (TCTH), e se caracterizam pela origem das células. Sendo autólogo quando as CTHs são originadas pelo próprio paciente, alogênicos, quando são oriundas de outro indivíduo que seja compatível com o mesmo, podendo ser familiar ou doador voluntário e o transplante singênico, que ocorre quando as células advêm de gêmeos idênticos (MARQUES et al., 2018).

## 4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Indivíduos infectados pelo HIV, quando não tratados, apresentam uma predisposição ao desenvolvimento de cânceres, tais como linfomas não-Hodgkin, sarcoma de Kaposi e câncer cervical invasivo (PIOT et al., 1988). Essas neoplasias são potencialmente influenciadas pela AIDS, e ocorrem na maioria das vezes, pelo acometimento e coinfeção do indivíduo por alguns vírus oncológicos (epstein-Barr, herpes vírus e HPV) relacionados a imunodepressão e que não acometem indivíduos com sistema imune competentes (SHIELS et al., 2017; SHIELS et al., 2011). Com o desenvolvimento da terapia antirretroviral, e o aumento da expectativa de vida

desses indivíduos, outros cânceres não influenciados pela AIDS começaram a elevar sua ocorrência, dentre eles, o linfoma de Hodgkin (SHIELS et al., 2011). A partir disso, os tumores que afetam o funcionamento da medula podem tornar o paciente candidato ao transplante, na tentativa de restaurar a normalidade da mesma.

O transplante de células-tronco hematopoiéticas é o principal método de tratamento para doenças hematológicas malignas. E ocorre quando a função medular encontra-se prejudicada por algum dano ou neoplasia que afete a produção de suas células progenitoras ou alguma das sucessoras (BARRETTA et al., 2016; HUTTER et al., 2015). Quando pacientes infectados pelo HIV recebem transplante de medula com gene CCR5 selvagem, ocorre o chamado rebote viral, pois o preparo para o transplante não reconhece uma eliminação total do vírus (ALLERS et al., 2011). Nesses pacientes, a hipótese de uma transfusão com amostra de um doador homocigoto  $\Delta 32/\Delta 32$  tem sido considerado como medida terapêutica desde a última década do século XX (HUTTER et al., 2015). O que pode indicar a possibilidade de alcançar uma remissão de carga viral sem a necessidade da TAR.

O primeiro caso de remissão do HIV através do TCTH ocorreu há pouco mais de uma década (2007). Onde, a fim de tratar uma Leucemia Mielóide Aguda, dois procedimentos de TCTH foram realizados precedidos por irradiação total do corpo do indivíduo conhecido como “paciente de Berlim”, que após receber o transplante, teve seu genótipo alterado de CCR5 heterocigótico (CCR5/CCR5 $\Delta 32$ ), para o CCR5 homocigótico ( $\Delta 32/\Delta 32$ ) devido a presença do genótipo mutante no doador. Tornando-se assim, resistente a infecções do HIV-1 com tropismo para o correceptor CCR5, mesmo após a interrupção do tratamento antirretroviral, no dia do primeiro transplante (CARVALHO et al., 2014; FINE et al., 2015; GARRED et al., 1997; HUTTER et al., 2015; KANG et al., 2015; SMITH et al., 1997) Em 2014, Sete anos após o acontecimento do paciente de Berlim, foram publicados resultados de uma segunda tentativa onde o chamado paciente de Essen passou por um tratamento semelhante. Porém, devido a cepa infectante desse paciente apresentar tropismo alternativo para o correceptor de quimiocina CXCR4, verificou-se que a carga viral se mantinha em recuperação após o transplante (BELL et al., 2016; DENG et al., 1996; SMITH et al., 1997)

No segundo caso de remissão, em 2016, no “paciente de Londres”, o transplante foi realizado para tratar um linfoma de Hodgkin. Nesse caso, porém, nota-se que a abordagem pôde ser menos agressiva, pois o paciente se submeteu a quimioterapia de atividades contra o linfoma, mas não precisou ser submetido a irradiação, ainda que tivesse enfrentado uma leve doença do enxerto contra hospedeiro após o procedimento, como o paciente de Berlim. 16

meses passado o transplante, foi interrompida terapia antirretroviral e o paciente manteve a taxa viral indetectável por mais 18 meses (RNA no plasma e DNA nos linfócitos T CD4 periféricos), não apresentando vírus reativáveis nos ensaios quantitativos de crescimento viral (FORD et al., 2015; LI et al., 2015; WALLIS et al., 2010)

Nos pacientes que alcançaram a remissão da carga viral através do TCTH, nota-se que, além de tratarem a neoplasia que os acometiam, a presença da mutação na amostra nas células dos doadores impactou numa resposta positiva também contra a infecção. Pois tanto no paciente de Berlin como no de Londres, as cepas infectantes do HIV tinham tropismo exclusivo para o correceptor CCR5, o que pode explicar a atenuação após o tratamento. E nos dois pacientes, apesar de serem submetidos a procedimentos diferentes anteriores ao transplante, suas atividades imunológicas específicas para o HIV-1, diminuíram de maneiras comparáveis, embora seja prematuro concluir que o último tenha sido curado. Porém, ao observar o rebote viral ocorrido no paciente de Essen, questões foram levantadas sobre a rentabilidade de desenvolver técnicas de regressão por infusão do gene mutante em um número maior de indivíduos, pois métodos de edição genética para CCR5 não poderão alcançar aqueles que são infectados por cepas que apresentam tropismo para o correceptor CXCR4 (ALLEN et al., 2018; DENG et al., 1996; GUPTA et al., 2019; VERHEYEN et al., 2019).

Os resultados fornecem suporte adicional para o desenvolvimento de estratégias de remissão do HIV-1 baseadas na prevenção da expressão do CCR5 (GUPTA et al., 2019). Pois, ainda que essa abordagem tenha limite de dois pacientes atualmente, terapias direcionadas à edição genética do gene CCR5, através da técnica de CRISPR-CASP9 (ALLEN et al., 2018) (Figuras 8 e 9), podem ser uma ferramenta genética para novos métodos de tratamento contra o HIV e uma esperança para os indivíduos que convivem com o vírus (CRADICK et al., 2013; DE SILVA FEELIXGE et al., 2018; HOU et al., 2015; HUTTER et al., 2015; KANG et al., 2015; KOUJAH; SHUKLA; NAQVI, 2019; SAAYMAN et al., 2015).

Este foi um tema bastante desafiador já que tem repercussão internacional devido a remissão do HIV em alguns pacientes como o de Berlin (ALLERS et al., 2011; HUTTER et al., 2015; HUTTER et al., 2009), cujos resultados abrem novas oportunidades para a busca da cura por meio de novas estratégias utilizando a edição genética como a técnica da CRISPR-CASP9 (CRADICK et al., 2013; LIU, Z. et al., 2017; ZHANG et al., 2019)



Figura 8: Cronologia da edição do gene CCR5.  
 Fonte :Modificado de Allen, et. al, (2018).

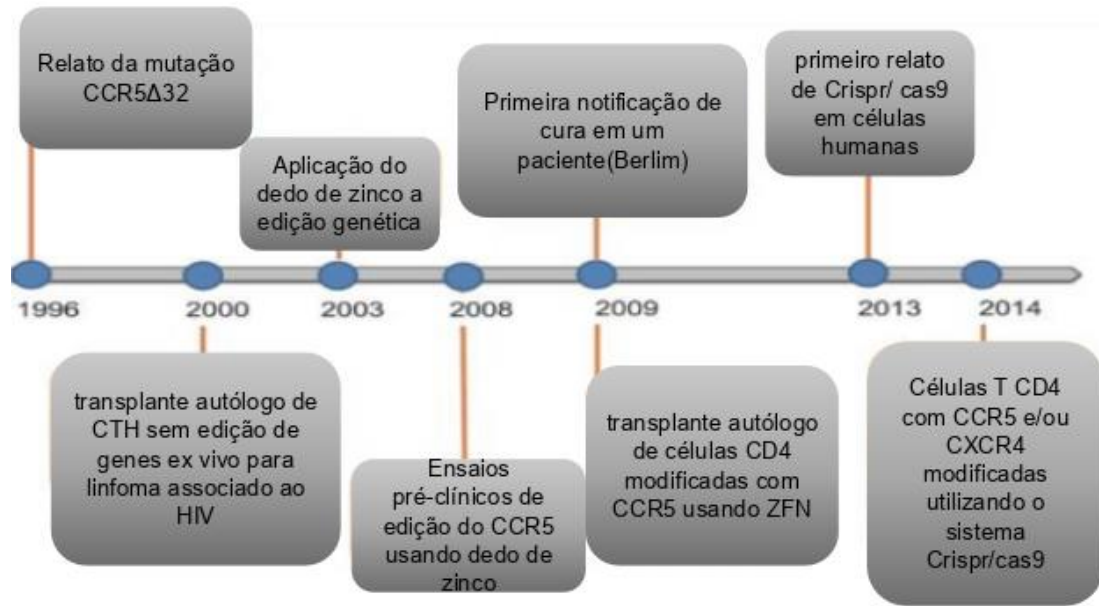
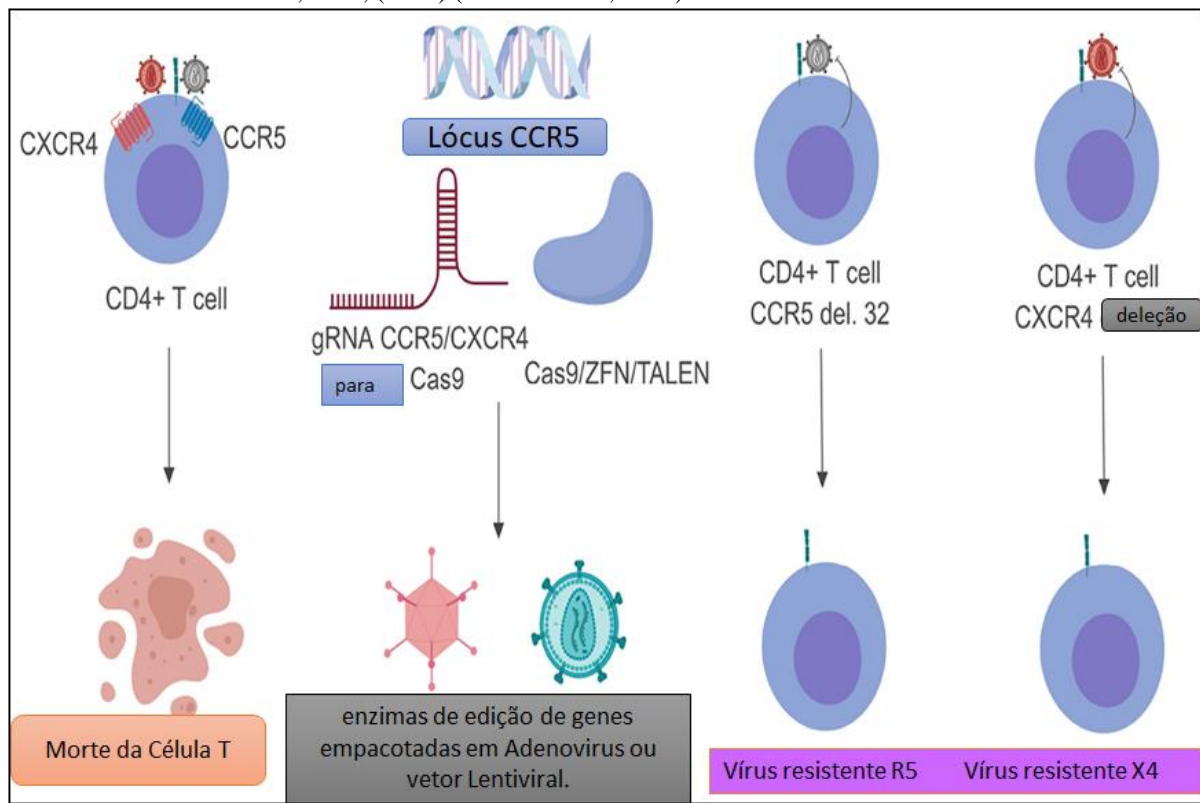


Figura 9: Estratégias de edição de genes CCR5 ou CXCR4. Uma vez que a glicoproteína gp120 do HIV-1 tenha feito contato com CD4, ela sofre uma série de mudanças conformacionais que permitem a ligação a um dos dois correceptores (CCR5 ou CXCR4). Isso normalmente leva à morte de células T dentro de 24 a 48 horas (à esquerda). Ao customizar o sistema Cas9 ou ZFN, essas enzimas endonucleases podem ser empacotadas em vetores virais e transduzidas em suas células-alvo (meio). Após a edição bem sucedida do genoma, estas células alvo podem tornar-se resistentes ao vírus que utiliza CCR5 ou CXCR4 (direita). Partículas virais cinzas indicam o vírus que utiliza CCR5 (R5), enquanto as partículas virais vermelhas indicam um vírus que utiliza o CXCR4 (X4).

Fonte: Modificado de Allen, et. al, (2018) (ALLEN et al., 2018)



Entende-se que a partir deste artigo de revisão, quando soropositivo para o HIV, o candidato a transplante de medula óssea, ao receber amostra de um doador homozigoto CCR5 $\Delta$ 32/CCR5 $\Delta$ 32, pode corrigir tanto a patogenia que o levou ao transplante, quanto a infecção pelo vírus. Porém, a baixa disponibilidade de doadores com HLA compatíveis e que apresentem a mutação se torna um fator restritivo. E após o procedimento, assim como aconteceu em ambos os casos de remissões apresentadas, a doença do enxerto contra hospedeiro simboliza a principal intercorrência após o procedimento, o que nos mostra o risco do processo.

O número limitado de prevalência da mutação em homozigose na população mundial, em conjunto com o número de pacientes que obtiveram a diminuição da carga viral torna-se fator limitador para melhor compreensão do processo de remissão viral através do transplante de medula, pois não se sabe em totalidade os efeitos da ausência do receptor de quimiocina CCR5 nos seres humanos.

Infecções por cepas do HIV com tropismo para CCR5 podem passar a apresentar tropismo para o correceptor CXCR4, portanto medidas que envolvam a mutação  $\Delta$ 32 não apresentam eficiência quando o paciente é infectado por uma cepa X4.

Portanto, conclui-se que, apesar de o número de casos de remissões da carga viral através do TCTH ser limitado a 2 pacientes, novos métodos e terapias de edição genética podem ser desenvolvidas em cima dessa mutação. Podendo então ser considerada uma porta de entrada para desenvolvimento de uma possível cura para a infecção pelo vírus da imunodeficiência humana e a esperança para os milhões de indivíduos acometidos.

### **AGRADECIMENTOS**

Agradecemos primeiramente a Deus pelo dom da vida. Aos nossos pais por nos apoiarem em todos os momentos, aos nossos amigos que se fizeram presente nessa caminhada.

Agradecemos a nossa orientadora Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Erica Carine pela sua dedicação, compreensão e por ter confiado na nossa capacidade de chegar até aqui.

Agradecemos às Profas Dr<sup>a</sup> Patricia Costa e MSc Hially Cristina pelas excelentes contribuições e por compor a banca avaliadora.

Agradecemos a nossa instituição, ao NIP e a todos que fizeram o ICESP ser essa referência de qualidade de ensino.

Nossos agradecimentos aos professores que fizeram o possível e o impossível para garantir o melhor aprendizado para nós e nossos colegas de curso.

Obrigado a todos. Sem vocês não seria possível a realização desse sonho.

**REFERÊNCIAS**

ALLEN, A. G. et al. Gene Editing of HIV-1 Co-receptors to Prevent and/or Cure Virus Infection. *Front Microbiol*, v.9, n.2940, 2018-December-17, 2018.

ALLERS, K. et al. Evidence for the cure of HIV infection by CCR5Delta32/Delta32 stem cell transplantation. *Blood*, v.117, n.10, p.2791-9, Mar 10, 2011.

AMMARANOND, P. et al. HIV immune escape at an immunodominant epitope in HLA-B\*27-positive individuals predicts viral load outcome. *J Immunol*, v.186, n.1, p.479-88, Jan 1, 2011.

ANISENKO, A. N. et al. A qPCR assay for measuring the post-integrational DNA repair in HIV-1 replication. *J Virol Methods*, v.262, p.12-19, Dec, 2018.

BARRETT, W. L.;CALLAHAN, T. D.; ORKIN, B. A. Perianal manifestations of human immunodeficiency virus infection: experience with 260 patients. *Dis Colon Rectum*, v.41, n.5, p.606-11; discussion 611-2, May, 1998.

BARRETTA, L. M. et al. Complicações de cateter venoso central em pacientes transplantados com células-tronco hematopoiéticas em um serviço especializado. *Rev. Latino-Am. Enfermagem* www.eerp.usp.br/rlae 24:e2698 2016

BELL, S. A. et al. HIV pre-test information, discussion or counselling? A review of guidance relevant to the WHO European Region. *Int J STD AIDS*, v.27, n.2, p.97-104, Feb, 2016.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. SECRETARIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE. DEPARTAMENTO DE VIGILÂNCIA, P. E. C. D. I.; SEXUALMENTE TRANSMISSÍVEIS, D. H. A. E. D. H. V. Manual Técnico para o Diagnóstico da Infecção pelo HIV em Adultos e Crianças / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde. D. D. V. , Prevenção E Controle Das Infecções Sexualmente Transmissíveis, Do Hiv/Aids E Das e H. Virais. Brasília :: Ministério da Saúde: 149 p p. 2016

BUNNIK, E. M. et al. Adaptation of HIV-1 envelope gp120 to humoral immunity at a population level. *Nat Med*, v.16, n.9, p.995-7, Sep, 2010.

CARVALHO, C. et al. CCR5-Delta32: implications in SLE development. *Int J Immunogenet*, v.41, n.3, p.236-41, Jun, 2014.

CENTERS FOR DISEASE, C. Human T-cell leukemia virus infection in patients with acquired immune deficiency syndrome: preliminary observations. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*, v.32, n.18, p.233-4, May 13, 1983.

CHIU, W. et al. Precision of a multi-level, multi-analyte external assayed quality control for molecular diagnostics platforms monitoring viral load of bloodborne pathogens. Bio-Rad Laboratories. Irvine, CA.:

CONTROL, C. F. D. 1993 revised classification system for HIV infection and expanded surveillance case definition for AIDS among adolescents and adults. *MMWR Recomm Rep*, v.41, n.RR-17, p.1-19, Dec 18, 1992.

CRADICK, T. J. et al. CRISPR/Cas9 systems targeting beta-globin and CCR5 genes have substantial off-target activity. *Nucleic Acids Res*, v.41, n.20, p.9584-92, Nov, 2013.

DALGLEISH, A. G. et al. The CD4 (T4) antigen is an essential component of the receptor for the AIDS retrovirus. *Nature*, v.312, n.5996, p.763-767, 1984/12/01, 1984.

DE SILVA FEELIXGE, H. S. et al. CRISPR/Cas9 and Genome Editing for Viral Disease-Is Resistance Futile? *ACS Infect Dis*, v.4, n.6, p.871-880, Jun 8, 2018.

DENG, H. et al. Identification of a major co-receptor for primary isolates of HIV-1. *Nature*, v.381, n.6584, p.661-6, Jun 20, 1996. DEPARTAMENTO DE VIGILÂNCIA, P. E. C. D. I. S. T., DO HIV/AIDS E DAS HEPATITES VIRAIS, DA SECRETARIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE, DO MINISTÉRIO DA SAÚDE (DIAHV/SVS/MS),. Boletim de Aids e DST HIV/Aids. M. D. S. . 2018

DERAKHSHANI, M. et al. Strategies for elevating hematopoietic stem cells expansion and engraftment capacity. *Life Sci*, p.116598, Jun 24, 2019.

DIAZ, F. J. et al. Frequency of CCR5 delta-32 mutation in human immunodeficiency virus (HIV)-seropositive and HIV-exposed seronegative individuals and in general population of Medellin, Colombia. *Mem Inst Oswaldo Cruz*, v.95, n.2, p.237-42, Mar-Apr, 2000.

DRAGIC, T. et al. HIV-1 entry into CD4+ cells is mediated by the chemokine receptor CC-CKR-5. *Nature*, v.381, n.6584, p.667-73, Jun 20, 1996.

- FALKENHAGEN, A. et al. A novel gene therapy strategy using secreted multifunctional anti-HIV proteins to confer protection to gene-modified and unmodified target cells. *Gene Ther*, v.21, p.175, 12/05/online, 2013.
- FERREIRA, M. H. et al. Association of oral toxicity and taste changes during hematopoietic stem cell transplantation: a preliminary study. *Support Care Cancer*, Jun 24, 2019.
- FINE, E. J. et al. Trans-spliced Cas9 allows cleavage of HBB and CCR5 genes in human cells using compact expression cassettes. *Sci Rep*, v.5, p.10777, Jul 1, 2015.
- FORD, N. et al. The future role of CD4 cell count for monitoring antiretroviral therapy. *Lancet Infect Dis*, v.15, n.2, p.241-7, Feb, 2015.
- GARRED, P. et al. Dual effect of CCR5 delta 32 gene deletion in HIV-1-infected patients. Copenhagen AIDS Study Group. *Lancet*, v.349, n.9069, p.1884, Jun 28, 1997.
- GORDON, S. N. et al. Disruption of intestinal CD4+ T cell homeostasis is a key marker of systemic CD4+ T cell activation in HIV-infected individuals. *J Immunol*, v.185, n.9, p.5169-79, Nov 1, 2010.
- GRANELLI-PIPERNO, A. et al. Efficient interaction of HIV-1 with purified dendritic cells via multiple chemokine coreceptors. *J Exp Med*, v.184, n.6, p.2433-8, Dec 1, 1996.
- GUAN, Y. The first structure of HIV-1 gp120 with CD4 and CCR5 receptors. *Cell Biosci*, v.9, p.2, 2019.
- GUERREIRO, R.; SANTOS-COSTA, Q.; AZEVEDO-PEREIRA, J. M. As quimiocinas e os seus receptores. *Acta Med Port*, v.24, p.967-976, 2011.
- GUPTA, R. K. et al. HIV-1 remission following CCR5 $\Delta$ 32/ $\Delta$ 32 haematopoietic stem-cell transplantation. *Nature*, v.568, n.7751, p.244-248, 2019/04/01, 2019.
- GURYANOV, I. et al. Modeling interaction between gp120 HIV protein and CCR5 receptor. *J Pept Sci*, v.25, n.2, p.e3142, Feb, 2019.
- HESS, G. et al. Diagnosis of human immunodeficiency virus (HIV) infection: multicenter evaluation of a newly developed anti-HIV 1 and 2 enzyme immunoassay. *J Clin Microbiol*, v.32, n.2, p.403-6, Feb, 1994.

HOU, P. et al. Genome editing of CXCR4 by CRISPR/cas9 confers cells resistant to HIV-1 infection. *Sci Rep*, v.5, p.15577, Oct 20, 2015.

HUSAIN, S. et al. First report of a healthy Indian heterozygous for delta 32 mutant of HIV-1 co-receptor-CCR5 gene. *Gene*, v.207, n.2, p.141-7, Jan 30, 1998.

HUTTER, G. et al. CCR5 Targeted Cell Therapy for HIV and Prevention of Viral Escape. *Viruses*, v.7, n.8, p.4186-203, Jul 27, 2015.

HUTTER, G. et al. Long-term control of HIV by CCR5 Delta32/Delta32 stem-cell transplantation. *N Engl J Med*, v.360, n.7, p.692-8, Feb 12, 2009.

KANG, H. et al. CCR5 Disruption in Induced Pluripotent Stem Cells Using CRISPR/Cas9 Provides Selective Resistance of Immune Cells to CCR5-tropic HIV-1 Virus. *Mol Ther Nucleic Acids*, v.4, p.e268, Dec 15, 2015.

KITAYAMA, N. et al. CCR4 and CCR5 expression in a case of subcutaneous panniculitis-like T-cell lymphoma. *Eur J Dermatol*, v.27, n.4, p.414-415, Aug 1, 2017.

KOUJAH, L.; SHUKLA, D.; NAQVI, A. R. CRISPR-Cas based targeting of host and viral genes as an antiviral strategy. *Semin Cell Dev Biol*, Apr 8, 2019.

LI, C. et al. Inhibition of HIV-1 infection of primary CD4+ T-cells by gene editing of CCR5 using adenovirus-delivered CRISPR/Cas9. *J Gen Virol*, v.96, n.8, p.2381-93, Aug, 2015.

LIU, R. et al. Homozygous defect in HIV-1 coreceptor accounts for resistance of some multiply-exposed individuals to HIV-1 infection. *Cell*, v.86, n.3, p.367-77, Aug 9, 1996.

LIU, Z. et al. Genome editing of the HIV co-receptors CCR5 and CXCR4 by CRISPR-Cas9 protects CD4(+) T cells from HIV-1 infection. *Cell Biosci*, v.7, p.47, 2017.

MANNHALTER, J. W. et al. Immunization of chimpanzees with recombinant gp160, but not infection with human immunodeficiency virus type 1, induces envelope-specific Th1 memory cells. *J Infect Dis*, v.171, n.2, p.437-40, Feb, 1995.

MARQUES, A. C. B. et al. Hematopoietic stem cell transplantation and quality of life during the first year of treatment. *Rev. Latino-Am. Enfermagem* [www.eerp.usp.br/rlae](http://www.eerp.usp.br/rlae). 26:e3065 2018

MELIK-PARSADANIANTZ, S.; ROSTENE, W. Chemokines and neuromodulation. *J Neuroimmunol*, v.198, n.1-2, p.62-8, Jul 31, 2008.

MILLER, R. F. et al. Seasonal variation in mortality of *Pneumocystis jirovecii* pneumonia in HIV-infected patients. *Int J STD AIDS*, v.21, n.7, p.497-503, Jul, 2010.

MONTAGNIER, L. Lymphadenopathy-associated virus: from molecular biology to pathogenicity. *Ann Intern Med*, v.103, n.5, p.689-93, Nov, 1985.

MONTAGNIER, L. et al. Lymphadenopathy associated virus and its etiological role in AIDS. *Princess Takamatsu Symp*, v.15, p.319-31, 1984.

MOTTA, P. et al. [Frequency of the mutated allele of CCR-5 receptor in HIV-1 positive and negative individuals in the Province of Chaco]. *Medicina (B Aires)*, v.60, n.4, p.431-4, 2000.

OWEN, W. Schematic of how CCR5 co-receptor works courtesy University of California Santa Barbara. *Ecology of Disease Class: The Black Death and HIV resistance?* [Http://Eemb40.Blogspot.Com/2011/01/Black-Death-and-Hiv-Resistance.Html](http://Eemb40.Blogspot.Com/2011/01/Black-Death-and-Hiv-Resistance.Html) 2011

PALOMINO, D. C. T.; MARTI, L. C. *Quimiocinas e imunidade*. Einstein (São Paulo). 13 2017

PAVLOVIC, M. et al. (RT)-qPCR for detection of and differentiation between RNA and DNA of HIV-1-based lentiviral vectors. *Hum Gene Ther Methods*, Jul 27, 2017.

PAXTON, W. A. et al. The beta-chemokines, HIV type 1 second receptors, and exposed uninfected persons. *AIDS Res Hum Retroviruses*, v.12, n.13, p.1203-7, Sep 1, 1996.

PAXTON, W. A. et al. Relative resistance to HIV-1 infection of CD4 lymphocytes from persons who remain uninfected despite multiple high-risk sexual exposure. *Nat Med*, v.2, n.4, p.412-7, Apr, 1996.

PETERS, K. M. et al. Effect of Sacral Neuromodulation on Outcome Measures and Urine Chemokines in Interstitial Cystitis/Painful Bladder Syndrome Patients. *Low Urin Tract Symptoms*, v.7, n.2, p.77-83, May, 2015.

PIOT, P. et al. [AIDS and human immunodeficiency virus infection in Africa]. *Verh K Acad Geneeskde Belg*, v.50, n.6, p.519-60, 1988.

QUINN, T. C. et al. Serologic and immunologic studies in patients with AIDS in North America and Africa. The potential role of infectious agents as cofactors in human immunodeficiency virus infection. *JAMA*, v.257, n.19, p.2617-21, May 15, 1987.

ROSENBERG, N. E. et al. How can we better identify early HIV infections? *Curr Opin HIV AIDS*, v.10, n.1, p.61-8, Jan, 2015.

SAAYMAN, S. et al. The therapeutic application of CRISPR/Cas9 technologies for HIV. *Expert Opin Biol Ther*, v.15, n.6, p.819-30, Jun, 2015.

SAÚDE, S. D. V. À. Boletim Epidemiológico HIV/AIDS e outras Infecções Sexualmente Transmissíveis-IS. S. D. S.-. Df. DF: Secretaria de Saúde nº 01 2018

SERETI, I.;RODGER, A. J.; FRENCH, M. A. Biomarkers in immune reconstitution inflammatory syndrome: signals from pathogenesis. *Curr Opin HIV AIDS*, v.5, n.6, p.504-10, Nov, 2010.

SHIELS, M. S. et al. HIV Infection, Immunosuppression, and Age at Diagnosis of Non-AIDS-Defining Cancers. *Clin Infect Dis*, v.64, n.4, p.468-475, Feb 15, 2017.

SHIELS, M. S. et al. Cancer burden in the HIV-infected population in the United States. *J Natl Cancer Inst*, v.103, n.9, p.753-62, May 4, 2011.

SMITH, M. W. et al. CCR5-delta 32 gene deletion in HIV-1 infected patients. *Lancet*, v.350, n.9079, p.741; author reply 742, Sep 6, 1997.

SOLLOCH, U. V. et al. Frequencies of gene variant CCR5-Delta32 in 87 countries based on next-generation sequencing of 1.3 million individuals sampled from 3 national DKMS donor centers. *Hum Immunol*, v.78, n.11-12, p.710-717, Nov, 2017.

TEO, I. A. et al. Reliable and reproducible LightCycler qPCR for HIV-1 DNA 2-LTR circles. *J Immunol Methods*, v.270, n.1, p.109-18, Dec 1, 2002.

VANDEVELDE, M. et al. ADA, a potential anti-HIV drug. *AIDS Res Hum Retroviruses*, v.12, n.7, p.567-8, May 1, 1996.

VARGAS, A. E. et al. Frequency of CCR5D32 in Brazilian populations. *Braz J Med Biol Res*. Ribeirão Preto. 39 2006



VERHEYEN, J. et al. Rapid Rebound of a Preexisting CXCR4-tropic Human Immunodeficiency Virus Variant After Allogeneic Transplantation With CCR5 Delta32 Homozygous Stem Cells. *Clin Infect Dis*, v.68, n.4, p.684-687, Feb 1, 2019.

WALLIS, R. S. et al. Biomarkers and diagnostics for tuberculosis: progress, needs, and translation into practice. *Lancet*, v.375, n.9729, p.1920-37, May 29, 2010.

WANG, B. et al. CCR5-delta 32 gene deletion in HIV-1 infected patients. *Lancet*, v.350, n.9079, p.742, Sep 6, 1997.

WANG, W. et al. CCR5 gene disruption via lentiviral vectors expressing Cas9 and single guided RNA renders cells resistant to HIV-1 infection. *PLoS One*, v.9, n.12, p.e115987, 2014.

WANG, Y. J. et al. Assessment of the susceptibility of mutant HIV-1 to antiviral agents. *J Virol Methods*, v.165, n.2, p.230-7, May, 2010.

WHO. Consolidated Guidelines on HIV Testing Services:. In: (Ed.). Consolidated Guidelines on HIV Testing Services: 5Cs: Consent, Confidentiality, Counselling, Correct Results and Connection 2015. Geneva, 2015. Consolidated Guidelines on HIV Testing Services:. (WHO Guidelines Approved by the Guidelines Review Committee)

YODER, K. E.; FISHEL, R. Real-time quantitative PCR and fast QPCR have similar sensitivity and accuracy with HIV cDNA late reverse transcripts and 2-LTR circles. *J Virol Methods*, v.153, n.2, p.253-6, Nov, 2008.

YU, S. et al. Simultaneous Knockout of CXCR4 and CCR5 Genes in CD4+ T Cells via CRISPR/Cas9 Confers Resistance to Both X4- and R5-Tropic Human Immunodeficiency Virus Type 1 Infection. *Hum Gene Ther*, v.29, n.1, p.51-67, Jan, 2018.

ZHANG, Y. et al. CRISPR-mediated activation of endogenous BST-2/tetherin expression inhibits wild-type HIV-1 production. *Sci Rep*, v.9, n.1, p.3134, Feb 28, 2019.