UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO

CENTRO DE BIOCIÊNCIAS

DEPARTAMENTO DE GENÉTICA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA

DALILA BERNARDES LEANDRO

Polimorfismos nos genes *IFITM3* e *BST2* e sua possível associação com a susceptibilidade à transmissão vertical do HIV-1

Recife

2019

DALILA BERNARDES LEANDRO

Polimorfismos nos genes *IFITM3* e *BST2* e sua possível associação com a susceptibilidade à transmissão vertical do HIV-1

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Genética da Universidade Federal de Pernambuco como parte dos requisitos exigidos para obtenção do título de mestre em Genética.

Área de concentração: Genética

Orientador: Prof. Dr. Rafael Lima Guimarães

Recife

2019

Catalogação na fonte
Elaine C Barroso (CRB4/1728)

Leandro, Dalila Bernardes

Polimorfismos nos genes IFITM3 e BST2 e sua possível associação com a susceptibilidade à transmissão vertical do HIV-1 / Dalila Bernardes Leandro - 2019.

133 folhas: il., fig., tab.
Orientador: Rafael Lima Guimarães

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco. Centro de Biociências. Programa de Pós-Graduação em Genética. Recife, 2019.
Inclui referências e anexos

1. Polimorfismo (genética) 2. Genes 3. HIV-1 I. Guimarães, Rafael Lima (orient.) II. Título

576.5 CDD (22.ed.) UFPE/CB-2020-042

DALILA BERNARDES LEANDRO

Polimorfismos nos genes *IFITM3* e *BST2* e sua possível associação com a susceptibilidade à transmissão vertical do HIV-1

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Genética da Universidade Federal de Pernambuco como parte dos requisitos exigidos para obtenção do título de mestre em Genética.

Aprovado em 26/08/2019

BANCA EXAMINADORA:

Dr. Rafael Lima Guimarães
Universidade Federal de Pernambuco (Orientador)

Dra. Paula Sandrin Garcia (Examinador Interno)
Universidade Federal de Pernambuco

Dr. Luiz Cláudio Arraes de Alencar (Examinador Externo)
Instituto de Medicina Integral Professor Fernando Figueira

Dr. Fabrício Oliveira Souto (Examinador Externo)
Universidade Federal de Pernambuco – Campus Caruaru

AGRADECIMENTOS

Agradeço a minha família, minha mãe e melhor amiga Marlene Bernardes, meus irmãos, Diógenes e Emanuel, por estarem sempre comigo, aceitando e apoiando minhas decisões; principalmente meu esposo, Rodrigo Nascimento, cujo apoio e companheirismo é incondicional;

Ao grande amigo Josué Jeyzon, por em um dia onde tudo parecia perdido, ter indicado um caminho, apresentando o grupo de pesquisa Patgen, por sua torcida e companheirismo de sempre;

Ao meu orientador, Prof. Dr. Rafael Guimarães, pelos ensinamentos, pela oportunidade de integrar sua equipe e confiança;

As professoras Drª Jaqueline Azevedo, pelo exemplo de garra e determinação, e Drª Paula Sandrin de sabedoria, compreensão e humanidade;

As irmãs que o mestrado me proporcionou, Jessyca e Isaura, por todo o apoio, parceria e pelas palavras amigas nas dificuldades;

Aos queridos companheiros do grupo de PatGen (Carol, Leandro, Wlisses, Paulo, Adna, Denise, Ronald, Marina e tantos outros), pela ajuda incondicional, por sua inestimável colaboração no aprendizado das técnicas e pela alegria, que tornam o laboratório um ambiente mais agradável ao trabalho;

Ao fantástico elo criado entre o grupo de transmissão vertical (Jessyca, Jeanne, Maria Carollayne), em especial ao grande amigo e conselheiro que Deus colocou em meu caminho, Dr. Ronaldo Celerino, ao qual devo grande parte deste trabalho. Sem vocês, muito provavelmente, eu não teria conseguido;

A toda equipe do IMIP pelo apoio durante as coletas e análise dos prontuários, em especial Ana, Fábio e Bárbara, inclusive aos médicos Drª Gerlane e Dr. Luiz Cláudio, pela atenção, incentivo e disponibilidade. Mas principalmente aos pacientes, que contribuíram não só com o material biológico, mas com suas histórias de vida, mudando completamente minha forma de ver e pensar o HIV/Aids;

Aos membros da banca examinadora por suas valorosas contribuições e sugestões desde a fase de qualificação;

A todos que contribuíram direta ou indiretamente para concepção, execução e conclusão deste trabalho, deixo minha eterna e sincera gratidão.

Muito obrigada a todos!

RESUMO

Os genes *Interferon Induced Transmembrane Protein 3* (*IFITM3*) e *Bone Marrow Stromal Cell Antigen-2 (BST2/Tetherin)* codificam importantes fatores de restrição, protegendo as células do hospedeiro de diversas infecções virais, inclusive HIV-1. Proteínas IFITM-3 e Teterina, codificadas por tais genes, podem interferir no desfecho da transmissão vertical do HIV-1. O objetivo desta pesquisa foi avaliar a possível associação entre polimorfismos nos genes *IFITM3* e *BST2*, e a susceptibilidade à transmissão vertical do HIV-1. Um estudo tipo caso-controle foi realizado com 216 mães infectadas pelo HIV-1 e seus filhos expostos infectados (90) e não infectados (126). Todas as mães envolvidas no estudo apresentaram ao menos uma carga viral detectável ao longo da gestação. A genotipagem do IFITM3 e BST2 foi realizada utilizando ensaio *Taqman* na plataforma de PCR em Tempo Real. Análises estatísticas foram realizadas utilizando o Teste Exato de Fisher, considerando o valor de $p < 0,05$. No grupo de crianças expostas, o alelo rs12252C do *IFITM3* foi associado com a transmissão vertical do HIV-1 (OR=2.02, 95%IC=1.11-3.75, p=0.020), bem como os genótipos de risco CC/TC. Enquanto, no grupo de mães infectadas pelo HIV-1, os três polimorfismos estudados no *BST2*, demonstraram associação com a infecção pelo HIV-1 - alelo rs919267T (OR=1.69, 95%IC=1.01-2.81, p=0.035), alelo rs919266A (OR=4.57, 95%IC=1.54-16.42, p=0.002) e alelo rs9576A (OR=2.70, 95%IC=1.42-5.28, p=0.001). Assim, o presente estudo permitiu uma melhor compreensão dos fatores envolvidos na transmissão vertical do HIV-1.

Palavras-Chave: HIV-1. *IFITM3*. *BST2*. Transmissão vertical. Polimorfismo.

ABSTRACT

The Interferon Induced Transmembrane Protein 3 (*IFITM3*) and Bone Marrow Stromal Cell Antigen-2 (*BST2*/Tetherin) genes encode important restriction factors, protecting the host cells from diverse virus infections, including HIV-1. IFITM-3 and Tetherin proteins, encoded by such genes, may interfere with the outcome of HIV-1 vertical transmission. The purpose of this research was to analyze the possible association between polymorphisms in *IFITM3* and *BST2* and the HIV-1 vertical transmission susceptibility. A case-control study was performed with 216 HIV-1 infected mothers and their infected (90) and uninfected (126) exposed children. All mothers enrolled in this study had at least one detectable viral load during pregnancy. The *IFITM3* and *BST2* genotyping was performed using Taqman assay in Real Time PCR platform. Fisher's Exact Test was used for statistical analyzes, considering p-value <0.05. In the exposed children group, the *IFITM3* rs12252C allele was associated with susceptibility to vertical transmission of HIV-1 (OR=2.02, 95%CI=1.11-3.75, p=0.020), as well as the risk genotypes CC/TC. While, in the group of HIV-1 infected mothers, the three polymorphisms studied in *BST2* demonstrated association to HIV-1 infection - rs919267T allele (OR=1.69, 95%CI=1.01-2.81, p=0.035), rs919266A allele (OR=4.57, 95%CI=1.54-16.42, p=0.002) and rs9576A allele (OR=2.70, 95%CI=1.42-5.28, p=0.001). Thus, the present study allowed a better understanding of the restriction factors involved in the vertical transmission of HIV-1.

Keywords: HIV-1. *IFITM3*. *BST2*. Vertical transmission. Polymorphism.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1- Mandala de Prevenção Combinada do HIV. Fonte: Adaptado de Programa Estadual de IST/Aids/HIV/DGCDA/SEVS/SES-PE..... 27

Figura 2- Comparação entre progresso da Meta 90-90-90 no Brasil e no mundo. Índices referentes ao ano de 2018. Fonte: A autora, 2019. Baseado em dados da UNAIDS, 2019..... 30

Figura 3- Representação esquemática da classificação do HIV. Fonte: Adaptado de (Ministério da Saúde do Brasil 2017d)..... 35

Figura 4- Estrutura Morfológica do HIV. Fonte: Adaptado de (Abbas et al. 2018) 37

Figura 5- Estrutura Genética do HIV-1. A localização dos genes e as principais proteínavirais codificadas: estruturais (gp120 e gp41; p17 p24, p6), relacionadas com a replicação (p66, p51, p31, p10) e relacionadas com a regulação (*vif, rev, tat, vpr, vpu, nef)*. Nas extremidades 5' e 3', regiões longas terminais (LTR) flanqueiam o genoma. Fonte: Adaptado de (Miller 2010) 38

Figura 6- tapas do ciclo replicativo do HIV-1. Fonte: Adaptado de (Abbas et al. 2017)..... 39

Figura 7 Curso clínico da infecção pelo HIV-1. Fonte: Adaptado de (Maartens et al. 2014) 42

Figura 8- Estrutura da proteína CCR5 e sua variante não funcional. Fonte: Adaptado de (Samson et al. 1996 e Lopalco 2010) 56

Figura 9- Influência da CCR5Δ32 na progressão e susceptibilidade à infecção pelo HIV-R5. Fonte: Adaptado de https://mskeehu.weebly.com/interesting-science/are-you-caucasian-you-may- be-immune-to-hiv. Acesso em 19/06/2019 57

Figura 10- Representação da família de genes *IFITMs* humanos. Em azul, os três genes relacionados a atividade antiviral, com enfoque no *IFITM3* em azul marinho. A linha vertical vermelha indica a posição de um importante SNP na restrição de várias viroses, o rs12252. Fonte: Adaptado de (Zhao et al. 2019) 59

Figura 11- Possíveis topologias da IFITM-3. Destaque para a transmembranar tipo II, mais aceita. Fonte: Adaptado de (Zhao et al. 2019)..... 60

Figura 12- Modificações pós-traducionais da IFITM-3. Representando o direcinamento da proteína no interior da célula, dependente destas modificações. Fonte: Adaptado de (John et al. 2013) 63

Figura 13- Modificação estrutural na IFITM-3 ocasionada a partir do polimorfismo rs12252. Fonte: Modificado de https://en.wikipedia.org/wiki/Alternative_splicing..... 64
Figura 14- Localização da IFITM-3 e sua variante IFITM3Δ21. Microscopia confocal fluorescente de linhagem celular 293T contendo ligante N-terminal FLAG (pQCXIP-FLAG-IFITM3) marcadas pelo anticorpo anti-FLAG M2 em verde, mostrando em A) a distribuição em endossomos, lisossomos, corpos multivesiculares e pequena quantidade na membrana plasmática, da proteína selvagem IFITM-3 e em B) a localização quase que exclusivamente periférica da variante IFITM3Δ21. Fonte: Compton et al. 2016 65
Figura 15- Estrutura da Teterina/BST-2. Fonte: A autora (2019) 68
Figura 16- Mecanismo de restrição da Teterina em célula infectada pelo HIV-1. Destaque para o processo de endocitose. Fonte: Adaptado de (Martin-Serrano and Neil 2011) 69
Figura 17- Atuação da Teterina na presença e ausência da proteína Vpu do HIV-1. Fonte: Adaptado de (Sugden et al. 2016)..... 70
Figura 18- População envolvida no estudo. Fonte: A autora (2019) 72
Figura 19- Etapas de seleção do grupo amostral. Fluxograma representativo das etapas de exclusão, desde o total de pares coletados até a seleção dos 216 pares que compõem o presente estudo. Fonte: A autora (2019) 74
Figura 20- Mapa do desequilíbrio de ligação dos três polimorfismos do gene *BST2* no grupo de crianças expostas ao HIV-1 estudado. Mapa obtido através do software Haploview 4.2., onde os valores D '(%) são mostrados nos quadros..... 93
Figura 21- Mapa do desequilíbrio de ligação dos três polimorfismos do gene *BST2* no grupo de mães vivendo com HIV/Aids estudado. Mapa obtido através do software Haploview 4.2., onde os valores D '(%) são mostrados nos quadros..... 94

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Genes dos Fatores Restrição Viral envolvidos no estudo..... 55

Tabela 2- Testes de associação com as variáveis clínicas e epidemiológicas das crianças expostas (teste Exato de Fisher, exceto para idade da criança de entrada no sistema, carga viral, contagem de células TCD4+ e contagem de células TCD8+)..... 79

Tabela 3- Testes de associação com as variáveis clínicas e epidemiológicas maternas (teste Exato de Fisher, exceto para idade materna no parto e carga viral materna na gestação) 82

Tabela 4- Testes de associação com as variáveis clínicas e exposição a TARV na gestação (teste Exato de Fisher, exceto para idade materna no momento do parto)..... 83

Tabela 5- Distribuição das frequências alélicas e genotípicas da deleção CCR5Δ32 do gene *CCR5* e teste de associação com ocorrência da transmissão vertical do HIV-1 nos grupos estudados (teste Exato de Fisher) 85

Tabela 6- Frequências dos genótipos combinados das crianças expostas e suas respectivas mães para a deleção CCR5Δ32 do gene *CCR5* e teste de associação com ocorrência da transmissão vertical do HIV-1 nos grupos estudados (teste Exato de Fisher)..... 85

Tabela 7- Distribuição das frequências alélicas e genotípicas do polimorfismo rs12252 do gene *IFITM3* e teste de associação com ocorrência da transmissão vertical do HIV-1 nos grupos estudados (teste Exato de Fisher) 87

Tabela 8- Frequências dos genótipos combinados das crianças expostas e suas respectivas mães para o polimorfismo rs12252 do gene *IFITM3* e teste de associação com ocorrência da transmissão vertical do HIV-1 nos grupos estudados (teste Exato de Fisher)..... 88

Tabela 9- Distribuição das frequências alélicas e genotípicas dos polimorfismos do gene *BST2* e teste de associação com ocorrência da transmissão vertical do HIV-1 nas crianças expostas estudadas (teste Exato de Fisher) 89

Tabela 10- Distribuição das frequências alélicas e genotípicas dos polimorfismos do gene *BST2* e teste de associação com ocorrência da transmissão vertical do HIV-1 nas mães vivendo com HIV/Aids estudadas (teste Exato de Fisher) 91

Tabela 11- Frequências dos genótipos combinados das crianças expostas e suas respectivas mães para os polimorfismos do gene *BST2* e teste de associação com ocorrência da transmissão vertical do HIV-1 nos grupos estudados (teste Exato de Fisher)..... 92

Tabela 12- Distribuição haplotípica para variantes do gene *BST2* no grupo de crianças expostas ao HIV-1 estudado (teste Exato de Fisher)..... 93

Tabela 13- Distribuição haplotípica para variantes do gene *BST2* no grupo de mães vivendo com HIV/Aids estudado (teste Exato de Fisher)..... 94

Tabela 14- Variáveis clínicas e genéticas incluídas no modelo de regressão logística para explicar a ocorrência da transmissão vertical do HIV-1 (n=174)..... 95

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS SÍMBOLOS

ABC	Abacavir
ACTG 076	*AIDS Clinical Trial Group Study 076*
aids	*Acquired Immunodeficiency Syndrome*
APOBEC3G	Apolipoprotein B mRNA editing enzyme, catalytic polypeptide-like 3G
ARV	Antirretroviral
AZT	*Azidothymidine*
BBVs	Bloodbone viruses
CCR5	*Chemokine (C-C motif) receptor 5 gene*
CCR5	*Chemokine (C-C motif) receptor 5*
CCR5Δ32	*CCR5 32 pb deletion*
CD4+	*Cluster of differentiation 4 positive*
CD8+	*Cluster of differentiation 8 positive*
CDC	*Center for Disease Control and Prevention*
CEU	*Northen and Western European ancestry population*
CMV	Citomegalovírus
CPqAM	Centro de Pesquisa Aggeu Magalhães
CRFs	Cepas Recombinantes Circulantes
CV-HIV	Carga Viral – HIV
CXCR4	*Chemokine (C-X-C motif) receptor 4*
d4T	Estavudina
DENV	*Dengue vírus*
DMRs	Mutações de Resistência as Drogas

DNA	*Deoxyribonucleic Acid*
EBOV	*Ebola virus*
EDTA	*Ethylene diamine tetraacetic acid*
FDA	*Food and Drug Administration*
gp120	Glicoproteína 120
gp41	Glicoproteína 41
GC	Guanina – Citosina
GRID	*Gay-related immunodeficiency*
HAART	*Highly Active Antiretroviral Treatment*
HCV	*Hepatitis C vírus*
HIV	*Human Immunodeficiency Virus*
HIV-1	*Human Immunodeficiency Virus type 1*
HIV-2	*Human Immunodeficiency Virus type 2*
HIV-R5	*Human Immunodeficiency Virus – R5 tropic*
HSH	Homens que fazem sexo com homens
HTLV-I	*Human T-cell Lymphotropic vírus I*
HTLV-III	*Human T-cell Lymphotropic virus III*
I	Integrase
IAV	*Influenza A Vírus*
IF	Inibidores de Fusão
IFITM3	*Interferon Induced Transmembrane Protein 3 gene*
IFITM-3	*Interferon Induced Transmembrane Protein-3*
IFITM3Δ21	*IFITM3 21 amino acids deletion*
IMIP	Instituto de Medicina Integral Professor Fernando Figueira

INI	Inibidores de Integrase
INNTR	Inibidores Não-Nucleosídeos da Transcrição Reversa
INTR	Inibidores Nucleosídeos da Transcrição Reversa
IP	Inibidores de Protease
LAV	*Lymphadenopathy-Associated Virus*
LIKA	Laboratório de Imunopatologia Keizo Asami
LTR	*Long Terminal Repeat*
MAF	*Minor Allele Frequency*
MARV	*Marburg vírus*
MEGA	*Molecular Evolutionary Genetics Analysis*
Mg	Miligrama(s)
Ml	Mililitro(s)
MHC	Complexo Maior de Histocompatibilidade
mRNA	*Messenger RNA*
NCBI	*National Center for Biotechnology Information*
NF-κB	Fator Nuclear Kappa B
ng/ml	nanograma por mililitro
Nm	Nanômetro(s)
NVP	Nevirapina
OMS	Organização Mundial da Saúde
P	Protease
Patgen	Patologia Molecular e Medicina Genômica
Pb	pares de bases
PCR	Reação em Cadeia da Polimerase

PEP	Profilaxia Pós-Exposição
PrEP	Profilaxia Pré-Exposição ao HIV
PUR	*Puerto Rico population*
PVHA	Pessoas Vivendo com HIV/Aids
Ral	Raltegravir
RHR	Departamento de Saúde Reprodutiva e Pesquisa
RN	Recém-nascido
RNA	*Ribonucleic Acid*
Ser	Serina
SES-PE	Secretaria Estadual de Saúde de Pernambuco
SINAN	Sistema de Informação de Agravos de Notificação
SIV	*Simian Immunodeficiency Virus*
SIVcm	*Simian Immunodeficiency Virus* – mangabeys
SIVgor	*Simian Immunodeficiency Virus* – gorila selvagens
SIVcpz	*Simian Immunodeficiency Virus* – chimpanzés
SMX-TMP	Sulfametoxazol/Trimetoprima
SNP	*Single Nucleotide Polymorphism*
Sp1	*Sp1 transcription fator*
SUS	Sistema Único de Saúde
TARV	Terapia Antirretroviral
T CD4+	*Thymus-derived Lymphocytes e Cluster of Differentiation 4 positive*
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
TDF	Tenofovir

TR	Transcriptase Reversa
TRIM5α	*Tripartite Motif Protein Family 5alfa*
UFPE	Universidade Federal de Pernambuco
UNAIDS	*Joint United Nations Program on HIV/AIDS*
UNFPA	*United Nations Population Fund*
UNICEF	*United Nations Children's Fund*
UTR	*Untranslated Region*
VO	Via Oral
Vpu	*Viral Protein U*
WNV	*West Nilo vírus*
WHO	*World Health Organization*
YRI	Yoruba population
ZIKV	*Zika vírus*
3TC	Lamivudina

LISTA DE SÍMBOLOS

β-TrCP	*Beta-transducin repeats-containing proteins*
Δ32	Delta 32
µL	Microlitro
µM	Micromolar

SUMÁRIO

1. **INTRODUÇÃO** 19
1.1 OBJETIVOS 21
1.1.1 **Objetivo Geral** 21
1.1.2 **Objetivos Específicos** 21
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA 22
2.1 SÍNDROME DA IMUNODEFICIÊNCIA ADQUIRIDA 22
2.1.1 **Histórico** 22
2.1.2 **Epidemiologia** 28
2.2 AGENTE ETIOLÓGICO – HIV-1 33
2.2.1 **Aspectos Filogenéticos** 33
2.2.2 **Aspectos Morfológicos** 36
2.2.3 **Aspectos Genéticos** 37
2.2.4 **Ciclo do HIV-1** 39
2.2.5 **Patogênese** 41
2.3 TRANSMISSÃO DO HIV-1 43
2.4 MEDIDAS PREVENTIVAS DA TRANSMISSÃO VERTICAL DO HIV-1 47
2.4.1 **Ampla Testagem das gestantes** 47
2.4.2 **Terapia Antirretroviral na Gestação** 48
2.4.3 **Modalidade do parto** 50
2.4.4 **AZT Intraparto** 51
2.4.5 **AZT Profilático ao recém-nascido** 52
2.4.6 **Inibição do Aleitamento Materno** 52
2.5 VARIABILIDADE GENÉTICA E FATORES DE RESTRIÇÃO 53
2.6 *CCR5* E A DELEÇÃO DELTA 32 (Δ32) 55
2.7 *IFITM3* 58
2.7.1 **O gene *IFITM3*** 58
2.7.2 **A proteína IFITM-3 e seu papel na infecção pelo HIV-1** 59
2.7.3 **Polimorfismo selecionado no *IFITM3*** 63
2.8 *BST2* 66
2.8.1 **O gene *BST2*** 66
2.8.2 **A proteína Teterina e seu papel na infecção pelo HIV-1** 67
2.8.3 **Polimorfismos selecionados no *BST2*** 70
3 **METODOLOGIA** 72

3.1 DESENHO DE ESTUDO 72
3.2 DESCRIÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DA POPULAÇÃO, TAMANHO AMOSTRAL E ELEGIBILIDADE.....72
3.3 COLETA DAS AMOSTRAS 74
3.4 EXTRAÇÃO DO DNA 74
3.5 SELEÇÃO DOS POLIMORFISMOS DE BASE ÚNICA (SNPS) 75
3.6 GENOTIPAGEM 75
3.7 ANÁLISES ESTATÍSTICAS 76
4 **RESULTADOS** 77
5.1 VARIÁVEIS CLÍNICAS E EPIDEMIOLÓGICAS.....77
5.2 VARIÁVEIS GENÉTICAS.....84
5.2.1 **Deleção CCR5Δ32**.....84
5.2.2 **Polimorfismo rs12252 do gene *IFITM3***.....85
5.2.3 **Polimorfismos no gene *BST2***.....88
5.2.4 **Haplótipos formados pelos SNPs do *BST2***.....92
5.3 REGRESSÃO LOGÍSTICA.....94
5 DISCUSSÃO 96
6 CONCLUSÕES.....**103**
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS 104
ANEXO A – PARECER DE APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA DO IMIP.....122
ANEXO B – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (MÃES).....123
ANEXO C – TERMO DE ASSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (CRIANÇAS).....125
CURRÍCULO LATTES.....127

1. INTRODUÇÃO

Mais de três décadas de pesquisas em torno da Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (aids) e de seu patógeno, o Vírus da Imunodeficiência Humana (HIV), e esta doença de caráter físico, psicológico e estigmático, ainda persiste incurável.

É fato que, no decorrer de todos estes anos, muito se aprendeu no que tange aos mecanismos fisiopatológicos do vírus, estratégias preventivas, e principalmente com relação a medicamentos para tratar adequadamente as Pessoas Vivendo com HIV/Aids (PVHA). Este, por sinal, foi o campo onde os maiores avanços foram observados. Afinal, hoje, com uma boa aderência ao tratamento e mantendo sua carga viral indetectável, o paciente não morre mais em decorrência da aids e praticamente não transmite a doença. No entanto, os efeitos a longo prazo do uso constante destas drogas estão longe de serem completamente conhecidos. Pelo contrário, é cada vez maior a preocupação com as doenças crônicas associadas ao envelhecimento de PVHA em terapia antirretroviral.

Essa situação se torna ainda mais preocupante quando analisada no contexto da transmissão vertical do HIV-1. Crianças expostas ao vírus desde o útero materno que, na melhor das hipóteses, farão uso pelo resto de suas vidas, de uma medicação a qual não se conhece bem ao certo seus efeitos a longo prazo. Além disto, são crianças que já nascem condenadas a todo o estigma que a doença traz consigo. Motivos como estes, fazem da erradicação da transmissão vertical do HIV-1 uma das prioridades dos programas de prevenção do HIV/Aids no mundo.

Porém, é sabido que nem toda criança exposta ao HIV-1 invariavelmente é infectada, podendo este desfecho ser modulado por diferentes fatores. Dentre os quais, os fatores de restrição - conjunto de componentes da resposta intrínseca da imunidade inata capazes de intervir em vários estágios da infecção viral – bem como a variabilidade genética que inside sobre eles, têm sido objeto de interesse de vários estudos.

Dois exemplos interessantes de tais fatores de restrição são as proteínas IFITM-3 e a Teterina, presentes tanto na membrana plasmática, quanto nas membranas internas, principalmente de células envolvidas na defesa do organismo. Em ambos os casos, seus efeitos já foram associados à restrição de várias infecções virais, inclusive o HIV-1.

Assim, considerando que as variações genéticas interindividuais podem intervir no desfecho da transmissão vertical do HIV-1, e que tanto as proteínas IFITM-3,

quanto a Teterina, têm se mostrado promissores fatores de restrição ao vírus, é plausível o estudo de polimorfismos nos genes *IFITM3* e *BST2,* que codificam tais proteínas, em grupos de crianças expostas ao HIV-1 com diferentes desfechos. É o que o presente estudo se propõe.

1.1 OBJETIVOS

1.1.1 Objetivo Geral

Avaliar a possível associação entre polimorfismos nos genes *IFITM3* e *BST2* com a susceptibilidade à transmissão vertical do HIV-1.

1.1.2 Objetivos Específicos

- Analisar os prontuários dos pacientes e criar um banco de dados com todas as informações relevantes à transmissão vertical do HIV-1;
- Verificar a relação de risco/proteção entre as variáveis clínicas e a ocorrência da transmissão vertical do HIV-1;
- Avaliar a frequência da transmissão vertical no grupo de estudo;
- Determinar a frequência alélica e genotípica da deleção Δ32 no gene *CCR5* e do polimorfismo rs12252 do *IFITM3* e, as frequências alélicas, genotípicas e haplotípicas dos polimorfismos do *BST2* (rs919267, rs919266 e rs9576) entre os dois grupos avaliados;
- Verificar a associação de risco/proteção entre as frequências alélicas, genotípicas e haplotípicas obtidas dos SNPs, e a ocorrência de transmissão vertical relatada no prontuário médico dos pacientes da amostra.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 SÍNDROME DA IMUNODEFICIENCIA ADQUIRIDA

2.1.1 Histórico

A década de 80, com a descrição dos primeiros casos da que seria mais tarde conhecida como aids, marcou o início de uma das mais intrigantes batalhas entre pesquisadores e um patógeno. Entre os meses de outubro de 1980 e maio de 1981, cinco homens deram entrada em três diferentes hospitais de Los Angeles, todos apresentando um tipo de pneumonia causada pelo fungo unicelular *Pneumocystis carinii.* Tal quadro clínico era comumente encontrado em pacientes com algum tipo de deficiência imunológica grave como aqueles que foram submetidos a transplante de medula óssea, quimioterapia, ou que estivessem tomando imunossupressores devido a uma doença autoimune. Porém, este não era o caso de nenhum dos cinco jovens; eles apresentavam uma doença de imunodeprimidos sem nenhuma causa aparente. Em comum, além da pneumocistose, os pacientes apresentavam infecção por candidíase, diagnóstico laboratorial de infecção por citomegalovírus (CMV) e eram homens que fazem sexo com homens (HSH). Como os Estados Unidos detêm um sistema de vigilância epidemiológica e de notificação de agravos muito eficiente, a rápida associação dos cinco casos e a suspeita de uma doença emergente foi possível (CDC 1981; Masur et al. 1981; Barré-Sinoussi, et al., 2013; Gottlieb et al. 1981).

Porém, o fato do primeiro relato datar somente da década de 80, não significa que antes disto não havia pessoas infectadas pelo HIV, muito pelo contrário. Acredita-se que desde o começo do século 20 ou final do século 19 já existiam humanos infectados pelo vírus, desenvolvendo imunodeficiência, doenças oportunistas e morrendo em decorrência da aids. Inclusive, o caso mais antigo documentado de infecção por HIV foi reportado em uma amostra de soro em Kinshasa (República Democrática do Congo), armazenada desde 1959 e posteriormente testada. Apesar disto, foram os cinco jovens de Los Angeles que ficaram oficialmente registrados como os primeiros casos de aids no mundo (De Cock, 2001; Murphy et al. 2010).

Devido ao perfil sexual dos pacientes acometidos, o contato homossexual foi inicialmente conjecturado como única forma de contágio do desconhecido agente imunossupressor. Partindo deste pressuposto, a doença foi denominada por um período de *Gay-related immunodeficiency* (GRID). Porém, com o aumento no número de infectados, o contágio em outros grupos populacionais começou a ser reportado; transmissão vertical, pessoas que contraíram a doença por transfusão sanguínea,

homens heterossexuais, usuários de drogas injetáveis e mulheres. Assim, em 1982, como o termo GRID já não representava adequadamente a síndrome, o *Centers for Disease Control and Prevention* (CDC) nomeou a doença emergente como Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (do inglês, aids), título mais condizente com a depressão do sistema imune associada a maior susceptibilidade de desenvolver infecções oportunistas que ela acarreta (CDC 1982; Rozenbaum et al. 1982; Vilaseca et al. 1982; CDC 1983).

Assim, no início de 1983, a doença havia se disseminado por vários lugares do mundo e passou a ser considerada uma epidemia. Os Estados Unidos já haviam registrado mais de 700 casos e recebido cerca de setenta relatórios de casos da aids em diversos países principalmente da Europa ocidental, como Inglaterra, Alemanha, Suíça e França. Outros como Canadá, Haiti, Ilhas do Caribe e alguns da América do Sul, inclusive o Brasil, também reportavam suas primeiras ocorrências (CDC 1983).

No entanto, apesar de decorridos quase três anos do relato dos primeiros casos, pouco havia se avançado na compreensão dos mecanismos envolvidos na aids. A identidade do agente etiológico, até então desconhecida, era a questão que mais intrigava os pesquisadores. Não se fazia ideia se o agente imunossupressor era uma bactéria, um vírus, uma neoplasia, algum tipo de droga, ou até o próprio CMV. Foi quando, em 1983 na França, mais especificamente no Instituto Pasteur, o pesquisador Luc Montagnier isolou um retrovírus de um paciente com aids, determinando assim, o agente causador da doença emergente. Tal agente foi provisoriamente denominado *Lymphadenopathy-Associated Virus* (LAV). Um ano mais tarde, em 1984, o pesquisador americano Robert Gallo do Instituto Nacional do Câncer dos Estados Unidos também anunciou ter encontrado um provável agente infectante, o *Human T-lymphotropic virus III* (HTLV-III). Contudo, após análise genética dos dois possíveis agentes causais, concluiu se tratar do mesmo vírus, ficando o crédito da descoberta para o francês Luc Montagnier que recebeu o prêmio Nobel de 2008 por tal feito. Apesar disto, foram necessários três anos para que o vírus fosse renomeado pela Comissão Internacional para a Taxonomia dos Vírus. Assim, em 1986, o retrovírus causador da aids foi definitivamente intitulado Vírus da Imunodeficiência Humana tipo 1 (HIV-1) (Barré-Sinoussi et al. 1983; Gallo et al. 1984; Case 1986).

Com o agente etiológico da aids indentificado e os mecanismos aos quais estava envolvido parcialmente elucidados, foi possível o planejamento de novos

avanços. Em 1985, foi desenvolvido o primeiro teste sorológico comercial aprovado pela *Food and Drug Administration* (FDA). Embora necessitasse de uma janela imunológica de um ano, tal teste era um ganho, visto que antes dele, só poderia ser estabelecido o diagnóstico da infecção, quando os primeiros sintomas da aids se instalassem (Case 1986).

Portanto, estando a doença melhor compreendida e sendo seu diagnóstico possível, o objetivo principal da comunidade científica passou a ser a erradicação ou ao menos uma forma de tratamento para a infecção pelo vírus. Como resultado, em 1987, o primeiro fármaco utilizado no tratamento contra o HIV-1, a Zidovudina ou Azidotimidina (AZT) foi aprovado pela FDA e disponibilizado. Ao longo do tempo, outros antirretrovirais, inclusive de outras classes foram desenvolvidos, porém todos, assim como o AZT, continuavam sendo utilizados em esquema de monoterapia. Tal conduta, não era a ideal, já que em pouco tempo de terapia o vírus desenvolvia resistência genética ao antirretroviral. Mas, este problema só viria a ser contornado cerca de dez anos mais tarde. Contudo, apesar da aparente ineficácia destes primeiros medicamentos, o fato de em apenas seis anos já se ter disponível uma estratégia terapêutica, pode ser considerado um grande avanço (Brook, 1987; Montaner et al. 1998; Barre-Sinoussi et al. 2013).

Assim, com todo este progresso era esperado o fim da epidemia ou ao menos sua drástica redução, porém esta não seria uma tarefa fácil de alcançar. Ao contrário do que se pretendia, o número de novos casos continuou a subir, levando a necessidade da busca por novas estratégias para o combate da doença. Então, no ano de 1994, surge um importante personagem na biografia do HIV-1, o conceito de prevenção. Tal conceito começou a ser estabelecido a partir dos resultados preliminares do estudo de transmissão vertical *AIDS Clinical Trial Group Study 076* (ACTG 076). Este trabalho apresentou o uso de AZT durante a gestação, no momento do parto e ministrado ao recém-nascido, como forma de redução da transmissão vertical, validando a prevenção como forma crucial no controle da infecção pelo HIV-1 (Conor, 1994).

Todavia, o ano de 1996 certamente foi o grande marco na história da aids. Pesquisadores observaram que, quando as classes de antirretrovirais eram combinadas, uma maior supressão viral e um aumento no quantitativo de linfócitos T CD4+ eram obtidos. Assim, neste ano, um novo esquema terapêutico denominado de terapia antirretroviral altamente efetiva (HAART, do inglês, *Highly Active Antiretroviral*

Treatment), foi preconizado. A partir de então, o real controle da infecção passou a ser possível, mantendo de maneira eficaz e duradoura a replicação do vírus suprimida, a carga viral indetectável e o paciente longe da aids, da morte e das doenças oportunistas. A doença passou a ser considerada uma síndrome de caráter crônico, prolongando a expectativa de vida do soropositivo e permitindo que ele tenha uma vida produtiva. Nos anos que se seguiram, a partir do uso da HAART, foi possível observar uma drástica redução na mortalidade por HIV/Aids, além de queda no número de novas infecções. O motivo desta queda os pesquisadores só viriam a compreender oito anos mais tarde, quando foi publicado o primeiro trabalho que comprovou cientificamente que quando uma pessoa com HIV-1 faz uso adequado de HAART e a carga viral é mantida indetectável, a taxa de transmissão da infecção é significantemente reduzida (Ho 1996; Palella et al. 1998; Hirsch et al. 1998; Polis et al. 2001; Cohen et al. 2011).

Quando enfim, a comunidade científica parecia ter aprendido a lidar com o HIV-1 e afastado de vez o fantasma da aids, uma nova preocupação surgiu: as doenças crônicas associadas ao envelhecimento. Complicações crônicas como doenças metabólicas, dislipidemia, envelhecimento precoce, pressão alta, doenças cardiovasculares, neoplasias não relacionadas a aids, passam a ser um efeito colateral do uso contínuo dos antirretrovirais e da inflamação persistente. Assim, novas pesquisas foram direcionadas no intuito de contornar este desafio emergente. (Hayley and Zemlin, 2013; Nasi et al. 2017).

Mesmo diante de sua cronicidade, os pesquisadores continuaram a buscar estratégias que objetivavam a erradicação da doença. E em fevereiro de 2009 foi reportado o primeiro caso de possível cura da infecção pelo HIV-1. Conhecido como paciente de Berlim, Timothy Ray Brown, portador de leucemia mielóide aguda, recebeu um transplante de medula óssea de um doador homozigoto para a deleção de 32 pares de bases (pb) no gene *CCR5*. O paciente que era HIV-1 positivo e fazia uso de antirretrovirais, após tal procedimento, passou a manter carga viral indetectável, sem o uso da medicação e foi considerado livre da doença. Ao longo de uma década, este mesmo experimento foi repetido em diversos outros pacientes HIV positivos, porém sem êxito. No entanto, no ano de 2019, foi divulgado um segundo caso, denominado paciente de Londres, no qual um paciente portador de Linfoma de Hodgkin foi submetido a tratamento semelhante ao de Timothy Brown, também com dois transplantes de medula óssea seguidos, em 2016. Apesar de muito cedo para se

falar em uma segunda cura funcional, após 16 meses do procedimento, o uso dos antirretrovirais foi suspenso e, até o momento, o paciente permanece em remissão da doença (Hütter et al. 2009; Allers et al, 2011; Henrich et al. 2014; Gupta et al. 2019).

Com ,0 muito promissores. (CDC 2013; Nicol et al. 2013).

Ainda em 2013, o Ministério da Saúde brasileiro anunciou seu novo Protocolo Clínico de Tratamento de Adultos com HIV e aids. Segundo a portaria, todos os adultos com testes positivos de HIV-1, mesmo antes de apresentarem qualquer comprometimento do sistema imunológico, passariam a ter acesso aos medicamentos antirretrovirais contra a aids pelo Sistema Único de Saúde (SUS). Até então, apenas França e Estados Unidos ofertavam medicamento antirretroviral aos pacientes soropositivos, independentemente do estágio da doença. Esta medida teve como objetivo ampliar a qualidade de vida das PVHA e reduzir a transmissão do vírus (Brasil/ Ministério da Saúde 2013).

Em 2015, a pedido de vários países que buscavam um direcionamento para combater de uma forma mais eficiente o HIV em seu território, a UNAIDS criou a meta 90-90-90. Este plano, ainda em andamento, estipula que até o ano de 2020 90% de todas as PVHA deverão saber que têm o vírus, ou seja, serão diagnosticadas. Que 90% destas pessoas com infecção pelo HIV diagnosticada estarão recebendo terapia antirretroviral. E ainda, que 90% de todas as pessoas recebendo terapia antirretroviral apresentarão supressão viral adequada. Atingindo essas metas, espera-se controlar a epidemia do HIV/Aids no ano de 2030 (UNAIDS, 2015; UNAIDS, 2017a).

Assim, principalmente a partir de 2016, com o objetivo de atingir tal meta, uma estratégia de prevenção muito mais abrangente passou a ser adotada; a Prevenção Combinada do HIV. Esta forma de prevenção faz uso simultâneo de distintas abordagens (biomédica, comportamental e estrutural) empregadas em diferentes níveis (individual, nas parcerias/relacionamentos, comunitário, social) objetivando responder a necessidades inerentes de determinados segmentos populacionais e de determinadas formas de transmissão (Figura 1) (UNAIDS, 2017a; UNAIDS, 2017b; PERNAMBUCO, 2017).

Figura 1. Mandala de Prevenção Combinada do HIV. Fonte: Adaptado de Programa Estadual de IST/Aids/HIV/DGCDA/SEVS/SES-PE.

Portanto, é possível observar que desde o relato do primeiro caso de aids, muito se avançou, principalmente no que diz respeito a forma de tratar a doença, porém, o objetivo principal que era a erradicação da infecção pelo HIV-1 ainda não foi alcançado. Novas vertentes de pesquisas têm direcionado o estudo no sentido de entender melhor os reservatórios virais, apostando neles como o ponto chave para uma possível cura, enfocando em estratégias baseadas em engenharia genética. Por outro lado, vários grupos continuam buscas cada vez mais rebuscadas por uma vacina realmente eficaz, muitas inclusive, em fases bastante avançadas. Além disto, táticas de prevenção mais abrangentes e efetivas, bem como uma terapia antirretroviral cada vez mais eficiente na redução da viremia, com o mínimo de efeitos adversos possíveis, continuam a ser aprimoradas. Assim, é bastante claro que ao longo destes trinta seis anos de HIV muito foi conquistado, porém vários questionamentos ainda permanecem sem respostas, mostrando a importância da continuidade de pesquisas e discussões no entorno deste assunto (Palmisano and Vella 2011; Barre-Sinoussi et al. 2013; Malatinkova et al. 2015).

2.1.2 Epidemiologia

De acordo com o Relatório Anual do Programa da Junta das Nações Unidas para HIV-Aids (UNAIDS) divulgado em 2019, com dados referentes ao ano de 2018, o número estimado de pessoas vivendo com HIV no mundo é de 37,9 milhões. Destas, 36,2 milhões são adultos, divididos entre 18,5 milhões de mulheres e 17,7 milhões de homens. Completando este número, encontramos 1,7 milhão de crianças menores de 15 anos infectadas pelo HIV (UNAIDS, 2019).

Segundo o mesmo relatório, houve uma redução de 55% no número de mortes relacionadas a aids no período de 2004 a 2018. Porém, apesar desta queda considerável, o número de óbitos distribuídos no mundo ainda é muito alto; só em 2018, setecentos e setenta mil pessoas morreram de doenças relacionadas à aids, fazendo desta, a principal causa de morbidez e mortalidade por doenças infecciosas no mundo. Ainda neste contexto, um dado bastante relevante é o declínio no número mortes decorrentes da aids entre as crianças (0 a 14 anos). Em menos de seis anos, este número passou de 210 mil crianças em 2010 para 110 mil em 2017. Parte desta significativa redução se deve ao maior acesso à terapia antirretroviral pediátrica e ao tratamento precoce, bem como políticas de prevenção cada vez mais voltadas à erradicação da transmissão vertical do HIV. (UNAIDS, 2018a, UNAIDS, 2019).

Outro indicador a ser considerado no panorama mundial é o número de novos casos relatados a cada ano. Aqui, o declínio observado tem sido mais discreto. Apesar de todos os esforços em diminuir a transmissão, em 2018 a UNAIDS ainda reportou a ocorrência de 1,7 milhão de novos casos, significando uma redução de apenas 16% nos casos entre os anos de 2010 a 2018. Todavia, entre as crianças, estes dados são mais animadores, já que no mesmo período foi possível observar uma queda de 41%. Inclusive na África, região mais afetada pelo vírus, a redução foi maior que a média global, atingindo 56%. Este fato é devido principalmente ao aumento da cobertura de medicamentos antirretrovirais fornecido às mulheres grávidas que vivem com HIV, que aumentou de 47% para 82% neste período (UNAIDS, 2019).

A prevalência da infecção pelo HIV é muito mais elevada nos grupos de maior vulnerabilidade do que entre a população geral. A análise global das estatísticas de 2018 envolvendo estes grupos mostra que, em regiões com maior prevalência da epidemia, como o leste e o sul da África, por exemplo, as mulheres jovens, com idades entre 15 e 24 anos, foram responsáveis por 28% das novas infecções por HIV em 2017, apesar de representarem apenas 10% da população. Estas mulheres são

consideradas em idade reprodutiva acarretando uma preocupação ainda maior que é o aumento do risco da transmissão vertical do HIV. Já em regiões consideradas de baixa prevalência, a maioria das infecções por HIV ocorreram entre populações-chave. Sendo assim, HSH foram responsáveis por 17% das novas infecções, seguidos por usuários de drogas injetáveis que representaram 12% e profissionais do sexo que responderam por 6%. A maior vulnerabilidade destes grupos deve-se principalmente ao estigma social experimentado por eles, que muitas vezes, inclusive, limita o acesso ao tratamento e a prevenção adequados. Porém, apesar dos dados de 2018 ainda mostrarem uma maior concentração nestas populações, a transmissão entre heterossexuais vem contribuindo cada vez mais com grande parte das infecções pelo HIV em todo o mundo. Este é um dado significativo para a transmissão vertical, pois o aumento na transmissão heterossexual representa invariavelmente o crescimento no número de mulheres infectadas e como consequência um maior risco de transmissão vertical do HIV (UNAIDS, 2018b; UNAIDS, 2019; Shaw and Hunter 2012; World Health Organization 2016).

No contexto da prevenção, embora o relatório da UNAIDS de 2018 traga números bastante otimistas do progresso da “Meta 90-90-90”, é possível observar uma desaceleração neste avanço no último ano. Das pessoas vivendo com HIV, 79% delas conhecem sua sorologia. Dentre estas diagnosticadas 78% têm acesso ao tratamento antirretroviral, das quais 86% apresentam carga viral suprimida. Embora aparentemente promissores, quando olhados mais a fundo, estes dados ainda preocupam. A análise tendo como denominador o número de pessoas vivendo com HIV/Aids em relação ao número de pessoas com acesso ao tratamento antirretroviral e que apresentam carga viral suprimida, observa-se que o número cai para 62% e 53%, respectivamente, indicando este último que mais da metade da população vivendo com HIV/Aids, apresentam-se sem supressão da carga viral (UNAIDS 2019).

Porém, apesar de uma epidemia global, a aids apresenta características epidemiológicas distintas de acordo com a região. Na América Latina, a estimativa para o número de indivíduos infectados é de 1,9 milhão. O número de novos casos totalizou 100.000 em 2018, mantendo-se praticamente inalterado desde 2000, contrariando assim, o compromisso estabelecido na Declaração Política sobre HIV e aids publicada pela Assembléia Geral das Nações Unidas em junho de 2016, com metas específicas para a redução da infecção estabelecidas na América Latina.

Contudo, entre as crianças, este número de novos casos foi reduzido pela metade entre os anos de 2000 e 2018, acompanhando a tendência mundial (UNAIDS 2019).

Dentre os países da América Latina, o Brasil é o mais populoso, concentrando quase metade (48%) dos casos de infecções pelo HIV-1 nesta região. Até o final de 2017 é estimado que havia aproximadamente 866 mil PVHA no país, das quais 731 mil (84%) foram diagnosticadas; 687 mil haviam sido vinculadas ao serviço de saúde; e 601 mil ainda estavam retidas nos serviços, no qual 548 mil estavam em tratamento antirretroviral (75% das diagnosticadas) e 503 mil (92% das em tratamento) apresentavam supressão viral (carga viral inferior a 1000 cópias/ml). Isto mostra que o Brasil já atingiu parte da meta 90-90-90 proposta pela UNAIDS. Embora promissor, este resultado não é satisfatório quando considerados o número total de PVHA no Brasil. Neste contexto, a porcentagem de PVHA que apresentam a carga viral suprimida é reduzido para 58%, valor bem aquém dos 73% preconizados pela meta da UNAIDS. Segundo novo relatório da UNAIDS, divulgado em julho de 2019, o Brasil demonstrou no ano de 2018, embora discreto, progresso nestas metas; 85% das pessoas estavam diagnosticadas, destas 77% estavam em tratamento, das quais 94% apresentavam carga viral indetectável (Figura 2) (Ministério da Saúde do Brasil 2018a; UNAIDS 2019).

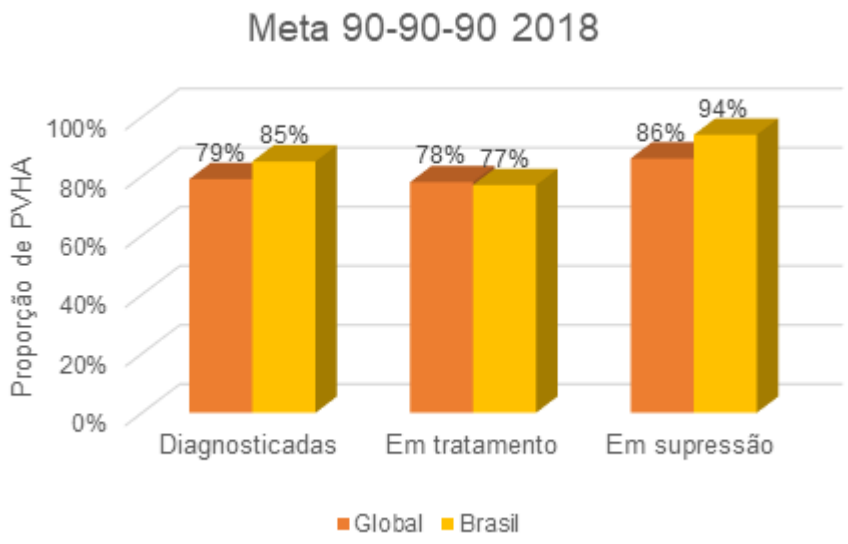

Figura 2. Comparação entre progresso da Meta 90-90-90 no Brasil e no mundo. Índices referentes ao ano de 2018. Fonte: A autora, 2019. Baseado em dados da UNAIDS, 2019.

Desde o início da epidemia, em 1980 a junho de 2018, foram notificados 982.129 casos de aids no país. No ano de 2017, o número de novas infecções foi de 42.420, uma redução de 12% com relação ao ano anterior; e o número de óbitos foi de 11.463. Segundo a UNAIDS, desde 2005, estes números epidemiológicos do HIV no Brasil têm se mantido constantes. Excessão se faz ao total de pessoas vivendo com HIV no país que quase dobrou durante estes doze anos (Ministério da Saúde do Brasil 2018b; UNAIDS 2017a).

No Brasil, durante o período de 2002 a 2008, existiam 15 homens para cada 10 mulheres infectadas, porém, a partir de 2009, observa-se uma redução gradativa da participação feminina neste índice e um consequente aumento no número de casos em homens, já que o número de novas infecções permaneceu estável. Com isso, a razão de sexos passou a ser de 22 casos de aids em homens para cada 10 casos em mulheres em 2017. Esta queda é refletida nas taxas de detecção de aids entre as mulheres nos últimos dez anos que passou de 15,9 casos/100 mil hab. em 2006, para 11,1 em 2017, representando uma redução de 30%. Este seria um bom indicativo para transmissão vertical do HIV, porém tal queda não acontece igualmente em todas as faixas etárias. Nas mulheres entre 15 e 19 anos foi observado aumento de 13,9%, quando comparados os anos de 2007 e 2017. Outra característica preocupante desta faixa etária é que, a adesão ao tratamento nesse grupo é a mais baixa. Sabendo que uma considerável parcela das gestantes brasileiras se encontra neste grupo, indiretamente, estes fatores podem contribuir para o aumento da transmissão vertical do HIV-1 (Ministério da Saúde do Brasil 2018b).

De 2000 até junho de 2017, foram notificadas 116.292 gestantes infectadas com HIV no Brasil, sendo 8.158 casos notificados no ano de 2017. A taxa de detecção de gestantes com HIV vem apresentando uma pequena tendência de crescimento nos últimos anos, passando de de 2,3 casos/mil nascidos vivos em 2007, para 2,8/mil nascidos vivos em 2017 (aumento de 21,7%). Tal fato se deve principalmente a diminuição na subnotificação e ao grande incremento de testes rápidos distribuídos pela Rede Cegonha. Desde 2000, o maior número de casos de gestantes infectadas com HIV (28,3%) notificadas no Sistema de Informação de Agravos de Notificação (SINAN), se encontram na faixa etária entre 20 e 24 anos (Ministério da Saúde do Brasil 2018b).

A taxa de detecção de aids em menores de cinco no Brasil em 2017 foi de 2,0 casos/100.000 habitantes, correspondendo a uma queda de 43% desde 2007, onde a

taxa era 3,5 casos/100.000. Quanto à categoria de exposição entre os indivíduos menores de 13 anos, a grande maioria dos casos (93,2%) teve como via de infecção a transmissão vertical (Ministério da Saúde do Brasil 2018b).

Segundo o SINAN, não existe mais cidade brasileira alguma que não tenha caso de aids notificado. Apesar desta amplitude da epidemia, a distribuição por regiões do país mostra uma maior concentração dos casos no Sudeste e Sul, com 52,4% e 20,1%, respectivamente, seguidos da região Nordeste (15,3%), Norte (6,1%) e Centro-Oeste (6,0%). No geral, a prevalência de casos de aids no Brasil se manteve constante entre os anos de 2007 e 2017, bem como na região Centro-Oeste. A região Sudeste vem apresentando ao longo dos anos uma queda na prevalência bastante considerável, seguido por um declínio mais lento da região Sul. Porém as regiões Norte e Nordeste, ao contrário das anteriores, experimenta um aumento na prevalência de casos de aids nos últimos anos. Quanto à taxa de mortalidade sendo a aids como causa base, o país e as regiões Sul e Sudeste tiveram uma considerável diminuição nos últimos anos; as regiões Nordeste e Centro-Oeste tiveram um aumento, e a região Norte se manteve constante nesse índice (Ministério da Saúde do Brasil 2018a; Ministério da Saude do Brasil 2018b).

De acordo com os registros do SINAN, o Estado de Pernambuco relatou 33.896 casos de aids desde o início da Epidemia até junho de 2018, sendo 19,3 por 100 mil habitantes a última taxa de detecção de casos de aids no estado. Já o número de óbitos por aids como causa base totalizam até 2017, 11.561 casos, sendo 587 destes referentes unicamente ao ano de 2017. Tais números fazem de Pernambuco, o primeiro no ranking entre os estados do Nordeste em tal quesito. Neste mesmo ano, o número de gestantes infectadas pelo HIV notificadas em Pernambuco foi de 367 e 20 novas infecções em crianças menores que cinco anos. O número de gestantes e crianças já notificadas em Pernambuco desde o início da epidemia totaliza respectivamente 4561 e 669. Comparando este dado com os dos anos anteriores, é possível observar uma queda gradativa no número de crianças infectadas em Pernambuco, já que em 2005 foram relatadas 41 ocorrências. Portanto uma redução maior que 50%, comprovando que o estado está acompanhando a média nacional de diminuição da transmissão vertical do HIV-1 (PERNAMBUCO, 2016; Ministério da Saúde do Brasil 2018b).

A cidade do Recife apresentou no ano de 2017 uma taxa de detecção de casos de aids por 100 mil habitantes de 36,9 que é quase o dobro da média do estado (19,3)

e nacional (24,0), ocupando o 8º lugar no ranking das capitais do país. Neste mesmo ano, o coeficiente de mortalidade bruto foi de 10,2 por 100 mil habitantes, mantendo-se praticamente estável, até com uma leve tendência a subida quando comparados os índices desde 2005. Recife ocupa o 7º lugar no índice taxa de detecção em gestantes notificadas no Sinan. Em 2017, segundo o Ministério da Saúde esta taxa foi de foi de 4,2/1000 nascidos vivos de gestantes HIV+, considerada alta quando comparada a média nacional no mesmo ano, 2,8/1000 nascidos vivos. Segundo o Boletim Epidemiológico da Vigilância em Saúde da Secretaria Estadual de Saúde de Pernambuco (SES-PE), no ano de 2017, foram notificadas mais 92 gestantes (PERNAMBUCO, 2017; Ministério da Saúde do Brasil 2018b).

Assim, a partir deste perfil epidemiológico é possível perceber que a região nordeste como um todo, bem como o estado de Pernambuco e o Recife, ainda concentram um grande número de gestantes e crianças que são acometidas pela infecção pelo HIV-1. Os números quando combinados, são bem maiores que a média nacional. Tal fato justifica a necessidade da continuidade, bem como da ampliação de estudos que envolvam a transmissão vertical do HIV-1 nestas populações objetivando, no mínimo, solucionar tal discrepância (PERNAMBUCO, 2016; PERNAMBUCO, 2017; Ministério da Saúde do Brasil 2018a; Ministério da Saúde do Brasil 2018b).

2.2 AGENTE ETIOLÓGICO – HIV-1

2.2.1 Aspectos Filogenéticos

O HIV-1 é um retrovírus da Família Retroviridae, Subfamília Lentivirinae e do Gênero Lentivirus, reconhecido por deprimir o sistema imune em diversas espécies de mamíferos, existindo cinco linhagens que infectam primatas (Hahn et al. 2000; Hutchinson 2001).

É provável que o inicio do processo de infecção tenha se dado a partir do contato com o sangue infectado de chimpanzés (*Pan troglodytes troglodytes*), através das atividades silvícolas desenvolvidas por caçadores no Oeste da África. Esta origem é reforçada pelo fato da cepa do vírus da imunodeficiência símia que infecta chimpanzés (SIVcpz) ser a mais próxima ao HIV-1. O HIV-2 apresenta uma origem diferente, tendo surgido de um SIVcm presente na espécie de mangabeys, natural do oeste africano, onde até hoje, estão concentrados os casos de infecção por HIV-2 (Gao et al. 1999; Hutchinson 2001; Santos and Soares 2010).

Quando comparada a homologia entre eles, os dois tipos de HIV apresentam uma similaridade menor que 25%. Eles diferem principalmente pela presença do gene *vpu* no HIV-1, enquanto o HIV-2 carrega o gene *vpx*. Ambas as espécies são responsáveis pela infecção em humanos, sendo HIV-1 o mais virulento, e o responsável pela pandemia, enquanto as infecções por HIV-2 permaneceram restritas ao continente africano (Sharp and Hahn 2010; Ndung'u and Weiss 2012).

O HIV-1 é filogeneticamente dividido em quatro linhagens, categorizadas em M, N, O e P, sendo todas passíveis de causar depleção do sistema imune. Porém, a linhagem M (*Major*) é a mais frequente, e responsável por quase a totalidade dos casos, estando fragmentada em nove subtipos (A, B, C, D, F, G, H, J e K), dos quais, o subtipo B é o mais comum dos países do Ocidente. Ainda nesta linhagem existem as cepas recombinantes circulantes (CRFs), que são o resultado de constantes processos de recombinação genética entre os subtipos quando mais de uma cepa infecta a mesma célula hospedeira. O subtipo O (*Outlier*) foi a segunda linhagem descoberta, responsável por casos isolados de HIV-1 restritos a países na África. É o grupo mais divergente, e evidências mostram que possivelmente tenha originado do SIV de gorilas selvagens ($SIV_{gor)}$. Assim, no grupo N (*New*) ficaram agrupados os casos que não se enquadravam em nenhum dos dois primeiros grupos. Responsável por apenas dois casos isolados no mundo, a linhagem P é a mais recente, sendo também sugerida sua origem através do SIV_{gor}. A figura 3 mostra esta classificação em detalhes (Gao et al. 1999; Santos and Soares 2010; Sharp and Hahn 2011; Hemelaar 2012).

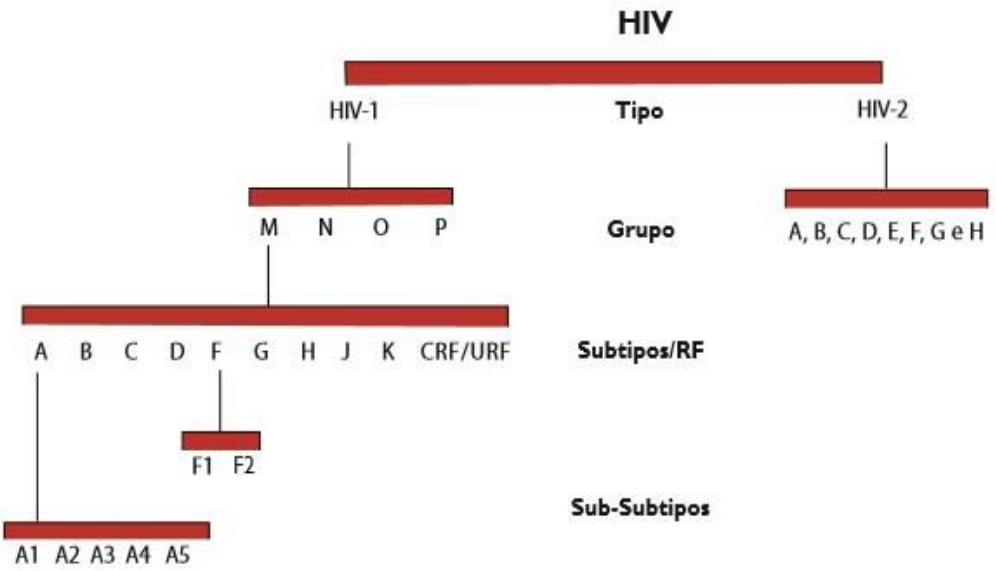

Figura 3. Representação esquemática da classificação do HIV. Fonte: Adaptado de (Ministério da Saúde do Brasil 2017d).

Todos os subtipos do grupo M são capazes de causar a depleção do sistema imune, porém a capacidade de virulência costuma variar dependo do subtipo. Assim, é possível observar que o subtipo D apresenta um maior risco de progressão à aids quando comparado com o subtipo A presente na mesma população. Tem se percebido também uma evolução desde o início da epidemia pelo vírus nas cepas que promovem a infecção, principalmente as do subtipo B que estão cada vez mais capacitadas em provocar depleção de células T CD4+. Já o subtipo C está mais associado a mucosa vaginal feminina que outros subtipos, podendo ser relacionado tanto a transmissão vertical quanto a heterossexual (Herbeck et al. 2012; Ndung'u and Weiss 2012; Hemelaar 2013; Li et al. 2015).

Além dos processos de recombinação genética das CRFs, a enorme variabilidade genética do HIV, deriva principalmente da capacidade mutacional que a enzima viral Transcriptase Reversa (TR) possui durante o ciclo do HIV. Ao infectar um indivíduo, o vírus possui um conjunto de mecanismos capazes de rapidamente gerar populações virais geneticamente diferentes. Tais variações permitem as cepas virais adquirirem uma capacidade de evasão do sistema imune do hospedeiro, a partir de mutações em sequências que codificam proteínas, dificultando assim, seu reconhecimento pelo Complexo Maior de Histocompatibilidade (MHC). Assim, mesmo com a grande variação de MHCs na espécie humana, torna-se praticamente impossível ao sistema imune debelar sozinho a infecção (Kawashima et al. 2009;

Hemelaar et al. 2011; Luft et al. 2011; Smyth et al. 2012; Ndung'u and Weiss 2012; Hemelaar 2013).

Outra perspectiva na qual a filogenia do HIV-1 é considerada é a influência direta que cada cepa pode apresentar na terapia, sobretudo na resistência a mesma. A grande maioria dos estudos que fazem análise das mutações de resistência as drogas (DMRs) são voltadas ao subtipo B do vírus, porém vem-se notando a perda da hegemonia das cepas B, em algumas regiões, com um aumento significativo de CRFs ou prevalência de cepas tipo não-B. Este novo panorama tem aumentado o desafio da terapia antirretroviral, distanciando cada vez mais do cenário da erradicação do vírus (Palma et al. 2007; Santos and Soares 2010; Gatell 2011).

2.2.2 Aspectos Morfológicos

O HIV-1 é um vírus de formato esférico, com cerca de 100nm de diâmetro. Sua superfície, também denominada envelope viral, é formada por uma bicamada lipídica derivada da própria membrana celular do hospedeiro, apresentando glicoproteínas, a gp120 e gp41. Tais glicoproteínas são importantes no processo de ancoragem, atuando substancialmente no reconhecimento da célula a ser infectada e na fusão do vírus a membrana celular do hospedeiro, permitindo assim a entrada do mesmo. Abaixo da bicamada lipídica encontra-se a matriz p17, uma camada proteica que auxilia na associação do complexo gp120/gp41, sendo de fundamental importância para a formação de novos vírus (Figura 4) (Hutchinson 2001; Prakash et al. 2012; Engelman and Cherepanov 2012; Abbas et al. 2018).

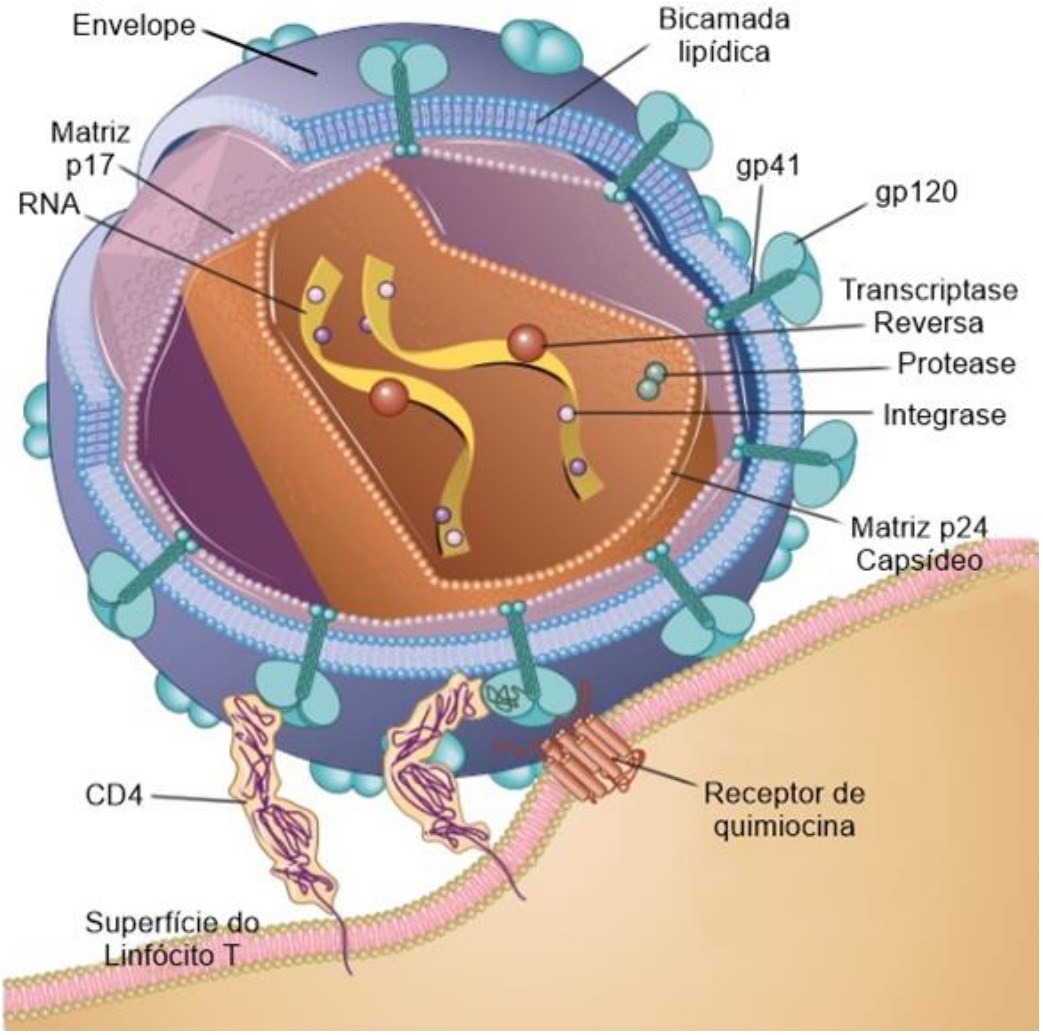

Figura 4. Estrutura Morfológica do HIV. Fonte: Adaptado de (Abbas et al. 2018).

A região central do vírus denominada capsídeo, é composta por uma estrutura cônica proteica, formada pela matriz p24, com a função de abrigar o genoma e importantes proteínas virais. O material genético do HIV-1 é constituído por duas moléculas de RNA fita simples, característica comum a todos os retrovírus. Formando o núcleo-capsídeo, encontramos outras duas proteínas, a proteína estrutural p6 e a proteína p7 associada a estabilidade do RNA viral. Além destas, também estão presentes no núcleo-capsídeo, as três enzimas fundamentais ao ciclo viral, Transcriptase Reversa (TR), Integrase (I) e Protease (P) (Hutchinson 2001; Engelman and Cherepanov 2012; Abbas et al. 2018).

2.2.3 Aspectos Genéticos

O HIV-1 possui um genoma composto por 9.181 pares de bases (pb) de nucleotídeos, contendo em toda sua extensão nove genes. Apesar da pequena quantidade de genes, 15 diferentes proteínas virais são sintetizadas a partir deles, sendo divididas, genericamente, em proteínas estruturais, regulatórias e acessórias (Watts et al. 2009; Li and De Clercq 2016; Abbas et al. 2018).

Dentre estes nove genes, os mais importantes são o *gag*, responsável pela síntese de quatro proteínas estruturais internas que auxiliam na sustentação e regulação (p17, p24, p6, p7), o *env* pelas glicoproteínas da superfície do envelope (gp120 e gp41), e a matriz aberta de leitura (ORF) *gag-pol* que codifica uma cadeia polipeptídica contendo as três enzimas (Transcriptase Reversa, Integrase e Protease). Estas enzimas são essenciais ao ciclo de vida do vírus, estando associadas, respectivamente, ao processo de transcrição viral, integração do material genético do vírus ao genoma do hospedeiro e processamento de proteínas do vírus. Além destes, existem outros seis genes acessórios (*vif, tat, rev, vpr, nef, vpu*) que atuam de forma direta no processo de regulação, infecção e patogênese do HIV-1 (Figura 5) (Ganser-Pornillos et al. 2008; Watts et al. 2009; Li and De Clercq 2016; Leitner et al. 2017).

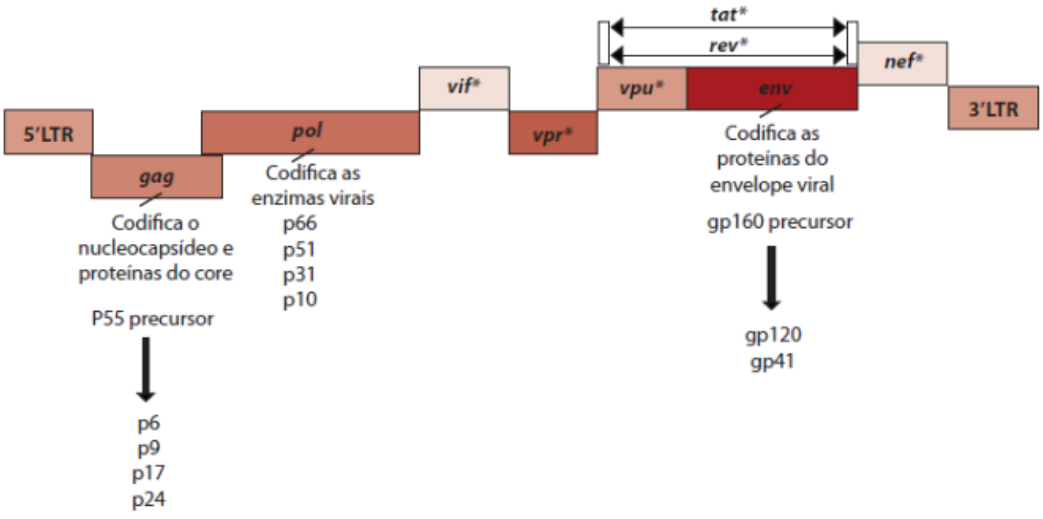

Figura 5. Estrutura Genética do HIV-1. A localização dos genes e as principais proteínas virais codificadas: estruturais (gp120 e gp41; p17 p24, p6), relacionadas com a replicação (p66, p51, p31, p10) e relacionadas com a regulação (*vif, rev, tat, vpr, vpu, nef)*. Nas extremidades 5' e 3', regiões longas terminais (LTR) flanqueiam o genoma. Fonte: Adaptado de (Miller 2010).

Elementos estruturais do genoma do HIV, denominadas repetições terminais longas (LTR), são encontrados nas extremidades 5' e 3' deste genoma. Tais elementos são responsáveis por regular a expressão dos genes virais, pela integração

viral no genoma do hospedeiro e pela replicação viral, atuando, inclusive, na conclusão do seu ciclo (Watts et al. 2009; Li and De Clercq 2016; Abbas et al. 2018).

2.2.4 Ciclo do HIV-1

O ciclo do HIV-1 é dividido em sete etapas principais: adsorção e entrada, desnudamento, transcrição reversa, integração do provírus, síntese protéica, morfogênese e brotamento. A partir do contato direto com mucosas e/ou tecidos lesados, o vírus adentra o tecido, onde encontra células residentes - tais como macrófagos, células dendríticas e linfócitos T CD4+ - dando início ao processo de infecção (Figura 6) (Haase 2005; Carter and Ehrlich 2008; Fanales-Belasio 2010).

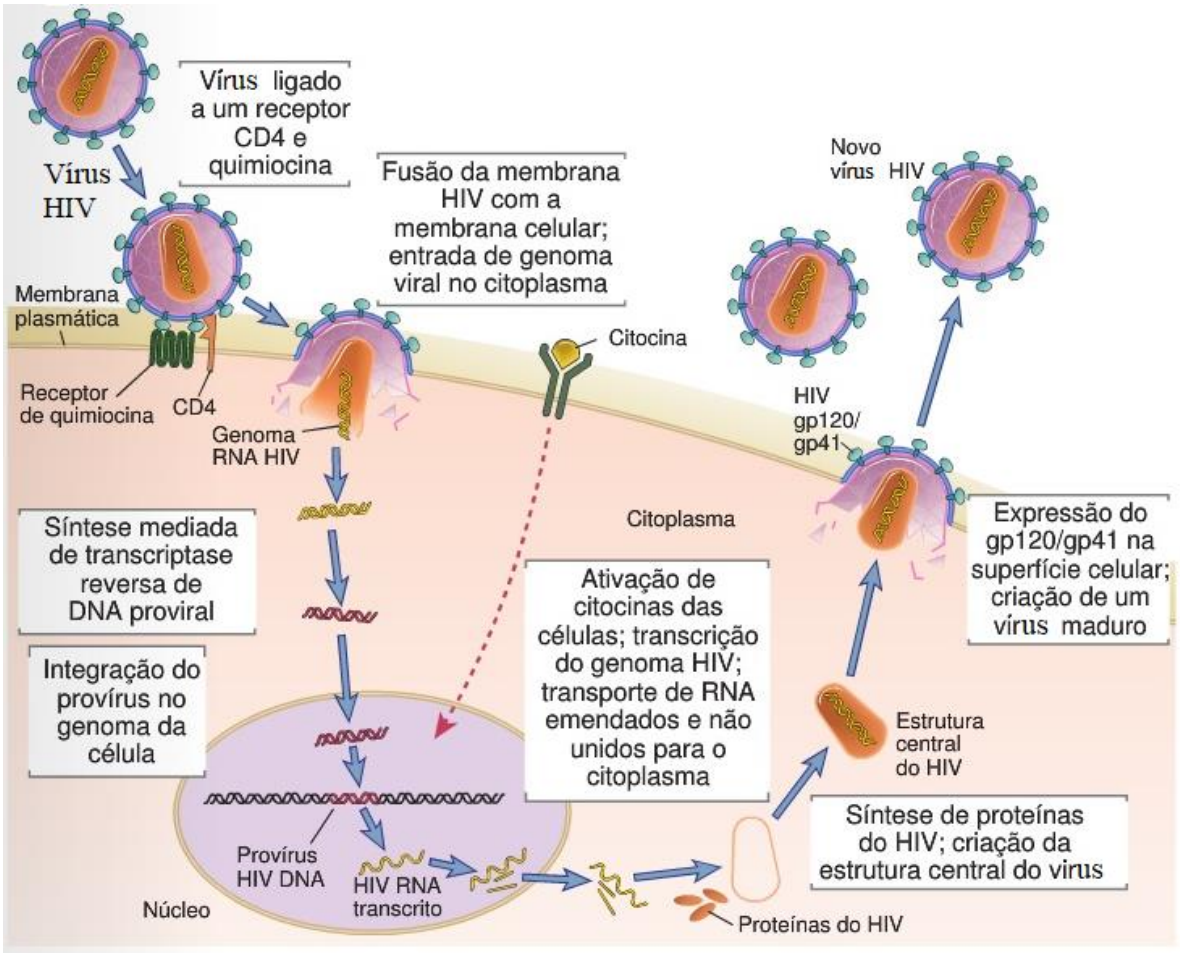

Figura 6. Etapas do ciclo replicativo do HIV-1. Fonte: Adaptado de (Abbas et al. 2017).

Este processo tem início através da ligação das glicoproteínas presentes no envelope, a gp120 e a gp41 a receptores na membrana do hospedeiro. A gp120 tem por função promover a ligação à molécula de CD4+ presente na superfície do linfócito, expondo o domínio v3, que é altamente conservado e que fornece a capacidade de

ligação a receptores de quimiocinas, sendo os mais conhecidos o CXCR4 e o CCR5. Esses co-receptores ativados promovem então uma alteração conformacional no complexo gp120-gp41, expondo na gp41 uma região chamada peptídeo de fusão, promovendo a ligação do envelope viral com a membrana celular. Uma vez fusionados, ocorre o desnudamento do capsídeo viral, com liberação do material genético do vírus e das enzimas necessárias à replicação no citoplasma da célula (Gringhuis et al. 2010; Prakash et al. 2012; Kaplan et al. 2016).

Então, a enzima TR, trazida com o vírus em seu capsídeo, converte o RNA viral em DNA dupla fita. Neste processo, muitas mutações podem ser inseridas na cadeia de DNA recém-sintetizada, ocasionadas pela falta de mecanismos de reparação desta enzima. Alguns fatores do hospedeiro foram identificados na tentativa de bloquear o ciclo viral, como a proteína APOBEC3G, que produz mutações durante o processo da transcrição reversa, levando a inativação do vírus. Porém, o vírus possui uma proteína, a Vif, que promove um mecanismo de poliubiquitinação, com posterior degradação pelo proteassoma, inativando a função do *APOBEC3G.* Assim, o vírus consegue transpor facilmente esta barreira da APOBEC3G e a transcrição reversa é realizada (Hutchinson 2001; Wang et al. 2012; Feng et al. 2014)**.**

O próximo passo é a ligação da enzima integrase ao DNA de fita dupla, que juntos migram para o núcleo da célula, onde tal enzima promove a integração do DNA viral ao genoma do hospedeiro, originando o DNA proviral. A partir deste momento, o vírus passa a controlar a síntese celular. Fatores de transcrição derivados do próprio hospedeiro, como o Sp1 e o NF-κB se ligam as LTRs na extremidade 5’ do DNA proviral iniciando a produção de RNA mensageiro viral. Então, estes RNAs mensageiros serão utilizados na síntese das proteínas virais tanto não-estruturais como estruturais, além de principalmente produção do RNA genômico viral. (Hutchinson 2001; Liu et al. 2010; Mohammadi et al. 2013; Campbell and Hope 2015).

Os transcritos produzidos saem do núcleo em direção ao citoplasma onde são traduzidos em cadeias polipeptídicas. Duas moléculas de transcritos de RNA se unem a um complexo nucleoproteína, juntamente com as enzimas virais necessárias para próximas infecções e proteínas estruturais nucleares. Assim é formado o capsídeo que, juntamente com os outros componentes do vírus, se aproximam da superfície celular, onde se associam com a membrana plasmática, formando um novo envelope e promovendo o brotamento de novas partículas virais (Fanales-Belasio 2010).

Fora da célula, o processo de maturação destas partículas será concluído pela clivagem das cadeias polipeptídicas de Gag e Gag-Pol pela protease viral, tornando assim, as novas partículas aptas a infectar futuras células alvo (Fanales-Belasio 2010; Wilen et al. 2012; Freed 2015).

2.2.5 Patogênese

O início da infecção pelo HIV-1 normalmente se dá através da penetração deste agente viral em epitélios da mucosa ou tecidos lesionados. Então, o vírus adentra o tecido e infecta as células de defesa residentes ali instaladas. Dentre estas células estão as células dentríticas, que por serem apresentadoras de antígenos, capturam o vírus e migram para os linfonodos locais, com o intuito de debelar a infecção. Porém, nos linfonodos, o HIV-1 encontra uma grande quantidade de células alvo, permitindo a expansão da replicação viral e com isso, a rápida disseminação das novas partículas virais, dando início a fase aguda da infecção. Esta fase caracteriza-se por alta súbita da carga viral plasmática, denominada viremia, com uma significativa diminuição de linfócitos circulantes. Muitas pessoas possuem sintomas característicos durante a fase aguda da infecção, como febre, dor de garganta, linfoadenopatia, dores musculares, enquanto outras não apresentam nenhum sintoma. Assim, por serem considerados sintomas brandos, são facilmente confundidos com outras infecções virais, não sendo realizado teste de triagem para o HIV-1 (Weiss 2008; Lackner et al. 2012; Maartens et al. 2014; Abbas et al. 2018).

Aproximadamente doze semanas após a exposição primária, com o desenvolvimento da resposta imune humoral e celular direcionada aos antígenos virais, anticorpos contra o HIV-1 podem ser encontrados no plasma dos indivíduos infectados, provocando uma leve estabilização nos níveis de carga viral. Porém esta estratégia do sistema imune não é suficiente para erradicar a infecção, visto que a taxa de mutação genética bastante elevada do vírus faz com que ele escape do reconhecimento dos anticorpos, impedindo que a resposta gerada seja completamente eficaz. Assim, esta resposta do hospedeiro permite apenas um leve controle, fazendo com que se estabeleça uma infecção crônica e com entrada em estágio de latência (Fanales-Belasio 2010; Lackner et al. 2012; Hoehn et al. 2015; Abbas et al. 2018).

Uma vez estabelecida a fase crônica da infecção pelo HIV-1, esta pode se estender por anos de maneira assintomática. Percebe-se, nesta etapa, uma baixa taxa

de replicação viral, alternada por picos de viremia, ocorrendo uma grande variação no número de cópias virais por mL de plasma entre os indivíduos. Durante este período de latência clínica, o sistema imune se mantém capaz de combater a maioria das infecções por microrganismos oportunistas, e pouca ou nenhuma manifestação clínica da infecção pelo HIV é exibida. Apesar de não ser encontrado o vírus na maioria das células T do sangue periférico, no interior dos tecidos linfóides a destruição das células T CD4+ progride de forma constante, bem como o declínio de células T CD4+ sanguíneas circulantes. Assim, as taxas de linfócitos T CD4+ sofrem uma diminuição progressiva durante esta fase, culminando no estabelecimento da aids, na ausência de tratamento adequado. Acredita-se que o tempo médio entre a infecção primária e o estabelecimento da doença seja cerca de 10 anos, sendo variável de acordo com cada caso (Figura 7) (Lackner et al. 2012; Maartens et al. 2014; Abbas et al. 2018).

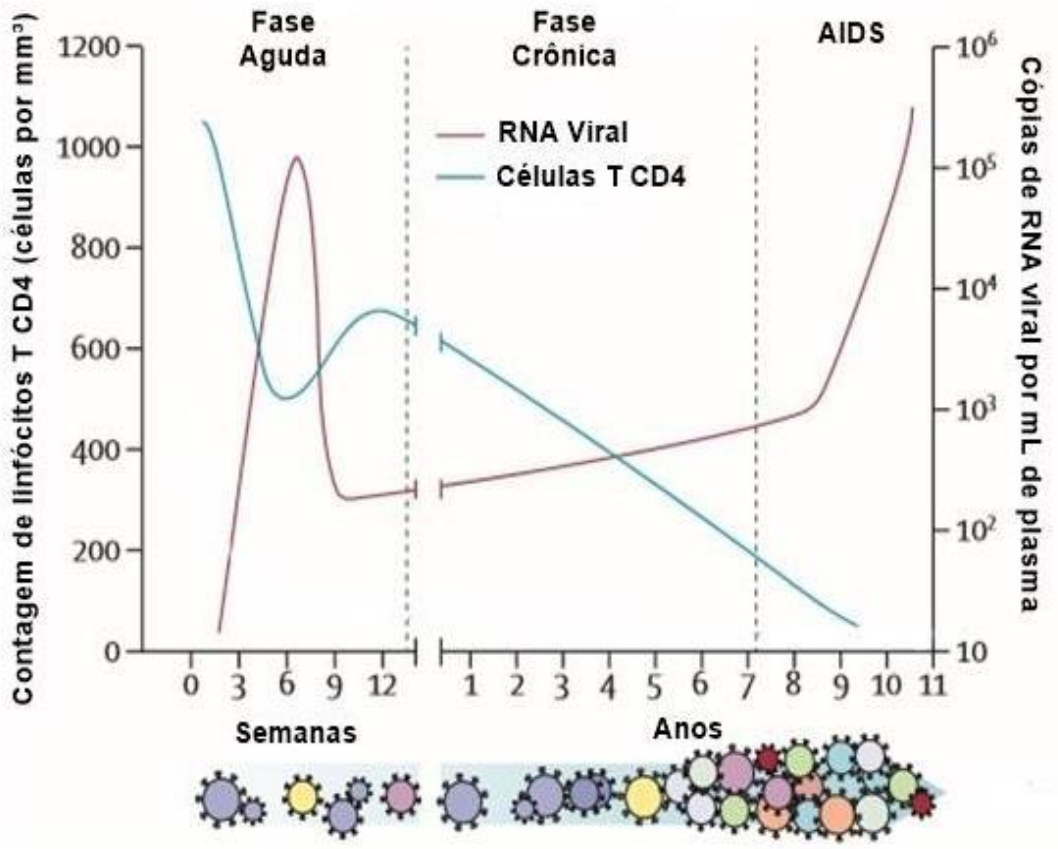

Figura 7. Curso clínico da infecção pelo HIV-1. Fonte: Adaptado de (Maartens et al. 2014).

A fase de aids é a última etapa desta infecção de natureza progressiva, quando a taxa de linfócitos TCD4+ passa a ser menor que 200 células/µL de sangue. Neste estágio, o sistema imune do indivíduo encontra-se seriamente debilitado, tornando-o

susceptível a diversas infecções oportunistas como por *Pneumocystis sp.,* micobactéria, citomegalovírus, *Toxoplasma gondii*, além neoplasias, como Sarcoma de Kaposi e linfoma não-Hodgkin. Como consequência, estes indivíduos infectados não recebendo o tratamento com antirretrovirais de forma adequada, podem vir a óbito (Lackner et al. 2012; Vidya Vijayan et al. 2017).

2.3 TRANSMISSÃO DO HIV-1

São conhecidas apenas três possíveis maneiras de se infectar pelo HIV-1. Ou o vírus é adquirido por meio da transmissão sexual, ou via corrente sanguínea ou ainda, através da transmissão vertical (Shaw and Hunter 2012).

A relação sexual sem proteção é sem dúvida, a principal via de transmissão do HIV-1, responsável por 98% dos casos. Tal transmissão acontece a partir do contato de fluidos potencialmente infectantes como sêmen ou fluido pré-seminal, secreção retal ou vaginal com as mucosas genitais dos indivíduos ou microfissuras que podem ser geradas durante o ato sexual, facilitando assim a entrada do vírus. Dentre as formas de contato sexual, a transmissão é mais frequente nas relações homossexuais masculinas, sendo o risco de infecção em uma relação anal receptiva aproximadamente 13 vezes maior quando comparado ao risco em indivíduos homossexuais insertivos. Apesar da frequência de transmissão ser relativamente menor em uma relação heterossexual, deve ser considerado que mulheres possuem duas vezes mais risco de se infectar quando comparadas aos homens, podendo indiretamente ser traduzido em um maior risco de transmissão vertical (Baggaley et al. 2008; Patel et al. 2014; Romero et al. 2016).

Porém, além da forma de exposição, diversos fatores biológicos se relacionam diretamente à potencialidade da transmissão. A carga viral plasmática é o mais importante deles, já que estudos apontam uma taxa de transmissão praticamente zerada em indivíduos com sucesso terapêutico e carga viral indetectável. Por outro lado, quanto maior o número de cópias de RNA viral por mL de plasma, maior o risco de transmissão. O estágio da doença, é outro fator relevante, de modo que tanto as fases iniciais quanto as últimas estão associados com um maior risco de infecção por via sexual, visto que a carga viral se encontra mais elevada nestes estágios. Outro ponto é que, muitas vezes nas fases iniciais os indivíduos não estão cientes da infecção, e continuam com sua a vida sexual ativa sem maiores cuidados ou

precaução. Tal atitude faz deste indivíduo, além de vetor do vírus, susceptível a outras infecções (Vernazza et al. 2008; Fox and Fidler 2010; Abu-Raddad 2015).

Um agravante na transmissão sexual são as coinfecções do trato genital como, gonorréia, úlceras do trato genital provocadas pela sífilis dentre outros que acabam por ser porta de entrada para o vírus. Nas mulheres, infecções por candidíase vaginal, a menstruação e o uso de contraceptivos orais têm sido associados ao aumento no risco de transmissão, uma vez que provocam corrimento vaginal aumentando o fluido na região. Já no caso dos homens, vários estudos mostram a circuncisão como um fator protetivo à transmissão, reduzindo de duas a oito vezes as chances destes homens circuncisados contraírem o HIV (Wawer et al. 2009; Fox and Fidler 2010; Chun et al. 2013).

Outra forma importante de transmissão do HIV-1 é a parenteral, que ocorre pela corrente sanguínea. Tal forma de contágio pode acontecer por acidente com material perfurocortante contaminado, através do uso compartilhado de seringas e agulhas contaminadas, transfusões sanguíneas sem triagem prévia adequada para o HIV ou qualquer outra forma na qual o vírus tenha acesso direto à corrente sanguínea. Em caso de exposição a uma destas fontes contaminadas, a probabilidade estimada de contrair HIV é de 92,5% para a transfusão sanguínea, 0,63% para o compartilhamento de seringas para uso de drogas injetáveis e 0,23% através de injeção percutânea. No caso de acidentes com materiais perfurocortantes, o risco de contrair a doença pode variar muito, dependendo da forma como ocorreu o acidente, da carga viral do indivíduo contaminado e do tempo decorrido até o uso da Profilaxia Pós-Exposição (PEP) (Patel et al. 2014; Kariuki et al. 2017).

A contaminação do HIV pela corrente sanguínea, assim como na transmissão por via sexual, normalmente está associada a contaminação conjunta por outros agentes infecciosos. Dentre estes, dois apresentam-se mais corriqueiramente associados ao HIV-1, são eles, o da Hepatite B e C, formando juntos os BBVs (do inglês *bloodbone viruses*). Sendo assim, os centros de atendimento a soropositivos são frequentemente instruídos a realização da sorologia para estas enfermidades, numa tentativa de diagnosticar e tratar o quanto antes, uma vez que a coinfecção pelos BBVs aumentam a severidade da doença promovendo uma progressão mais rápida para a aids (Tessema et al. 2010; Menezes Brunetta et al. 2013; Chang et al. 2013).

A terceira maneira possível de se infectar com o HIV-1 é por meio da transmissão vertical ou materno-fetal, evento em que a mãe passa o vírus para o filho, configurando fundamentalmente a única fonte de transmissão em crianças menores de 13 anos de idade. Estima-se que a cada 10.000 crianças expostas, 2.260 são acometidas pela infecção, que pode ocorrer em três momentos distintos: intrauterina (qualquer momento durante a gestação), no parto (trabalho de parto ou no parto propriamente dito) ou no pós-parto, através do aleitamento materno. Estudos recentes apontam que a progressão da doença nas crianças contaminadas pode variar muito dependendo do momento no qual a infecção ocorreu, sendo a intrauterina associada a progressão mais rápida (Charurat et al. 2009; Forbes et al. 2012; Ubesie A.C. et al., 2012; Patel et al. 2014; Hoffmann et al. 2016; Ministério da Saúde do Brasil 2017; Nakamura et al. 2017).

A transmissão intrauterina, também denominada transplacentária ocorre em cerca de 25 - 35% dos casos de crianças verticalmente infectadas, principalmente nos últimos meses de gestação. Nestas circunstâncias, de alguma forma o vírus consegue transpor a barreira placentária e chegar ao sangue fetal, neste caso será possível a identificação do HIV-1 ao nascimento ou dentro das primeiras 48 horas de vida da criança. A análise é feita por PCR ou cultura e isolamento do HIV-1, a partir do sangue periférico do recém-nascido, na ausência de aleitamento. Mecanismos presentes na placenta podem modular a susceptibilidade ou resistência a transmissão vertical do HIV-1, por meio da produção de uma gama de fatores pelas células placentárias. Estas células são responsáveis pela síntese de fatores solúveis e receptores, como hormônios, quimiocinas, citocinas e o complexo principal de histocompatibilidade (MHC) classe I, inclusive aumentando a produção de fatores de restrição virais nesta região. Assim, até certo ponto, esta barreira é capaz de modular o desfecho da transmissão do vírus ao feto. Por outro lado, o HIV-1 desenvolveu a capacidade, embora limitada, de infectar algumas destas células placentárias responsáveis por tal defesa, como células Hofbauer e células trofoblásticas. Além disto, outros fatores como a coinfecção por citomegalovírus humano, podem favorecer a transposição desta barreira pelo HIV-1, visto que tal vírus promove inflamação da placenta com consequente lesão de vilosidades crônicas e trofoblasto (Al-Husaini 2009; Martinez et al. 2016; Nakamura et al. 2017; Domingues 2018).

Porém, a maior taxa de transmissão vertical é observada durante o trabalho de parto ou no momento do parto, perfazendo 65% dos casos. Neste momento, a

transmissão pode ocorrer principalmente por meio do contato das mucosas do recém-nascido com o líquido amniótico, sangue contaminado e secreções do colo uterino. Neste caso, os exames virológicos (PCR ou cultura viral) apresentam resultado negativo nas primeiras 48 horas de vida, positivando e mantendo tal condição após o 7º dia de vida, em crianças não amamentadas. Ao somarmos a ocorrência da transmissão observada nos últimos dois meses de gestação com o momento do parto, observamos que este período é responsável por 95% dos casos. (Sripan et al. 2015; Nakamura et al. 2017; Ministério da Saúde do Brasil 2017b).

Já no pós-parto a via de transmissão é através do aleitamento materno ou amamentação cruzada. Sendo assim, a amamentação é considerada um risco adicional a infecção pelo HIV-1. Neste caso, o HIV-1 pode ser detectado através de PCR no leite materno. É sabido que cerca de 7-22% da transmissão vertical ainda acontece por esta via. Porém, se a mãe é negativa no momento do parto e adquire a infecção pelo HIV durante o período de aleitamento, este risco sobe para 30%, devido à viremia primária. Além disto, o risco também é crescente quanto maior a duração do tempo de aleitamento, já que cada mamada representa uma nova exposição ao vírus (Nakamura et al. 2017; Ministério da Saúde do Brasil 2017b; UNAIDS 2017d).

Além destes, alguns outros fatores têm sido caracterizados por aumentar o risco da transmissão vertical do HIV-1, como o uso de drogas injetáveis, o não uso ou uso inadequado da terapia antirretroviral durante a gestação, confirmação da infecção pelo HIV no período pré-natal ou no momento do parto, carga viral alta, número de linfócitos TCD4+ reduzidos, baixa idade gestacional, parto vaginal na ausência de carga viral materna indetectável e a presença de outras infecções associadas (Hoffmann et al. 2016).

Assim, como a erradicação da transmissão vertical do HIV-1 é uma das principais metas mundiais de prevenção de novos casos de infecção, firmes compromissos políticos têm sido acordados neste propósito. Um deles busca a dupla eliminação da transmissão materno-infantil do HIV e da sífilis, bem como, um maior acesso à vacinação contra o papilomavírus humano. Em 2014, a OMS e o departamento de Saúde Reprodutiva e Pesquisa (RHR), em colaboração com UNAIDS, UNICEF e UNFPA, divulgaram o Guia sobre processos e critérios globais para validação da eliminação da transmissão vertical de HIV e sífilis. Os principais critérios é que o país apresente uma taxa de novas infecções pediátricas por HIV devido a transmissão vertical inferior a 50 casos por 100.000 nascidos vivos, e que a

taxa de transmissão vertical do HIV em países que amamentam seja <5% e em países que não amamentam <2%. Cuba saiu na frente e em 2015, foi o primeiro país do mundo a anunciar que conseguiu zerar a transmissão vertical do HIV-1, validando tais condições (PAHO and WHO, 2015; UNAIDS 2017c; World Health Organization, 2017).

Apesar de considerados satisfatórios os índices acerca da transmissão vertical do HIV-1, muito ainda precisa ser feito. A maioria dos países indica que a amamentação seja parada ou restrita aos primeiros seis meses. Tal recomendação faz com que mães sofram um estigma social, dificultando a adesão das recomendações clínicas. Aliado a isso, o diagnóstico falho e tardio das gestantes e a má adesão ao tratamento promove ainda, uma grande barreira ao combate a esta forma de transmissão (Moreno et al. 2006; Forbes et al. 2012; Rubio 2013; Patel et al. 2014).

2.4 MEDIDAS PREVENTIVAS DA TRANSMISSÃO VERTICAL DO HIV-1

Aproximadamente, 1,3 milhões de mulheres vivendo com HIV no mundo engravidam todos os anos. Sem nenhum tratamento, a probabilidade de transmissão do vírus para os recém-nascidos é de 15-45%. Porém, esta taxa pode ser reduzida para cerca de 1% com o uso de terapia antirretroviral e acompanhamento adequados, tanto da gestante quanto da criança. Assim, é imprescindível a aplicação do maior número de medidas preventivas possíveis, para que tal redução seja alcançada. As principais destas medidas preventivas disponíveis são: a testagem de todas as gestantes, uso de terapia antirretroviral durante a gravidez, a escolha adequada do tipo de parto, o uso de AZT intraparto, o uso de AZT profilático pelo recém-nascido e a inibição do aleitamento materno (Park et al. 2014; Hoffmann et.al, 2016; World Health Organization, 2017).

2.4.1 Ampla Testagem das gestantes

Embora a eficácia da aplicação de tais medidas seja evidente, para que, qualquer forma de profilaxia ou tratamento sejam instalados, faz-se necessário o conhecimento da sorologia positiva da paciente. Sendo assim, as recomendações do Ministério da Saúde instruem que todas as gestantes devem ser estimuladas a realizar o teste anti-HIV o mais breve possível, a partir da primeira consulta de pré-natal, se possível um segundo teste no início do terceiro trimestre de gestação, e por último um teste rápido no momento do parto (Ministério da Saúde do Brasil 2018c).

O diagnóstico precoce do HIV deve ser disponibilizado sobretudo pelas Unidades Básicas de Saúde da Família em virtude de estas serem responsáveis por garantir uma boa cobertura pré-natal e devido ao acesso geográfico da população em relação à unidade. Se o resultado for positivo, a gestante deve ser acompanhada e encaminhada para o adequado tratamento o quanto antes. É recomendado no mínimo seis consultas ao longo do pré-natal (Ministério da Saúde do Brasil 2018c; UNAIDS 2017d).

Porém, para gestantes que chegam à maternidade no momento do parto, sem testes anti-HIV ou sem o resultado da sorologia, é prescrita a realização do teste rápido para diagnóstico (Ministério da Saúde do Brasil 2018c).

2.4.2 Terapia Antirretroviral na Gestação

De acordo com orientações da ONU adotadas pelo Ministério da Saúde brasileiro, é recomendado o uso da terapia antirretroviral para todo indivíduo assim que diagnosticado, independente de seu estádio clínico ou imunológico, evitando reduções significativas na contagem de linfócitos TCD4+, principalmente nos grupos de maior vulnerabilidade, como crianças e mulheres grávidas. Tal conduta, além de otimizar o tratamento, atuando na redução dos coeficientes de morbidade e mortalidade, age também na esfera da prevenção, já que diminui o número de novos casos da infecção pelo HIV-1 (Pinto et al. 2007; Vella et al. 2012; World Health Organization 2016).

No mercado mundial, são disponibilizados 28 tipos de fármacos para serem utilizados na terapia anti-HIV. Atualmente, 19 destes são ofertados pelo SUS e aproximadamente metade das PVHA fazem uso da terapia, o que tem refletido de modo direto na diminuição dos índices epidemiológicos no país. O principal objetivo da terapêutica é a redução da carga viral, com uma consequente recuperação da taxa de células TCD4+. Os medicamentos são classificados em seis diferentes grupos, de acordo com o papel inibitório que exercem no ciclo viral, sendo eles (Palmisano and Vella 2011; Arts et al. 2012; UNAIDS 2017b):

- Inibidores de entrada (antagonistas de CCR5): o fármaco se liga a sítios específicos do co-receptor CCR5, provocando um impedimento alostérico à ligação do vírus a este receptor, necessária para sua entrada na célula.
- Inibidores de Fusão (IF): o fármaco se liga à proteína de membrana celular viral gp41, impedindo a fusão do vírus na membrana da célula hospedeira.

- Inibidores Nucleosídeos da Transcrição Reversa (INTR): são análogos de nucleosídeos ou nucleotídeos que se inserem na cadeia de DNA nascente interrompendo a síntese do material genético do vírus.
- Inibidores Não-Nucleosídeos da Transcrição Reversa (INNTR): impedem a síntese do material genético do vírus por se ligarem a sítios alostéricos da transcriptase reversa, bloqueando sua atividade.
- Inibidores de Integrase (INI): impedem a junção do DNA viral ao genoma do hospedeiro
- Inibidores de Protease (IP): atuam na fase de maturação viral, interagindo com a sua protease, evitando o correto processamento das proteínas.

Atualmente, é recomendada a prescrição de três drogas em combinação. Quando utilizadas como primeiro esquema terapêutico, obrigatoriamente duas destas drogas devem ser INTRs ou INNTRs, e a terceira pertencendo a qualquer das demais classes farmacológicas usadas na TARV. São esquemas baseados em características que obedecem a critérios de eficácia e tolerância. Em casos de falha neste esquema de primeira escolha ou efeitos colaterais exarcerbados, é aconselhada a troca para outro regime terapêutico, objetivando uma maior aderência com consequente melhora clínica do paciente (Bartlett et al. 2001; Bartlett et al. 2006; Vella et al. 2012; Brasil/ Ministério da Saúde 2013b).

No contexto da transmissão vertical, a terapia antirretroviral tem sido imprescindível na sua redução, permitindo o nascimento de milhares de crianças livres do HIV no mundo. Assim como nos outros grupos, a TARV está indicada para toda gestante infectada independente do nível de TCD4+. Porém, neste grupo, ela poderá ser iniciada antes mesmo de se obterem os resultados dos exames de T-CD4+, CV-HIV e genotipagem – especialmente nos casos de gestantes que iniciam tardiamente o acompanhamento pré-natal. A genotipagem pré-tratamento está indicada para todas as gestantes infectadas pelo HIV, de forma a direcionar o esquema terapêutico. Tal abordagem é necessária para atingir o mais rápido possível a supressão viral, não devendo o tratamento ser suspenso logo em seguida ao parto (Ministério da Saúde do Brasil 2018c).

Em gestantes, também é proposta a tripla combinação de antirretrovirais, sendo dois INTR/INNTR associados a um INI. O esquema preferencial em início de tratamento deve ser tenofovir + lamivudina + raltegravir (TDF+3TC+Ral). A associação

TDF/3TC é a preferencial nas gestantes infectadas pelo HIV, pois possui facilidade posológica (dose única diária), além de um perfil favorável em relação à lipoatrofia e à toxicidade hematológica, ambas associadas ao AZT. Nos casos de impossibilidade do uso de TDF/3TC, a associação AZT/3TC é a segunda opção de escolha. Caso essa associação não possa ser usada, recomenda-se então o uso do abacavir (ABC) associado a 3TC como terceira opção. Com relação ao inibidor de integrase (INI), o Ministério da Saúde recomenda o Raltegravir como opção preferencial de tratamento para gestantes, visto que estudos sugerem uma queda da carga viral do HIV mais rápida com o uso de Ral quando comparado ao EFV (Maliakkal, 2016; Ministério da Saúde do Brasil 2018c).

Apesar dos benefícios indiscutíveis da terapia antirretroviral, é constante a preocupação quanto a sua utilização durante a gravidez. Embora indispensável, seu uso ao longo da gravidez deve ser criterioso e adequadamente acompanhado. Apesar do Ministério da Saúde do Brasil recomendar o uso da TARV para toda gestante infectada pelo HIV, independentemente de critérios clínicos e imunológicos, durante o primeiro trimestre de gestação, a mulher assintomática, sem infecção oportunista e com o número de linfócitos TCD4+ acima de 350 céls/mm3, deverá ser abordada quanto à importância da adesão e sobre a possibilidade de iniciar TARV apenas após o término do primeiro trimestre. Para qualquer antirretroviral, não há completa segurança quanto à exposição fetal no primeiro trimestre, apesar da importância da TARV para a saúde materna e da diminuição significativa da transmissão vertical do HIV. No entanto, esta deve ser uma decisão conjunta com a gestante e a equipe assistente (Chougrani et al. 2013; Park et al. 2014; UNAIDS 2017d; Ministério da Saúde do Brasil, 2018c).

2.4.3 Modalidade do parto

A escolha da via de parto para a gestante vivendo com HIV/Aids é avaliada pelo médico que acompanha a paciente, sendo a recomendação do Ministério da Saúde do Brasil que a partir da 34ª semana seja coletada carga viral em todas estas gestantes, para auxiliar definição da via de parto e do uso de profilaxias. Assim, o parto vaginal estaria indicado para mulheres com carga viral abaixo dos limites de detecção ou caso a paciente já se apresentasse em trabalho de parto ou com as membranas rotas. Estando o parto cesáreo, eleito para mulheres com carga viral detectável em momento próximo ao parto, com início tardio do pré-natal (maior que

38 semanas), não utilização de HAART,ou baixa adesão ao tratamento, ou ainda, por solicitação da própria paciente (Ministério da Saúde do Brasil 2018c).

As gestantes com cesariana eletiva agendada devem ser previamente orientadas a qual serviço procurar caso, por ventura, entrem em trabalho de parto anterior a data programada, garantindo assim, que a equipe da maternidade esteja apta a receber esta gestante. Independente do jejum prescrito para o procedimento, os antirretrovirais que a paciente estiver utilizando não devem ser interrompidos. (Ministério da Saúde do Brasil 2018c).

No parto vaginal, sempre que possível, a episiotomia não deve ser realizada. Além disto, a bolsa rota, por mais de quatro horas, deve ser evitada, já que o trabalho de parto prolongado aumenta linearmente as chances de transmissão vertical com risco adicional de 2% a cada hora acrescida (Ministério da Saúde do Brasil 2018c).

Com relação à conduta no momento do parto, em linhas gerais, as recomendações são: sempre que possível realizar o parto empelicado, mantendo as membranas corioamnióticas íntegras ao retirar o neonato, clampear o cordão de imediato após o nascimento, realizar o banho no recém-nascido o mais rápido possível, limpando com compressas macias todo sangue e secreções visíveis, aspirar delicadamente as vias aéreas evitando traumatismos em mucosas, e se necessário, aspirar com cuidado, o conteúdo gástrico de líquido amniótico com sonda. Nesta última conduta, se houver presença de sangue, proceder lavagem com soro fisiológico (Ministério da Saúde do Brasil 2017b; Ministério da Saúde do Brasil 2018c).

2.4.4 AZT Intraparto

A administração do AZT injetável para prevenção da transmissão vertical é recomendada assim que se inicie o trabalho de parto ou três horas antes da cesariana eletiva, devendo ser mantido até o clampeamento do cordão umbilical. Porém, em gestantes que apresentem CV-HIV indetectável após 34 semanas de gestação, e que estejam em TARV com boa adesão, o médico pode, dependendo de seu julgamento clínico, eleger ou não o uso do AZT intraparto endovenoso (Ministério da Saúde do Brasil 2018c).

A administração do AZT endovenoso deve ser feita em acesso calibroso e exclusivo com dose de ataque de 2mg/kg na primeira hora de administração, seguido por infusão contínua de 1mg/kg/hora, até o clampeamento do cordão umbilical. Mesmo nos casos de gestantes que não fizeram uso da TARV durante a gestação

e/ou foram diagnosticadas no momento do parto, o AZT injetável está indicado. Não estando, porventura, disponível o AZT em apresentação endovenosa, pode-se optar pela administração via oral (VO) em solução, sendo administrados 300 mg VO no início do trabalho de parto e 300 mg VO a cada três horas até o seu término (Ministério da Saúde do Brasil 2018c).

2.4.5 AZT Profilático ao recém-nascido

O uso de AZT solução oral é recomendado para todas as crianças nascidas de mães vivendo com HIV como uma das medidas preventivas da transmissão vertical. Devendo ser iniciada a primeira dose o mais breve possível, no máximo nas primeiras quatro horas após o nascimento, de preferência ainda na sala de parto, logo após os cuidados imediatos. A profilaxia com AZT solução oral é mantida por quatro semanas (Ministério da Saúde do Brasil 2018c; UNAIDS 2017b).

Em crianças expostas nascidas de mães que usaram ARV durante a gestação, com boa adesão e cuja carga viral era inferior a 1000 cópias/ml no 3º trimestre, esta conduta é suficiente. Porém, caso contrário, além do AZT deverá ser indicado o uso conjunto de Nevirapina (NVP), também pelo mesmo período (Ministério da Saúde do Brasil 2018c; UNAIDS 2017b).

A partir de quatro semanas, coincidindo com o fim do uso do AZT, recomenda-se que todas as crianças expostas ao HIV recebam profilaxia com SMX-TMP (Sulfametoxazol/Trimetoprima), até que tenham o resultado de duas CV indetectáveis. Tal conduta é necessária para evitar a pneumonia por Pneumocystis jiroveci, mais frequente infecção oportunista em crianças infectadas pelo HIV. O período de maior risco é a do primeiro ano de vida, podendo manifestar-se rapidamente, acarretando insuficiência respiratória com alta letalidade. Assim, em crianças infectadas ou com infecção indeterminada, esta profilaxia é mantida até que completem um ano de idade, independente da contagem de TCD4+ (Ministério da Saúde do Brasil 2017b).

2.4.6 Inibição do Aleitamento Materno

O aleitamento materno é uma importante via de transmissão vertical, visto que mesmo o uso de HAART pela mãe não controla a eliminação do HIV pelo leite. Sendo assim, é fortemente recomendado que toda puérpera vivendo com HIV/Aids não amamente seu filho. Além disto, são terminantemente contraindicados o uso de leite humano com pasteurização domiciliar, o aleitamento cruzado (quando a criança é

amamentada por outra nutriz) e a alimentação mista (uso conjunto de leite humano e fórmula infantil) (Ministério da Saúde do Brasil 2018c).

A mãe deve ser informada e orientada sobre o direito a receber fórmula láctea infantil para substituir o aleitamento materno. A utilização de leite humano pasteurizado proveniente de banco de leite credenciado pelo Ministério da Saúde (p. ex., RN pré-termo ou de baixo peso) é permitida (Ministério da Saúde do Brasil 2018c).

Outro ponto na redução do risco é a inibição farmacológica da lactação, que deve ser realizada imediatamente após o parto, utilizando-se cabergolina 1,0 mg via oral, em dose única (dois comprimidos de 0,5 mg por via oral), administrada antes da alta hospitalar. Caso ocorra lactação rebote, o que é raro, pode-se repetir novamente a dose do inibidor. Uma forma alternativa de inibir a lactação é o enfaixamento das mamas por dez dias. Considerada um meio um tanto invasivo, cuja adesão é baixa e a efetividade questionável, deve ser realizado apenas em último caso, na ausência dos inibidores de lactação farmacológicos no serviço de saúde (Ministério da Saúde do Brasil 2017b).

Assim, fica claro que a prevenção ainda é a melhor maneira de controlar a transmissão vertical do HIV-1. Deste modo, os profissionais da saúde precisam trabalhar juntos fornecendo orientações, iniciando o pré-natal e solicitando a testagem para HIV o mais precocemente possível, implementando medidas preventivas eficazes e principalmente, recomendando e acompanhando o correto uso da terapia antirretroviral durante o pré-natal. Porém, apesar da evidente associação entre todos estes fatores obstétricos, socioeconômicos e comportamentais e a transmissão vertical do HIV-1, a sua resolução não conduz a completa extinção desta forma de transmissão. Estudos demonstram que apesar de adequadamente aplicadas todas estas medidas preventivas, a prevalência da transmissão vertical do HIV-1 ainda se mantém em torno de 1%. Isto aponta o envolvimento de outros elementos como fatores virais e inerentes do hospedeiro (Matt and Roger 2001; Lemos et al. 2012; Hoffmann et.al, 2016).

2.5 VARIABILIDADE GENÉTICA E FATORES DE RESTRIÇÃO

Ao longo do processo evolutivo, o hospedeiro humano e seus patógenos seguem em uma infindável disputa pela adaptação. Enquanto o hospedeiro desenvolve sofisticadas estratégias visando à eliminação do patógeno, por outro, este se especializa em escapar do ataque hospedeiro, se estabelecer e dar continuidade

ao seu ciclo infeccioso. Assim, a infecção pelo HIV-1 mostra um exemplo clássico desta luta pela sobrevivência, nela, o vírus evolui utilizando a maquinaria das células de defesa do hospedeiro para se replicar, enquanto o hospedeiro desenvolveu uma série de respostas imunológicas, visando restringir a replicação viral e debelar a infecção (Derdeyn and Silvestri 2005; Baumann 2006; Pitha 2011; Guha and Ayyavoo 2013).

E é com o objetivo, de proibir que os vírus assumam o completo controle, que a célula lança mão de uma série de proteínas intrínsecas da resposta imune inata. Conhecidas como fatores de restrição do hospedeiro, estas proteínas são capazes de intervir em vários estágios da replicação viral. Vários dos fatores que atuam na restrição do HIV-1 já foram bem descritos, como por exemplo, as proteínas APOBEC3G, TRIM5α e teterina; enquanto outros, como as IFITM3, apontadas com este papel em várias viroses, foram pouco estudadas no HIV-1 (Derdeyn and Silvestri 2005; Baumann 2006; Pitha 2011; Guha and Ayyavoo 2013; Compton et al. 2016).

Porém, a variabilidade genética humana desempenha um papel muito importante sobre estes fatores de restrição. Milhares de variações gênicas, denominadas polimorfismos, vêm sendo descritas, e conforme sua localização, podem promover alteração na expressão gênica, na ligação de fatores de transcrição e síntese proteica, conferindo diferentes respostas frente o vírus. O objeto de interesse deste estudo é uma classe específica destas variações, os polimorfismos de base única (SNPs). SNPs são variações de um único nucleotídeo, encontradas no genoma do hospedeiro, que representam a maior fonte de variações genéticas inter-individuais. No contexto da infecção pelo HIV, diversos trabalhos têm apontado associações de vários SNPs com a susceptibilidade à infecção pelo HIV-1 (Sachidanandam et al. 2001; Frazer et al. 2009; An P and Winkler 2010).

Assim, a partir da observação de que mesmo na ausência de qualquer prevenção ou tratamento nem todas as crianças expostas ao HIV-1 são infectadas, a análise destas variações inter-individuais se torna uma ferramenta fundamental em estudos que pretendam um melhor entendimento da transmissão vertical. Ao contrário do que se imagina, a maioria crianças expostas ao HIV-1, cerca de 55-85%, não são infectadas. Isto mostra que, realmente, um conjunto de fatores próprios do hospedeiro contribuem na defesa contra o vírus, e que estes fatores são diferentes entre os indivíduos. Um dado que respalda esta informação são os estudos com gêmeos dizigóticos sorodiscordantes, mostrando que apesar de todos os fatores ambientais

idênticos, o desfecho foi diferente (Al-Husaini 2009; Neubert et al. 2010; Martinez et al. 2016).

Além disto, o papel das variações genéticas na infecção pelo HIV-1 pode variar de acordo com o perfil étnico da população analisada. Os achados da literatura apontam consideráveis diferenças entre populações preponderantemente caucasianas ou africanas, e populações com grande miscigenação, como é o caso da população do nordeste do Brasil, inclusive do Recife (Winkler et al. 2004; Kehdy et al. 2015).

Tudo isso sugere que a variação destes fatores presentes nas crianças e mães são relevantes e merecem ser considerados, principalmente em uma população tão miscigenada. Assim, fica clara a importância da avaliação de polimorfismos em genes que codifiquem fatores de restrição viral, principalmente os que foram pouco ou nunca estudados, visto que tais variantes podem estar associadas à proteção ou susceptibilidade à infecção pelo HIV-1 (Frazer et al. 2009). No presente estudo, três genes envolvidos na restrição viral e relevantes no contexto da transmissão vertical do HIV-1, foram selecionados para tais avaliações: *CCR5*, *IFITM3* e *BST2* (Tabela 1).

Tabela 1. Genes dos Fatores Restrição Viral envolvidos no estudo.

Gene	Fator de restrição viral	Função biológica no contexto do HIV
CCR5	C-C Chemokine Receptor Type 5	Um dos co-repectores fundamentais à entrada do vírus na célula hospedeira
IFITM3	Interferon-Induced Transmembrane Protein-3	Restringe tanto a fusão quanto o brotamento das partículas virais na célula hospedeira
BST2	Bone Marrow Stromal Cell Antigen-2/Tetherin	Impede o brotamento de partículas virais recém formadas

2.6 *CCR5* E A DELEÇÃO DELTA 32 (Δ32)

O *CCR5* é um gene localizado no braço curto do cromossomo 3 (3p21.31), contendo 6.065 pares de bases, responsável por codificar a proteína C-C receptor de quimiocina tipo 5. Esta proteína é formada por 352 aminoácidos, possuindo uma estrutura com sete domínios transmembranares α-helicoidais, acoplados a proteína G. Sendo expressas principalmente por monócitos, macrófagos, células dentríticas imaturas e linfócitos T, estão envolvidas na resposta inflamatória a infecção e no aumento de reação imunológica, estimulando a ativação e proliferação de células T e macrófagos (Dean et al. 1996; Barmania and Pepper 2013).

O HIV-1 infecta células que expressam o receptor celular de superfície CD4, porém somente a ligação com este receptor não é suficiente para garantir a sua entrada, sendo fundamental a interação das glicoproteínas do vírus com os co-receptores CCR5 e/ou CXCR4. Assim, dependendo da cepa viral ela será capaz de usar um, outro, ou ambos os co-receptores. Portanto, para as cepas de HIV-1 com afinidade R5, a presença da proteína CCR5 na superfície da célula alvo, é indispensável à sua entrada (Douek et al. 2002; Grotto and Pardini 2006).

Porém, este gene possui um alelo mutante que apresenta a deleção de 32 pares de bases, conhecida como mutação CCR5 delta 32, ou CCR5Δ32. Esta deleção causa uma mudança na fase de leitura durante a tradução, atingindo os três últimos domínios transmembranares da CCR5, mais especificamente no segundo *loop* extracelular onde ocorre o sítio de ligação da proteína G responsável pela transdução de sinal celular, levando à não funcionabilidade da proteína. Tal mudança ocorre no aminoácido 185, a partir do qual 31 aminoácidos atípicos são incorporados, até o encontro de stop codon prematuro. Assim, o alelo selvagem codifica uma proteína contendo 352 aminoácidos, enquanto a codificada pelo alelo mutante não funcional, possui ao todo 215 aminoácidos e não é expressa na superfície celular (Figura 8) (Dean et al. 1996; Samson et al.1996; Liu et al. 1996).

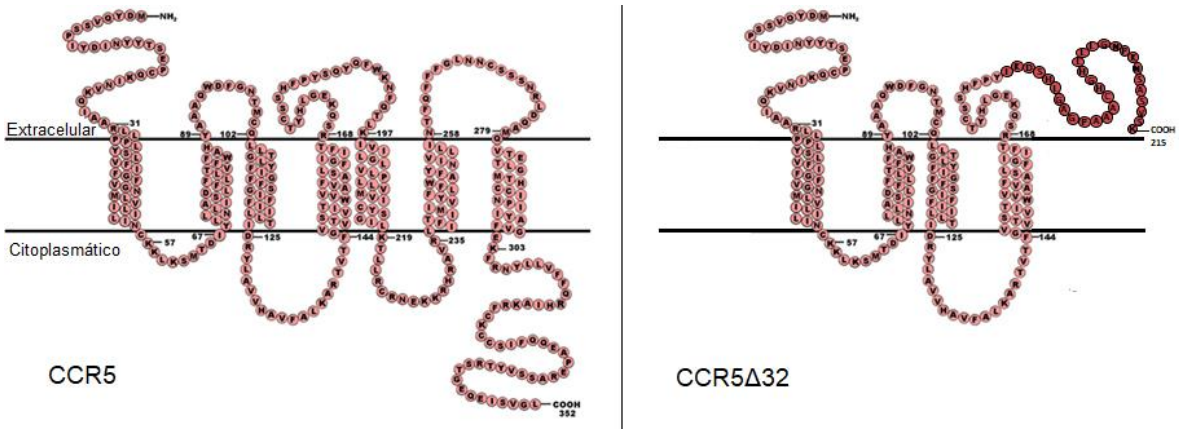

Figura 8. Estrutura da proteína CCR5 e sua variante não funcional. Fonte: Adaptado de (Samson et al. 1996 e Lopalco 2010).

Sendo assim, indivíduos homozigotos para a CCR5Δ32 não expressam o receptor CCR5 na membrana de suas células, impossibilitando, com isso, a entrada do HIV-1 com afinidade para este co-receptor e consequentemente a infecção. Já a heterozigose não confere imunidade a infecção pelo HIV-1, mas devido a menor

disponibilidade de co-receptores na superfície dos TCD4+ e macrófagos, é responsável por retardar a progressão do vírus. Sendo assim, em indivíduos heterozigotos não tratados com antirretrovirais, é observada uma progressão mais lenta da doença (Figura 9). O exemplo mais conhecido envolvendo a CCR5Δ32 é o do paciente de Berlim; portador de leucemia mielóde aguda e HIV positivo, recebeu um transplante medular em 2009 de um doador homozigoto para tal deleção, permanecendo com carga viral indetectável, na ausência de terapia antirretroviral até hoje. Enquanto alguns trabalhos já associaram a ausência do CCR5 em pessoas que apresentam esta deleção em homozigose, à redução a resistência a outras doenças infecciosas ou até, recentemente, a diminuição na expectativa vida; outros estudos não demostraram nenhum efeito nocivo à saúde (Samson et al. 1996; Carrington et al. 1999; Murphy et al. 2010; Allers et al. 2011; Lim and Murphy 2011; Barmania and Pepper 2013; Falcon et al. 2015; Hütter et al. 2015; Wei and Nielsen 2019).

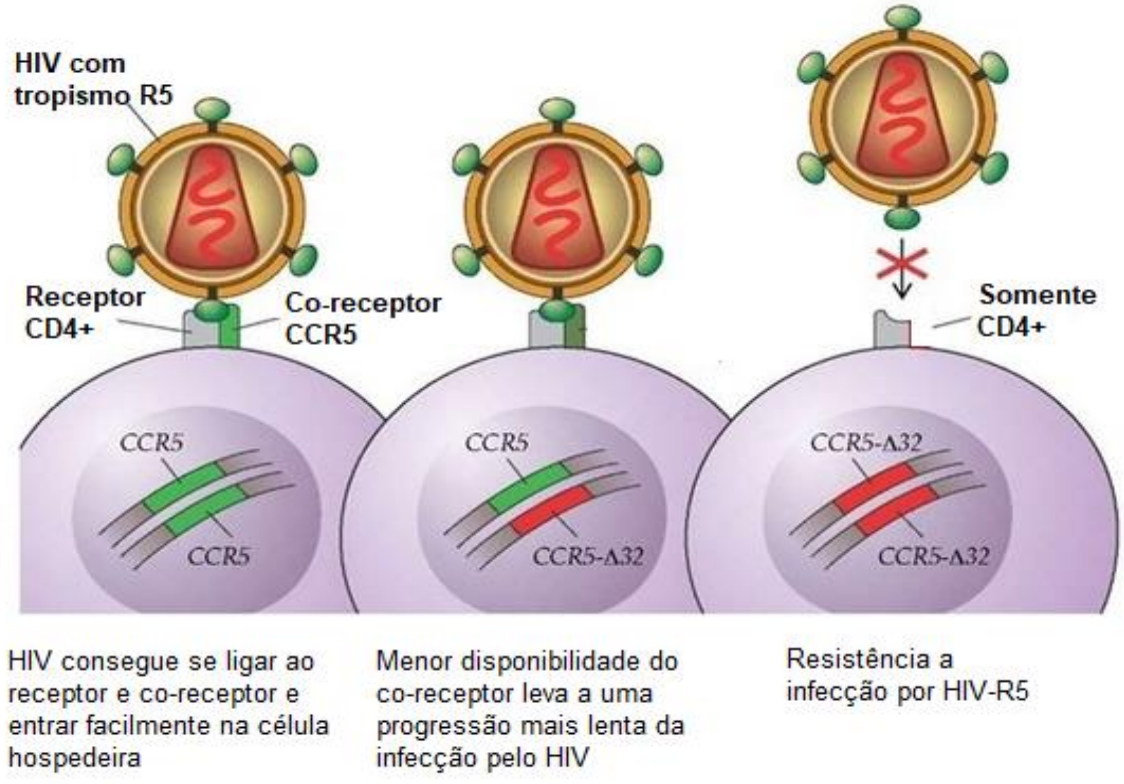

Figura 9. Influência da CCR5Δ32 na progressão e susceptibilidade à infecção pelo HIV-R5. Fonte: Adaptado de https://mskeehu.weebly.com/interesting-science/are-you-caucasian-you-may-be-immune-to-hiv. Acesso em 19/06/2019

Estudos demonstram que a origem do alelo delta 32 é recente, tendo surgido no nordeste da Europa de uma mutação simples. A frequência deste alelo na população caucasiana está em torno de 10%. No norte da Europa a frequência do

genótipo homozigoto é de 1-1,5%, enquanto em outros lugares é de menos de 0,2%. No Brasil a frequência deste alelo oscila entre 6.8% a 14.2% na população caucasiana; 1% a 6.4% na população descendente de africanos e 0.4% a 2.2% na população indígena, apresentando, portanto uma média geral de aproximadamente 4%. Assim, devido à considerável frequência deste alelo na população brasileira, sobretudo do Nordeste, e tendo em vista que nosso estudo busca associar fatores de restrição (IFITM-3 e BST-2) à susceptibilidade a transmissão vertical do HIV-1; a análise prévia da deleção CCR5Δ32, em nosso grupo de estudo, com o propósito de exclusão dos indivíduos porventura homozigotos (Δ32/Δ32), é totalmente lógica e justificável (Libert et al. 1998; Carvalho et al. 2004; Carvalhaes et al. 2005; Vargas et al. 2006; Boldt et al. 2009; Silva-Carvalho et al. 2016).

2.7 *IFITM3*

2.7.1 O gene *IFITM3*

O *IFITM3* - *Interferon Induced Transmembrane Protein 3* - possui 1242 pares de bases, localizando-se na extremidade do braço curto do cromossomo 11 (11p15.5) (NC_000011.10: 319,549 - 321,038), sendo constituído por dois éxons, separados por um íntron e flaqueados pelas regiões 5'UTR e 3'UTR. Este conjunto é responsável por codificar a proteína de mesmo nome, IFITM-3 - *Interferon-Induced Transmembrane Protein-3*, formada por 133 aminoácidos e de peso molecular 14632 daltons (Siegrist et al. 2011; Hickford et al. 2012).

Este gene faz parte da família de genes *IFITMs* - *Interferon Induced Transmembrane Proteins*, dos quais cinco já foram descritos em humanos. *IFITM1, 2, 3,* relacionados à atividade antiviral, *IFITM5* cuja expressão está restrita aos osteoblastos participando da maturação e mineralização óssea, e *IFITM10*, do qual a função ainda permanece desconhecida. Como *IFITM1, 2* e *3* estão fortemente relacionados a restrição de viroses, sua transcrição é regulada positivamente por interferon tipo I e II, justificando o nome recebido pelos genes. Dentre os três homólogos, estudos apontam que, a maior restrição viral ocorre a partir das proteínas codificadas pelo *IFITM3*, o que faz dele e seus polimorfismos, elementos de interesses para estudos que envolvam transmissão vertical e HIV-1 (Figura 10) (Lewin et al. 1991; Brass et al. 2009; Siegrist et al. 2011; Hickford et al. 2012; Harper et al. 2013; Smith et al. 2014; Zhao et al. 2019).

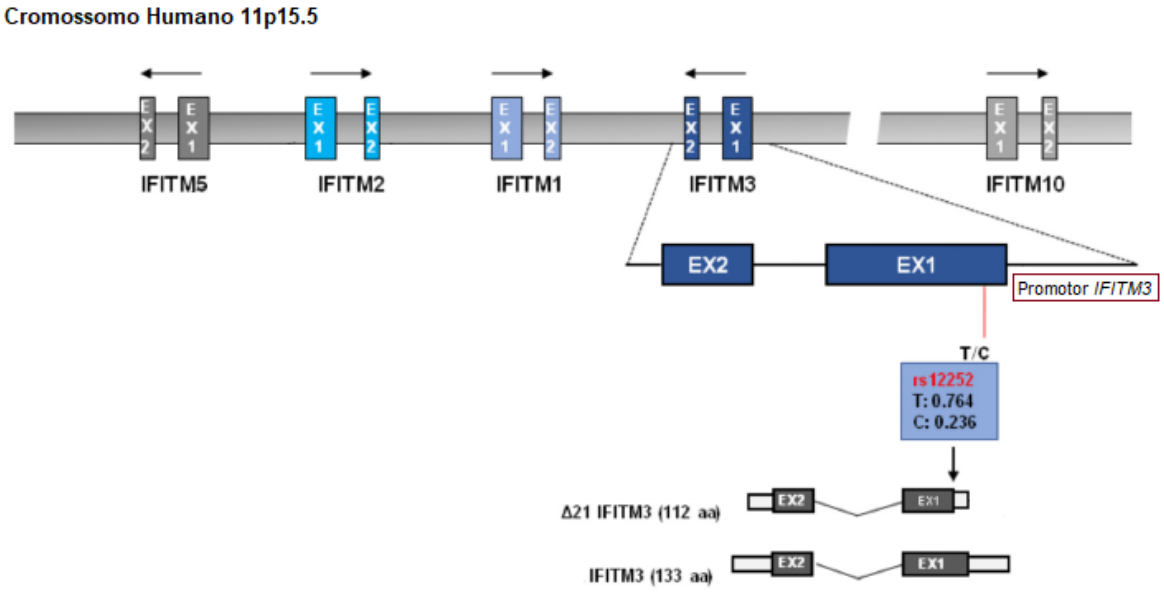

Figura 10. Representação da família de genes *IFITMs* humanos. Em azul, os três genes relacionados a atividade antiviral, com enfoque no *IFITM3* em azul marinho. A linha vertical vermelha indica a posição de um importante SNP na restrição de várias viroses, o rs12252. Fonte: Adaptado de (Zhao et al. 2019).

2.7.2 A proteína IFITM-3 e seu papel na infecção pelo HIV-1

As proteínas IFITM-3 são proteínas transmembranares, induzidas por interferon, encontradas em quase todos os seres vivos, desde bactérias até primatas. Descritas como fatores de restrição viral, estão presentes tanto em membranas internas do retículo endoplasmático, endossomos e lisossomos, como na membrana externa das células. São expressas constitutivamente nos mais variados tecidos, porém, seu nível pode modificar dependendo do tipo celular. Com isso, é possível observar uma maior concentração destas proteínas onde seus efeitos protetores são mais necessários como, células epiteliais de barreira, mucosa oral, esôfago, placenta, macrófagos e linfócitos T (Siegrist et al. 2011; Hickford et al. 2012; Bailey et al. 2014; Ling et al. 2016; Chesarino et al. 2017).

Apesar de ainda não totalmente elucidada, dentre as três possíveis topologias já descritas para a IFITM-3 (transmembranar tipo III, intramembranar e transmembranar tipo II), múltiplas evidências sugerem que esta assuma uma topologia de proteína transmembranar do tipo II com sua porção N-terminal citosólica, seguida por dois domínios hidrofóbicos (um intramembranar e outro transmembranar) e uma porção C-terminal extracelular / endolisossomal (Figura 11) (Brass et al. 2009; Bailey et al. 2013; Bailey et al. 2014; Ling et al. 2016; Chesarino et al. 2017; Zhao et al. 2019).

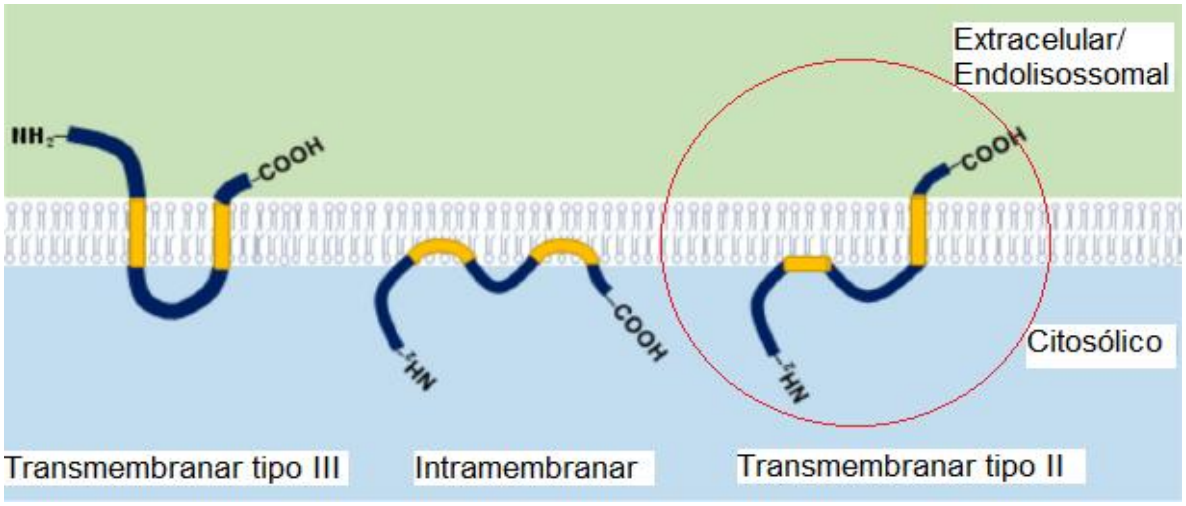

Figura 11. Possíveis topologias da IFITM-3. Destaque para a transmembranar tipo II, mais aceita. Fonte: Adaptado de (Zhao et al. 2019).

Tais proteínas foram identificadas pela primeira vez envolvidas na função de restrição em 2009, contra o vírus influenza A (IAV). Desde então, seus efeitos já foram descritos em várias outras viroses, atuando em quase sua totalidade, sobre vírus envelopados. Exemplos desta atuação já foram relatados em várias cepas do vírus da influenza humana, vírus da dengue (DENV), vírus do Nilo Ocidental (WNV), vírus Ebola (EBOV), vírus da hepatite C (HCV), Zika vírus (ZIKV), bem como SIV e HIV-1 (Brass et al. 2009; Huang et al., 2011; Lu et al. 2011; Perreira et al. 2013; Qian et al. 2015).

No HIV-1, já foi demonstrado que a presença das proteínas IFITM-3 em membranas das células hospedeiras, está associada à redução da infecção, bem como da infecciosidade das partículas virais nascentes. Além disto, estas, diferente de outras proteínas de restrição, são resistentes à regulação negativa ou degradação por proteínas do HIV-1. Porém, apesar de grandes avanços desde sua identificação, os mecanismos moleculares exatos que medeiam suas atividades antivirais ainda não foram totalmente compreendidos (Chutiwitoonchai et al. 2013; Jia et al. 2014; Compton et al. 2014).

A hipótese mais aceita para a forma como as proteínas IFITM-3 restringem as infecções virais se baseia na mudança nas propriedades biofísicas da membrana plasmática, observada na região circundante a tais proteínas. Esta mudança é resultante tanto da própria conformação da proteína que altera a curvatura da membrana, quanto do aumento da concentração de colesterol observada ao seu redor, criando extensas regiões de balsas lipídicas, consequentemente, reduzindo a

fluidez da membrana nesta região (Jia et al. 2012; Amini-Bavil-Olyaee et al. 2013; Compton et al. 2014; Jia et al. 2014).

Assim, estando presentes na membrana celular do hospedeiro, estudos recentes sugerem que tais proteínas possam atuar na restrição ao HIV-1 em dois momentos distintos. Em um primeiro instante, quando o HIV-1 tenta iniciar seu processo de fusão à membrana externa da célula hospedeira, porém encontra esta superfície mais rígida, atrapalhando na formação do poro de fusão. Ou em um segundo ponto, quando, mesmo com este impedimento físico, o HIV-1 conseguiu adentrar a célula e criar novas partículas virais que precisarão deixar a célula hospedeira para infectar novos linfócitos. Nesta etapa, a IFITM-3 poderá atuar diminuindo a infectividade viral. Estudos recentes demostraram que o HIV-1, ao sair da célula levando consigo parte da membrana plasmática do hospedeiro, leva também as proteínas IFITM-3 que porventura estavam naquela região. Então, estas proteínas, agora pertencentes a membrana viral, dificultarão pelo mesmo mecanismo sua fusão à membrana de novas células alvo. Portanto, as IFITM-3 podem atuar na redução tanto da susceptibilidade à infeção inicial pelo HIV-1, quanto na progressão da doença (Amini-Bavil-Olyaee et al. 2013; Li et al. 2013; Lin et al. 2013; Bailey et al. 2014; Compton et al. 2014; Desai et al. 2014; Jia et al. 2014; Compton et al. 2016).

Porém, a expressão das proteínas IFITM-3 não está restrita à membrana plasmática da célula. De fato, elas podem ser observadas em vários compartimentos celulares, sendo sua localização governada por modificações pós-traducionais. Esses processos regulatórios impactam a localização e a degradação das IFITM-3 na célula e, como resultado, são determinantes para sua função antiviral (Jia et al. 2012; Yount et al. 2012; Chesarino et al. 2014a; Chesarino et al. 2014b; Chesarino et al. 2015).

Durante o processo de biossíntese, a proteína IFITM-3 é direcionada para a membrana plasmática, onde sofre estas modificações pós-traducionais em sua porção N-terminal. Ali ela pode ser fosforilada o que manterá a proteína na membrana, ser endocitada, processo mais comum que a direcionará para os endossomos, ou ainda ser ubiquitinada. A endocitose da IFITM-3 é dependente de um motivo de internalização (YxxΦ, YEML em IFITM-3 humano), que é reconhecido pela subunidade μ2 do complexo AP-2, resultando na internalização de IFITM-3 em endossomos tardios, corpos multivesiculares e lisossomos. Porém, sobreposto ao YEML é possível observar outro motivo muito importante (PPxY, PPNY em IFITM-3 humano), responsável por recrutar a ubiquitina ligase E3 NEDD4 para promover a

ubiquitinação da IFITM-3 e sua degradação via lisossomos. No entanto, a fosforilação do resíduo de tirosina 20 (Y20), comum aos dois motivos, inibe tanto a endocitose quanto a ubiquitinação, mantendo a IFITM-3 na membrana plasmática. Como os motivos da sequência reconhecidos pelo NEDD4 e pelo complexo AP-2 são adjacentes e se sobrepõem à tirosina 20, é provável que um mecanismo de competição simples seja o fator determinante de qual dos processos prevalecerá para cada IFITM-3 no processo (Figura 12). Assim, a fosforilação da Y20 é um regulador positivo, enquanto a endocitose e a ubiquitinação são reguladores negativos da atividade anti-HIV desta proteína (Yount et al. 2012; Chesarino et al. 2014b; Jia et al. 2014; Chesarino et al. 2015; Compton et al. 2016).

Contudo, polimorfismos no *IFITM3* que modifiquem algum destes motivos de ligação, podem alterar este desfecho, modulando, por conseguinte, a susceptibilidade a infecção pelo HIV-1 (Jia et al. 2014; Compton et al. 2016).

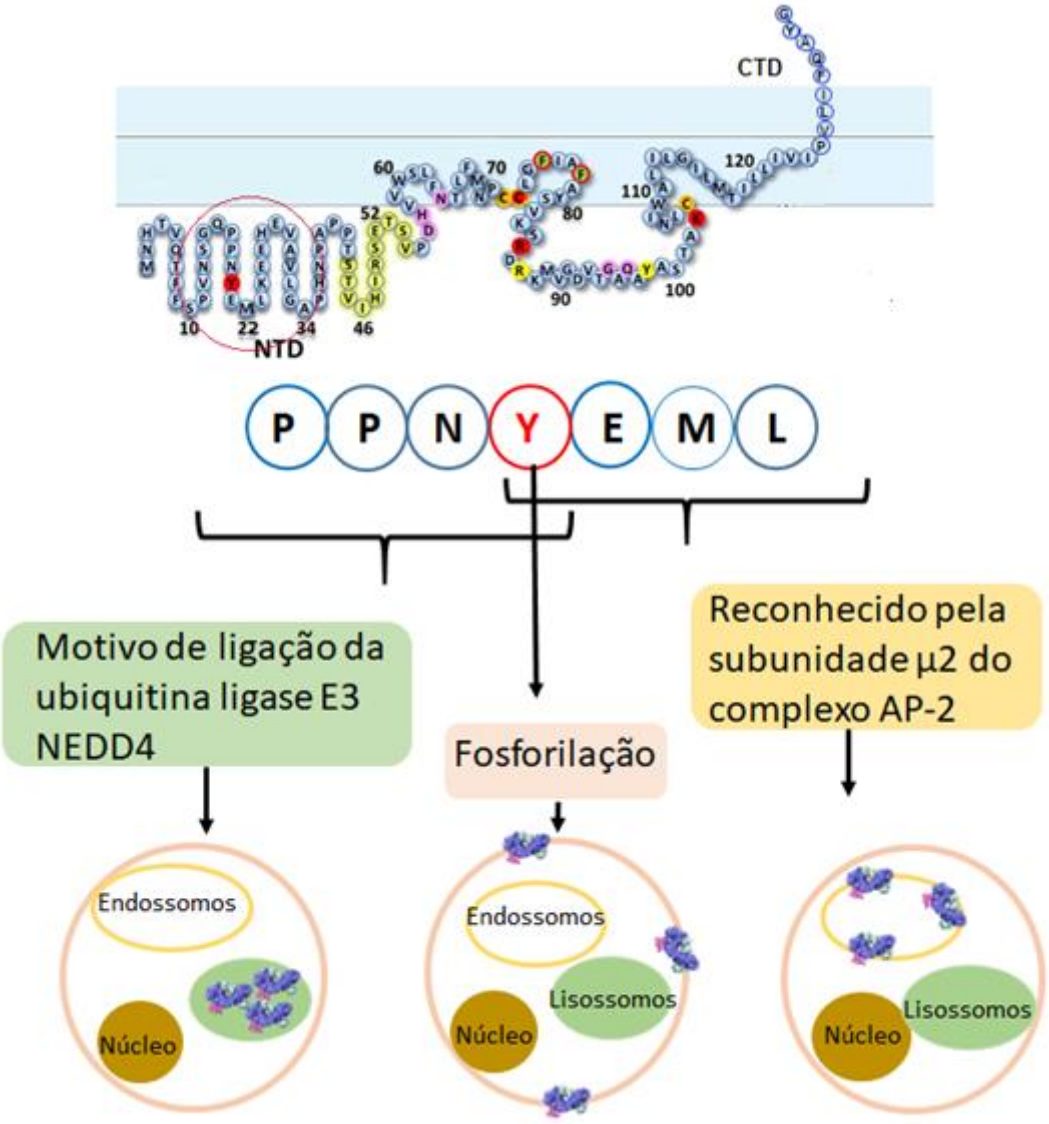

Figura 12. Modificações pós-traducionais da IFITM-3. Representando o direcinamento da proteína no interior da célula, dependente destas modificações. Fonte: Adaptado de (John et al. 2013).

2.7.3 Polimorfismo selecionado no *IFITM3*

Assim, foi enfocado o SNP (polimorfismo de base única) rs12252, que intervém nestes três motivos de ligação, apresentando como efeito funcional principal a mudança da localização da proteína IFITM-3 dentro da célula (Jia et al. 2014; Compton et al. 2016).

O SNP selecionado rs12252 T>C, está localizado na posição 42 do éxon 1 do *IFITM3,* apresentando uma frequência alélica mínima (MAF) global de 0,24. Embora previamente associado a outras viroses, sobretudo influenza, por vários estudos, poucas análises foram realizadas envolvendo este polimorfismo e o HIV-1. Os estudos que integram estes dois fatores foram principalmente, análises *in vitro,* em culturas

celulares; até o momento, somente um estudo foi efetivamente realizado em uma coorte de PVHA. No entanto, em todos os casos foi possível observar uma forte associação entre o rs12252 e a infecção pelo HIV-1 (Bailey et al. 2012; Everitt et al. 2012; Jia et al. 2012; Zhang et al. 2013; Wang et al. 2014; Zhang et al. 2015; Compton et al. 2016).

Funcionalmente, apesar de ser um polimorfismo sinônimo (Ser14Ser), a proteína gerada por este alelo variante sofre uma grande modificação em sua estrutura. A mudança de base que ocorre no início do éxon 1, resulta na transcrição de um pré-mRNA com um sítio de splicing alternativo, que quando reconhecido como tal pelo spliceossomo perfaz na remoção equivocada da parte inicial deste éxon. Assim, com a remoção de 42 bases de sua porção inicial, o mRNA perde inclusive sua metionina inicial, o que deveria impedir a tradução. Porém, este problema é contornado pela maquinaria celular, ao encontrar outra metionina a jusante, na posição 66. Isto permite a tradução do mRNA gerando a IFITM3Δ21, uma proteína funcional, porém com a deleção de 21 aminoácidos em sua porção N-terminal (Figura 13). (Everitt et al. 2012; Jia et al. 2012; Compton et al. 2016).

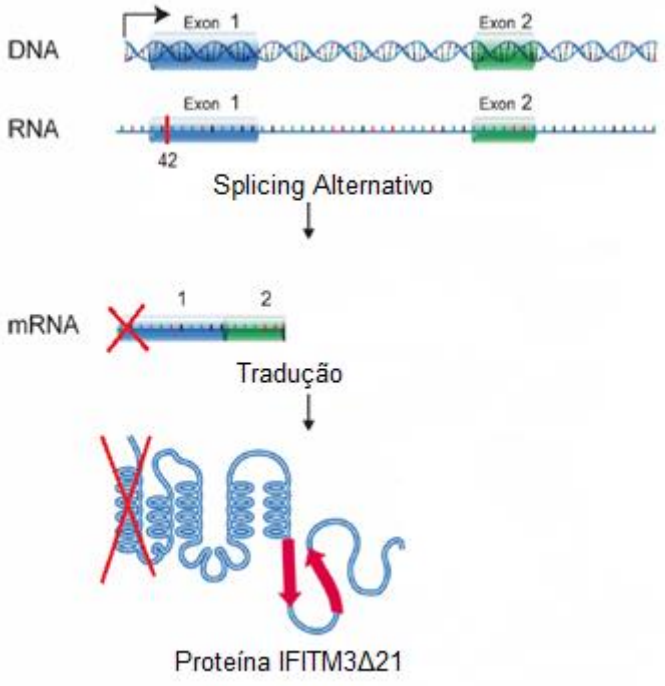

Figura 13. Modificação estrutural na IFITM-3 ocasionada a partir do polimorfismo rs12252. Fonte: Modificado de https://en.wikipedia.org/wiki/Alternative_splicing.

Esta variante, de 112 aa gerada, diferentemente da IFITM3 completa, não é encontrada em vários compartimentos celulares, sua localização é praticamente

exclusiva da membrana plasmática (Figura 14). Tal mudança de localização pode impactar a infecção pelo HIV-1. Como anteriormente citado, as proteínas IFITM3 são enviadas para membrana plasmática onde sofrem modificações pós-traducionais, responsáveis pelo seu direcionamento para os endossomos, lisossomos, ou mesmo sua manutenção na membrana plasmática. Porém, tais modificações ocorrem em motivos específicos localizados justamente na porção de aminoácidos perdida pelas IFITM3Δ21. O motivo YEML, necessário para a internalização da IFITM3 em endossomos representa os aminoácidos de 20 a 23, enquanto o motivo PPNY no qual ocorre a ubiquitinação da proteína é composto pelos aminoácidos de 17 a 20, bem como a fosforilação da tirosina 20, que mantem a IFITM3 na membrana externa, só pode ocorrer na presença da referida tirosina. Portanto, na ausência destes motivos, estas modificações não são possíveis levando a uma maior concentração destas proteínas na membrana plasmática, até que, via outras lisinas presentes (K24, K83, K88, K104), sejam ubiquitinadas e provalvelmente degradadas por um mecanismo ainda não totalmente elucidado (Jia et al. 2012; Yount et al. 2012; Jia et al. 2014; Chesarino et al. 2014b; Compton et al. 2016; Shi et al. 2017).

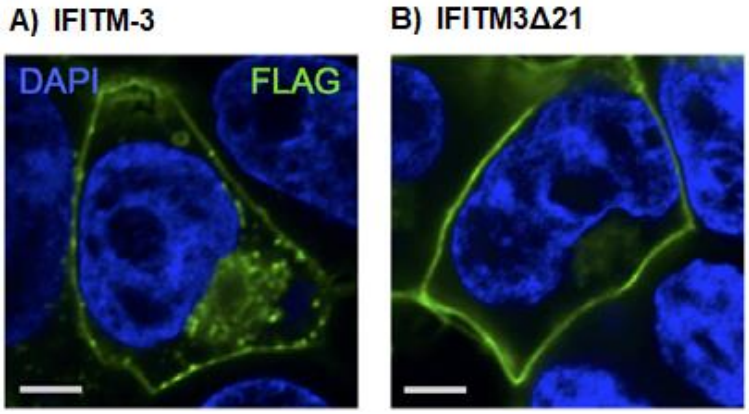

Figura 14. Localização da IFITM-3 e sua variante IFITM3Δ21. Microscopia confocal fluorescente de linhagem celular 293T contendo ligante N-terminal FLAG (pQCXIP-FLAG-IFITM3) marcadas pelo anticorpo anti-FLAG M2 em verde, mostrando em A) a distribuição em endossomos, lisossomos, corpos multivesiculares e pequena quantidade na membrana plasmática, da proteína selvagem IFITM-3 e em B) a localização quase que exclusivamente periférica da variante IFITM3Δ21. Fonte: Compton et al. 2016.

No entanto, a eficácia da restrição da IFITM3Δ21 às diferentes viroses, ainda é bastante controversa. Com relação a influenza, na qual a associação da infecção com esta variante foi bastante explorada, é possível observar que o SNP rs12252 aumenta a susceptibilidade e a progressão à infecção. Isto é justificável já que tal polimorfismo impede a internalização das proteínas IFITM-3 em endossomos – via de entrada e

onde ocorre grande parte da ciclo do vírus influenza. Já no contexto do HIV-1, era esperado um efeito inverso, onde apresentar o polimorfismo que direciona um maior número destas proteínas para a membrana plasmática - local de entrada do HIV-1 – exerceria um efeito protetor contra a virose. Porém os resultados publicados até o momento são contraditórios; enquanto os estudos *in vitro* demostram que a IFITM3Δ21 exerce um efeito protetor, inibindo melhor a replicação e reduzindo a infectividade do HIV-1 quando comparada com a IFITM-3 selvagem, o estudo que analisou a coorte de PVHA mostrou o inverso, ao encontrar associação entre o rs12252-C variante e a susceptibilidade à rápida progressão a infecção pelo HIV-1 (Everitt et al. 2012; Jia et al. 2012; Zhang et al. 2013; Zhang et al. 2015; Compton et al. 2016; Shi et al. 2017).

Desta forma, fica clara a relevância da análise deste polimorfismo rs12252 também em nossa população de transmissão vertical, podendo contribuir futuramente, com processo de elucidação dos mecanismos envolvidos neste importante fator de restrição viral.

2.8 *BST2*

2.8.1 O gene *BST2*

O *BST2 – Bone Marrow Stromal Cell Antigen 2* - possui 2692 pares de bases, localizando-se no braço curto do cromossomo 19 (19p13.11) (NC_000019.10: 17402939 - 17405648), sendo constituído por quatro éxons, separados por íntrons e flaqueados pelas regiões 5'UTR e 3' UTR. Este conjunto é responsável por codificar a proteína Bone Marrow Stromal Antigen 2 (BST-2; também conhecida como Teterina), formada por 180 aminoácidos e de peso molecular 19769 daltons (Ishikawa et al. 1995; Tokarev et al. 2009; Kamada et al. 2016).

Este gene apresenta uma expressão constitutiva em diversas células do sistema imune (linfócitos B e T, macrófagos, células natural killers, células dendritícas e monócitos), bem como em diversos órgãos e tecidos (fígado, pulmão, baço, placenta e sangue do cordão umbilical) e secreções (colostro e sêmen). Apesar de originalmente ligado ao desenvolvimento das células B, este gene faz parte do conjunto de genes estimulados por interferon - *Interferon Stimulated Genes* (ISGs), tendo sua transcrição regulada positivamente por esta citocina, estando, portanto, fortemente relacionado a restrição de várias viroses, inclusive o HIV-1 (Ishikawa et al. 1995; Kawai et al. 2008; Jouvenet et al. 2009; Loschko et al. 2011; Pereira et al. 2013).

Como alguns estudos têm relacionado polimorfismos neste gene e a susceptibilidade à infecção pelo HIV-1 em diferentes populações e devido à sua alta expressão em células e tecidos envolvidos na transmissão vertical (Laplana et al. 2013; Hancock et al. 2015; Kamada et al. 2016), a investigação deste gene em nosso grupo de mães HIV positivo e seus filhos expostos é justificável.

2.8.2 A proteína Teterina e seu papel na infecção pelo HIV-1

A proteína BST-2/Teterina - "Bone Marrow Stromal Cell Antigen-2", é um antígeno de células estromais da medula óssea, cuja função específica ainda não é totalmente determinada, mas que inicialmente foi identificado como sendo um promotor de crescimento e desenvolvimento de células pré B. As células estromais da medula óssea são representadas sobretudo por células que derivam do mesênquima ou tecido conjuntivo frouxo, e formam o reticulado tridimensional onde estão contidas as células hematopoéticas. Tais células, apresentam como função principal, a capacidade de regular o ritmo de diferenciação destas células hematopoéticas, protegendo-as, portanto, de uma proliferação exagerada ou anômala (Ishikawa et al. 1995; Taylor et al. 2015).

No entanto, a Teterina não está envolvida somente na diferenciação das células pré B. Esta proteína apresenta expressão constitutiva, podendo ainda ser induzida por interferon, em muitos outros tipos celulares, principalmente células do sistema imune, bem como em diversos órgãos, tecidos e secreções, nos quais desempenha uma função secundária de extrema relevância na restrição de várias viroses. Sua atuação já foi descrita na restrição de muitos vírus envelopados, tais como vírus linfotrópico da célula T humana (HTLV-I), vírus de Marburg (MARV), EBOV, SIV, HIV-2, HIV-1, entre outros (Blasius et al. 2006; Kawai et al. 2008; Van Damme et al. 2008; Jouvenet et al. 2009; Miyagi et al. 2009; Loschko et al. 2011; Pereira et al. 2013).

Estruturalmente, é uma proteína transmembranar do tipo II de passagem única que possui uma região N-terminal hidrofílica citoplasmática de 21 aminoácidos, seguido por um domínio hidrofóbico transmembrana, um domínio extracelular α-helicoidal e uma porção C-terminal ligada a bicamada lipídica por uma âncora de glicosilfosfatidilinositol (GPI) (Sauter et al. 2010; Arias et al. 2011). Sua porção N-terminal citoplasmática contém várias características conservadas, incluindo um motivo YxY (aminoácidos de 6 a 8) no qual se liga o adaptador de clatrina de membrana plasmática AP2, facilitando a endocitose, além de um motivo KxxK (lisinas

K18 e K21) que são alvos para ubiquitinação. Ademais, além destes dois processos de endocitose e ubiquitinação, a partir da detecção de uma partícula viral na porção GPI, a cauda citoplasmática da Teterina pode ainda atuar promovendo uma restrição indireta, modulando a produção de citocinas pró-inflamatórias, mediada pelo fator de transcrição NF-kB, e de interferon do tipo I (Evans et al. 2010; Yan and Chen 2012). Já o domínio extracelular possui dois sítios de N-glicosilação (N65 e N92) e três resíduos de cisteína (C53, C63 e C91) que medeiam sua homodimerização via ligações dissulfeto, potencializando assim, a ação anti-viral da teterina (Figura 15) (Tokarev et al. 2009).

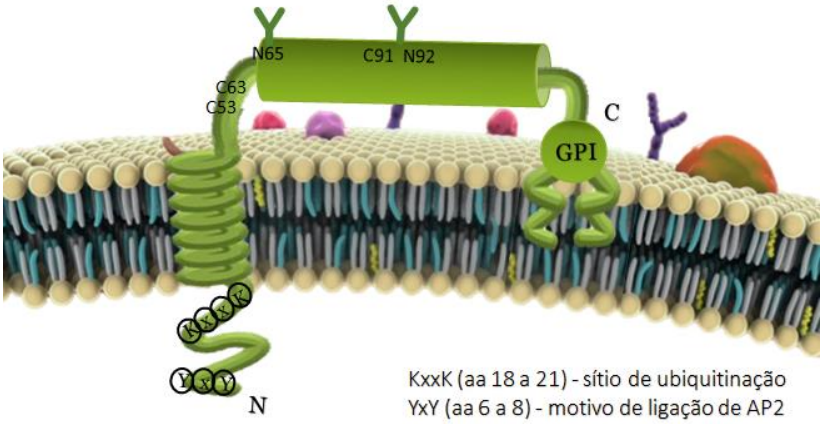

Figura 15. Estrutura da Teterina/BST-2. Fonte: A autora (2019).

Seu mecanismo de ação consiste em restringir diversos vírus envelopados de células infectadas em sua fase de brotamento, impedindo sua liberação e propagação, atuando assim, na progressão da doença (Neil et al. 2008). Está presente na membrana celular normalmente na forma de dímeros os quais se ligam diretamente ao envelope viral preferencialmente pelo grupamento GPI, mantendo a outra extremidade ligada a membrana plasmática. Assim, a Teterina atua diretamente como amarras físicas, segurando os virions na superfície da membrana celular e ligando-os uns aos outros. Tais virions amarrados formam um aglomerado podendo ser internalizados por endocitose via complexo AP2 e subsequentemente degradados pelos lisossomos, ou podem permanecer na superfície celular. Em ambos os casos, sua disseminação como vírus livres e infectividade ficam restritas (Figura 16) (Neil et al. 2006; Arias et al. 2011; Martin-Serrano and Neil 2011).

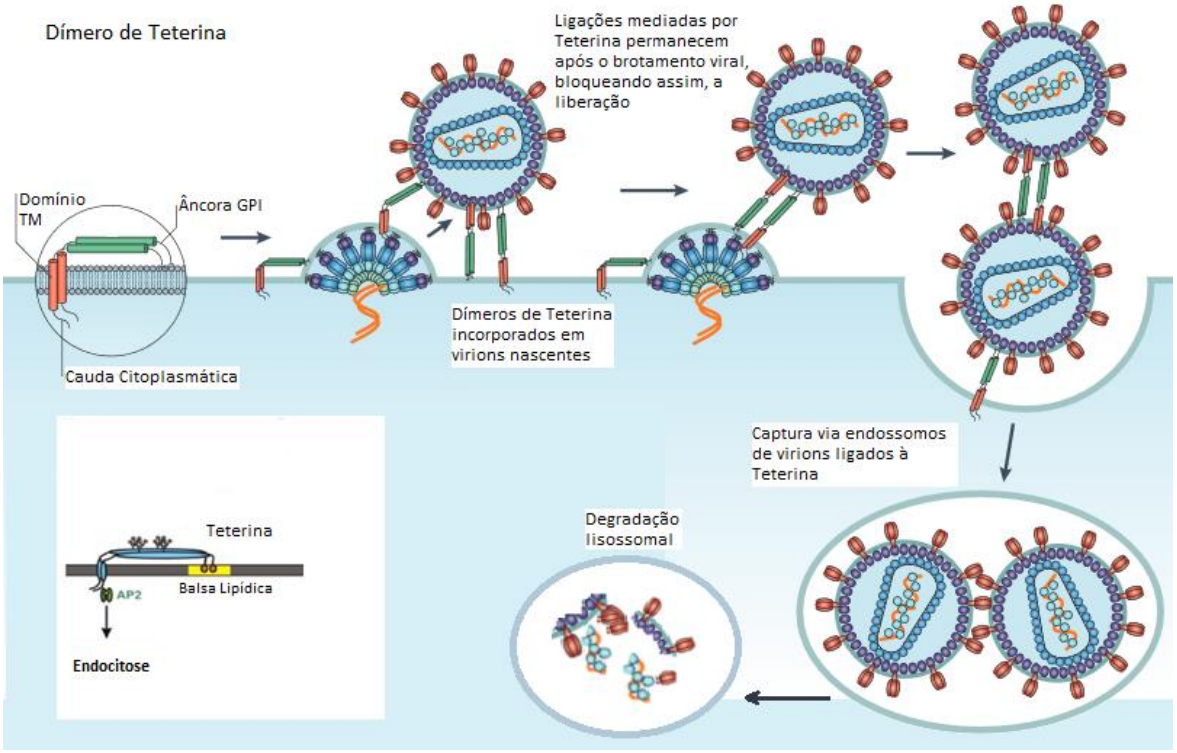

Figura 16. Mecanismo de restrição da Teterina em célula infectada pelo HIV-1. Destaque para o processo de endocitose. Fonte: Adaptado de (Martin-Serrano and Neil 2011).

Assim, partindo deste princípio, a Teterina seria um fator de restrição ao HIV-1 extremamente eficaz, já que as partículas virais ficariam retidas na superfície celular ou seriam endocitadas e degradadas, dificultando a infecção de novas células de defesa do indivíduo. Porém o HIV-1 evoluiu no sentido de evitar esta restrição, uma de suas proteínas acessórias, a Vpu (*Viral Protein U*), possui um papel essencial no escape à ação da teterina, antagonizando sua função e modulando negativamente sua expressão (Dubé et al. 2010). A Teterina normalmente permanece em uma via cíclica entre retículo endoplasmático, complexo de golgi, endossomos e membrana plasmática. Na presença de Vpu este ciclo é interrompido e a proteína fica presa no complexo de golgi ou é endocitada e degradada via lisossomal ou proteossomal. A remoção adequada de teterina da membrana plasmática por Vpu, requer a proteína celular β-TrCP (proteínas de repetições beta-transducina), um substrato adaptador para o complexo E3 ubiquitina ligase (Douglas et al. 2009) (Mangeat et al. 2009). Tal sequestro de Teterina por Vpu leva a uma grande redução nestas proteínas na membrana plasmática na região de brotamento viral, facilitando assim, a saída do HIV-1 da célula infectada e consequentemente sua disseminação. Quando o vírus infectante possui uma deleção no gene que codifica a sua proteína Vpu, observa-se

uma ação mais eficaz da Teterina, levando a uma redução na quantidade viral circulante (Figura 17) (Sugden et al. 2016).

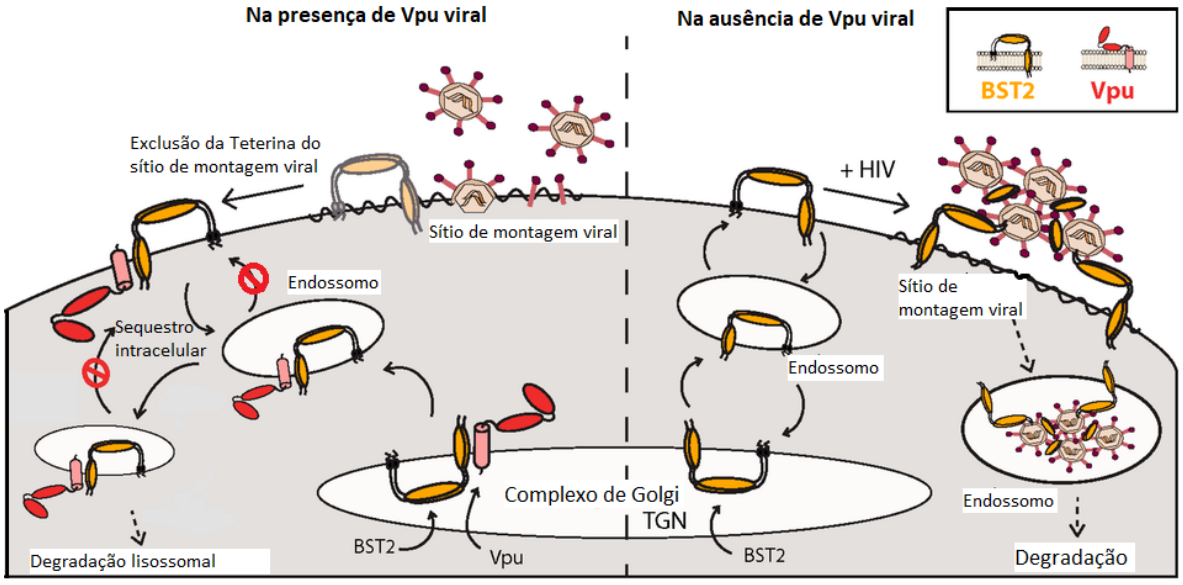

Figura 17. Atuação da Teterina na presença e ausência da proteína Vpu do HIV-1. Fonte: Adaptado de (Sugden et al. 2016).

Na fase aguda da infecção por HIV-1, e também em infectados crônicos comparados com indivíduos controle, é observado um aumento de 2 a 3 vezes nos níveis de Teterina. No entanto, quando estes indivíduos são tratados com antirretrovirais esta expressão de Teterina é reduzida a níveis basais similares de indivíduos não infectados. Tais achados estão diretamente relacionados ao fato de a terapia antirretroviral levar a redução da viremia no plasma, diminuindo a resposta imune inata, a produção de IFN e consequentemente a expressão de Teterina (Homann et al. 2011). Porém não só a viremia ou a proteína viral Vpu são capazes de modular a expressão da Teterina; outros fatores como polimorfismos no *BST2* podem alterar esta expressão modificando sua capacidade de restrição viral, interferindo, portanto, na susceptibilidade a infecção pelo HIV-1 (Laplana et al. 2013; Hancock et al. 2015).

2.8.3 Polimorfismos selecionados no *BST2*

Assim, no gene *BST2*, foram selecionados três polimorfismos - rs919267, rs919266 e rs9576 - de acordo com sua relevância e efeito funcional, descrição prévia na literatura e frequência alélica mínima global (MAF) (com ênfase nas populações YRI, PUR e CEU) acima de 0,10 (Kamada et al. 2016).

Ademais, a escolha foi norteada por um estudo prévio coordenado pelo Dr. Sergio Crovella no IRCCS Burlo Garofolo – Trieste (Itália), no qual 14 SNPs do *BST2* mais frequentes nos bancos de dados e nas populações (YRI, LWK, ESN e GWD) - (rs112492472, rs12609479, rs73921425, rs28413174, rs28413175, rs28413176, rs11542666, rs34737311, rs113321277, rs2278234, rs919265, rs919266, rs919267 e rs9576) – foram sequenciados em uma coorte de transmissão vertical de 331 indivíduos. Nesta referida coorte, os SNPs rs919267, rs919266 e rs9576 foram os únicos a apresentarem MAF acima de 0,05, o que contribuiu para a escolha de replicar tal estudo em nosso grupo de pacientes (Kamada et al. 2016).

Os SNPs selecionados rs919267 C>T e rs919266 G>A, estão localizados no último íntron do *BST2,* apresentando, respectivamente, a MAF global de 0,25 e 0,11. O papel funcional destes SNPs ainda não foi demonstrado, no entanto eles apresentam desequilíbrio de ligação com dois polimorfismos do *BST2* relacionados ao HIV; rs919267 com rs12609479 e rs10415893 (respectivamente, D' = 0,93 e D' = 0,94; população africana / YRI de 1000 Genomas) e rs919266 com o rs12609479 (D' = 0,54; população americana / PUR de 1000 Genomas). O SNP rs12609479 está localizado na região promotora do *BST2*, relacionado ao aumento na expressão deste gene, enquanto o SNP rs10415893 é encontrado na região 3'UTR, e foi previamente associado à rápida progressão da aids em uma coorte espanhola (Laplana et al. 2013; Skelton et al. 2014; Hancock et al. 2015; Kamada et al. 2016).

Já o terceiro SNP selecionado rs9576 C>A, apresenta MAF global de 0,14 e encontra-se localizado na região 3'UTR do *BST2,* podendo atuar na expressão diferencial deste gene. Além disto o rs9576 também está em desequilíbrio de ligação com o já citado rs12609479 da região promotora (D' = 1,0; população africana / YRI de 1000 Genomas) (Skelton et al. 2014; Kamada et al. 2016).

Desta forma, os SNP escolhidos podem estar relacionados à alteração na disponibilidade da Teterina nas membranas celulares, modulando assim, sua atuação na restrição da infecção pelo HIV-1 (Laplana et al. 2013; Skelton et al. 2014; Hancock et al. 2015; Kamada et al. 2016).

3. METODOLOGIA

3.1 DESENHO DE ESTUDO

O projeto foi realizado no Laboratório de Imunopatologia Keizo Asami (LIKA), órgão suplementar da Universidade Federal de Pernambuco, o qual oferece toda a infraestrutura requerida para a pesquisa. Toda a metodologia do estudo foi preliminarmente aprovada pelo comitê de ética em pesquisa em seres humanos do Instituto de Medicina Integral Professor Fernando Figueira (IMIP) (protocolo número 3629-13) (Anexo A).

O estudo desenvolvido é um estudo observacional, analítico, retrospectivo, do tipo caso-controle, em que as crianças expostas que foram infectadas são consideradas casos e aquelas que embora expostas, apresentaram sorologia negativa para o HIV-1 são considerados controles.

Assim, dentre o montante total de crianças expostas, foram excluídas, com o intuito de evitar viés de confusão, aquelas cujas mães mantiveram carga viral indetectável ao longo de toda a gestação. Portanto, foram selecionadas apenas crianças das quais as mães apresentaram ao menos uma carga viral detectável, ao longo do período gestacional. A partir destas, foram formados os dois grupos distintos:

- Grupo Caso – Mães HIV-1+ e seus filhos expostos e infectados.
- Grupo Controle - Mães HIV-1+ e seus filhos expostos e não infectados (Figura 18).

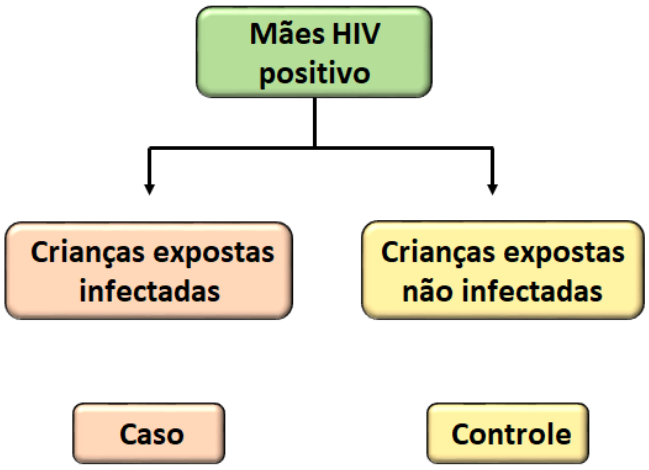

Figura 18. População envolvida no estudo. Fonte: A autora (2019).

3.2 DESCRIÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DA POPULAÇÃO, TAMANHO AMOSTRAL, E ELEGIBILIDADE

Assim, determinada a população de estudo, os pacientes foram selecionados através de amostragem por conveniência. Os parâmetros clínicos e dados essenciais para o desenvolvimento da pesquisa foram: materno - carga viral do HIV-1 no sangue durante o período gestacional e pós parto, informações sobre o uso de antirretrovirais durante a fase gestacional, tipo de parto, antirretroviral intraparto e amamentação; infantil - carga viral do HIV-1 no sangue, diagnóstico com sorologia para o HIV-1 ou ao menos duas cargas virais, contagem de células TCD4+ e TCD8+, idade limite de 13 anos, sexo, data do primeiro diagnóstico e informações sobre o uso de antirretrovirais materno durante a fase gestacional, tipo de parto, uso materno de antirretroviral intraparto e tipo de aleitamento.

Após apresentação do estudo, as mães que se dispuseram a participar da pesquisa assinaram os termos de consentimento e de assentimento livre e esclarecido (TCLE) (Anexos B e C), concedendo autorização para a coleta de amostras de seu sangue e de seu filho menor, para as eventuais análises.

Assim, devido à prévia colaboração entre grupo de pesquisa Patgen – Patologia Molecular e Medicina Genômica – e o IMIP, desde o início de 2014 até o início de 2019, foram coletados amostras biológicas de 300 mães e seus respectivos filhos. Destes, após minuciosa análise dos prontuários, 35 pares foram excluídos da pesquisa por não apresentarem os parâmetros clínicos e dados essenciais exigidos, por serem pacientes do Setor de Imunologia ou pela forma de transmissão ter ocorrido por outra via que não a vertical. Com isso, dos 265 pares restantes, ainda foram retirados 43 cujas mães mantiveram carga viral indetectável durante todo o período gestacional e 6 cuja contaminação da criança ocorreu sabidamente no pós-parto, via aleitamento materno, restando 216 pares como mostra o fluxograma (Figura 19). Assim, estes 216 pares, nos quais a mãe apresentou ao menos uma carga viral detectável no período gestacional, foram eleitos para o estudo e categorizados de acordo com os dois grupos propostos.

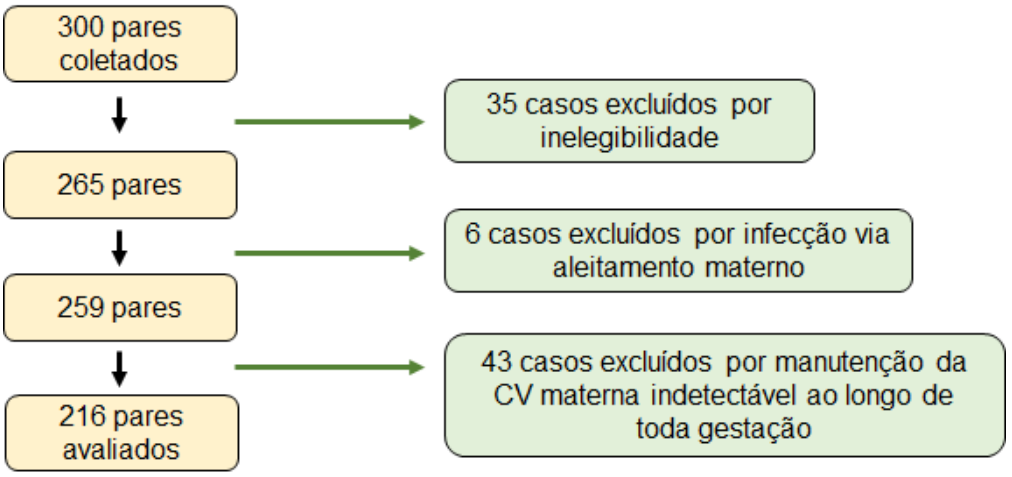

Figura 19. Etapas de seleção do grupo amostral. Fluxograma representativo das etapas de exclusão, desde o total de pares coletados até a seleção dos 216 pares que compõem o presente estudo. Fonte: A autora (2019).

Tais amostras coletadas, estão armazenadas no Laboratório de Imunoepidemiologia do CPqAM e no Setor de Virologia do Laboratório de Imunopatologia Keizo Asami (LIKA).

3.3 COLETA DAS AMOSTRAS

As amostras foram coletadas em sala própria no Hospital Dia – IMIP, concomitante à coleta de exames (carga viral, CD4+, bioquímica) solicitada pelos médicos e que os pacientes já realizam como parte da rotina.

Assim, após aceite do paciente, preenchimento do formulário e assinatura da autorização, foi entregue ao funcionário de enfermagem do hospital responsável pelas coletas daquele dia, dois tubos com os códigos da pesquisa.

Com isso, este funcionário colaborou de forma solidária com a pesquisa, coletando um tubo EDTA contendo 4 mL de sangue periférico da mãe e outro de seu respectivo filho exposto, além dos já solicitados pelo médico.

Então, este material foi acondicionado em recipiente próprio e transportado até o LIKA, onde as etapas posteriores foram realizadas.

3.4 EXTRAÇÃO DO DNA

A amostra de 4ml de sangue periférico coletada em tubo EDTA foi primeiramente centrifugada para separação do plasma. Foram feitas 3 alíquotas de plasma de 300 µL e armazenadas a -80°C.

Após este procedimento, o restante do material foi utilizado para a realização da extração do DNA genômico através do protocolo de *mini salting-out*, estabelecido por Miller et al. (1988). Então o produto da extração foi armazenado em temperatura ambiente por um dia até sua quantificação.

Decorrido este período, a pureza do DNA foi avaliada utilizando o espectrofotômetro Thermo Scientific™ NanoDrop 2000 (ThermoFisher), considerando a razão entre as absorbâncias 260/280nm e 260/230nm. As amostras foram consideradas satisfatórias quando apresentaram valor igual ou superior a 100ng/ul de DNA, a razão 260/280 nm entre 1.8 e 2.2 e a razão 260/230 ao redor de 2.0. Assim, feita a quantificação e todos os parâmetros atingidos, as amostras foram armazenadas em freezer a -20ºC, e o tubo com o restante da amostra do paciente, devidamente descartado.

3.5 SELEÇÃO DOS POLIMORFISMOS DE BASE ÚNICA (SNPS)

A escolha dos genes foi norteada por representarem fatores envolvidos na restrição do HIV-1. A seleção de SNPs foi realizada a partir do 1000genomes Project Browser (http://browser.1000genomes.org). Os critérios de seleção foram a frequência do alelo minoritário (MAF) ser maior que 0,10 nas populações européia, ameríndia e africana, considerando as respectivas subpopulações CEU, PUR e YRI (populações usadas como referência por refletirem o padrão miscigenado do estado), o impacto funcional dos SNPs, e além disto, sua prévia associação com a restrição do HIV-1 e de outras infecções descritas na literatura. Assim, foram previamente selecionados um SNP no gene *IFITM3*, o rs12252 e três SNPs no *BST2* – rs919266, rs919267 e rs9576. Além destes um outro polimorfismo, a deleção CCR5Δ32, que apesar de não se tratar de um SNP, também foi avaliado neste estudo.

3.6 GENOTIPAGEM

A genotipagem do *CCR5* foi feita por meio de PCR convencional seguida de análise por eletroforese em gel de agarose. As reações foram preparadas em um volume final de 25µL, sendo 1 µL de DNA genômico (25 ng/µl), 2,5 µL de buffer PCR, 0,8 µL de dNTPs, 1,0 µL de MgCl2, 0,2 µL de Taq polimerase, 0,4 µL de cada primer (10 µM) - foward 5’-GTCTTCATTACACCTGCAGCTCT-3’ e reverse 5’-CACAGCCCTGTGCCTCTT-3’ e 18,7 µL de água de injeção. A amplificação foi realizada com uma etapa inicial de desnaturação de 10 min a 95˚C, seguida de 38

ciclos de desnaturação a 95˚C a 30 seg, anelamento a 64,5˚C por 30 seg e extensão a 72˚C por 1 min; a extensão final será realizada a 72˚C por 7 min.

Para visualização dos produtos de PCR foi feito um gel de agarose a 3% e corado com brometo de etídeo. O tamanho dos *amplicons* gerados foram 185 bp para o alelo selvagem e 153 bp para o alelo com a deleção (Δ32), permitindo assim, a genotipagem de acordo com o padrão de bandas observado para cada indivíduo.

Já os genes *IFITM3* e *BST2* foram genotipados por meio da técnica de reação em cadeia da polimerase em tempo real (Real Time PCR) utilizando sondas TaqMan® alelo-específicas, na população de mães vivendo com HIV/Aids e seus respectivos filhos expostos. Para o polimorfismo rs12252 do *IFITM3* foi utilizada a sonda com código de catálogo c_175677529_10, e para os polimorfismos rs919267, rs919266 e rs9576 do *BST2,* respectivamente as sondas c_2931310_10, c_7493933_10 e c_11454228_10.

As reações foram preparadas em um volume final de 5µl e/ou 10µl, utilizando alíquotas de DNA na concentração de 50 ng/µl, e sondas para cada polimorfismo na concentração de 20x. Uma vez preparadas, a amplificação foi realizada de acordo com o seguinte protocolo: Após preparo, as reações foram amplificadas através do seguinte protocolo: 1 ciclo de desnaturação inicial a 95ºC durante 10 minutos, seguido por 50 ciclos de amplificação (desnaturação a 95 ºC por 30 segundos e anelamento/extensão a 60 ºC por 1:30 minutos), utilizando a plataforma em tempo real ABI® 7500 (Applied Byosistems), disponibilizada no Laboratório de Biologia Molecular do LIKA – UFPE. A análise dos resultados foi executada com o auxílio de softwares específicos acoplados à plataforma utilizada.

3.7 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

As frequências alélicas e genotípicas dos polimorfismos genotipados foram determinadas por contagem direta. A conformidade ao Equilíbrio de Hardy-Weinberg foi verificada por meio do teste do Qui-quadrado (X^2).

Nas análises univariadas, o teste exato de Fisher foi utilizado para verificar se houve associação entre as frequências dos polimorfismos nos genes de interesse, bem como as varíaveis clínicas categóricas envolvidas, e a susceptibilidade à transmissão vertical, na população estudada. As variáveis clínicas quantitativas foram inicialmente submetidas ao teste de Normalidade Shapiro-Wilk, no qual nenhuma

apresentou distribuição normal. Assim, para a análise de tais variáveis e a transmissão vertical do HIV-1, foi determinado o teste não-paramétrico Wilcoxon-Mann-Whitney.

A análise da formação de blocos haplotípicos e o desequilíbrio de ligação (DL) entre os três SNPs do *BST2*, foi realizada utilizando o programa Haploview versão 4.2 (*Broad Institute of Harvard and MIT Cambridge*).

Com o intuito de apresentar os resultados de forma ajustada, variáveis clínicas representativas das medidas preventivas da transmissão vertical do HIV-1 e variáveis genéticas cujos testes apresentaram um p-value menor que 0,05 foram pré-selecionadas para inclusão nas análises multivariadas de regressão logística. O modelo de regressão logística permitiu prever o risco da transmissão vertical do HIV-1, baseando-se nos fatores genéticos estudados, quando controlados pelas variáveis clínicas relacionadas às medidas preventivas.

Todas análises estatísticas, com excessão à haplotípica, foram realizadas com o programa R, versão 3.5.1. (*R Development Core Team*), com o nível de significância estatística fixado em $\alpha<0,05$ e intervalo de confiança de 95%.

4 RESULTADOS

4.1 VARIÁVEIS CLÍNICAS E EPIDEMIOLÓGICAS

Dentre grupo total de 265 pares de mães HIV-1+ e seus respectivos filhos expostos, independente da carga viral materna durante a gestação (incluindo tanto mães indetectáveis, quanto detectáveis ao longo da gestação), foi observada uma taxa de transmissão vertical geral de 36.2% (96 crianças infectadas e 169 não infectadas). Dentre as 96 crianças infectadas, 6.3% (6 crianças) foram sabidamente infectadas no pós-parto, via aleitamento materno. No entanto, considerando apenas as 143 crianças (que tiveram seus diagnósticos ao longo do período da coleta, 2014 a 2018) cuja sorologia positiva para o HIV-1 materna era conhecida, ou foi descoberta ao longo da gestação, proporcionando, um acompanhamento pré natal adequado e o uso de TARV pela gestante, esta taxa geral de transmissão vertical foi reduzida para 3.5% (quando incluída uma criança contaminada via aleitamento materno) e 2.8% (considerando apenas crianças infectadas ao longo da gestação ou no momento do parto). Porém, a partir da análise desta taxa a cada ano, foi possível observar, que neste grupo específico, a taxa de transmissão vertical do HIV-1 permanece zerada desde 2016.

Assim, desconsiderando os 6 pares onde a via de infecção foi o aleitamento materno, nos 259 pares restantes, foi possível observar que, apenas 16.6% (43 mães) apresentaram carga viral indetectável durante todo o período da gestação, porém, dentre as quais nenhuma criança foi infectada, representando 0% de transmissão vertical neste grupo. Já nos 83.4% (216 pares eleitos para compor o presente estudo), onde as mães apresentaram ao menos uma carga viral detectável durante a gestação, a taxa de transmissão vertical aumentou para 41.7%, demonstrando a relevância da carga viral materna.

Assim, estas 216 crianças expostas, filhas de mães HIV-1+ com carga viral detectável na gestação, (119 do sexo feminino e 97 do sexo masculino) foram classificadas de acordo com a sorologia para o HIV-1. Destas, 90 (48 do sexo feminino e 42 do sexo masculino) compuseram o grupo caso (expostos infectados) e 126 (71 do sexo feminino e 55 do sexo masculino) o grupo controle (expostos não infectados). Apesar da frequência de crianças do sexo feminino (55.1%) ter sido maior, isto se manteve tanto no grupo caso como no grupo controle, portando não refletindo em diferença estatisticamente significante quanto à proporção dos sexos nos grupos estudados (OR=1.13; IC-95%=0.63-2.02; p=0.679).

A idade média de entrada no sistema de atendimento no Hospital Dia diferiu estatisticamente (p<0.001), entre o grupo de crianças infectadas (11 meses) e não infectadas (um mês). A carga viral de entrada no sistema foi calculada apenas para as crianças infectadas, visto que as não infectadas apresentam carga viral indetectável, e mostrou uma média de 167859 cópias/ml.

A análise da contagem de linfócitos T CD4+ e TCD8+ foi realizada a partir da categorização em sete grupos de acordo com a idade. Isto se faz necessário devido ao número referencial destas células variarem de acordo com a faixa etária da criança. Nas crianças infectadas, foi observado um menor número médio na contagem de linfócitos TCD4+ em todas as categorias, quando comparadas às crianças não infectadas, porém esta diferença mostrou significância estatística apenas nas faixas etária de 3 a 6 meses (p=0.009) e 6 meses a 1 ano (p=0.002). Já com relação aos linfócitos TCD8+, foi observado um maior número médio na contagem destas células em crianças infectadas, quanto comparada com crianças não infectadas, também em todas as faixas etárias. No entanto somente a categoria de 3 a 6 meses apresentou diferença estatísticamente significante (p=0.018).

Outra variável que foi categorizada, esta de acordo com a escala preconizada

pela OMS, foi o peso das crianças ao nascer, onde, a categoria peso insuficiente apresentou significância estatística (OR=0.35; IC-95%=0.16-0.73; *p*=0.003). Com o intuito de substanciar esta informação, de que, no grupo estudado, as crianças infectadas, apresentaram um peso maior que as crianças não infectadas, foi realizada uma análise combinada das categorias (Baixo peso + Peso insuficiente X Peso normal + Sobrepeso) que apresentou um resultado semelhante (OR=0.40; IC-95%=0.21-0.75; *p*=0.002). Além destas, ainda foi avaliada a variável idade gestacional, que não mostrou diferença entre o grupo caso e controle estudados. A tabela 2 resume as variáveis clínicas infantis analisadas.

Tabela 2. Testes de associação com as variáveis clínicas e epidemiológicas das crianças expostas (teste Exato de Fisher, exceto para idade da criança de entrada no sistema, carga viral, contagem de células TCD4+ e contagem de células TCD8+).

(continua)

Variável		Crianças expostas			
		Infectadas n=90 (%)	**Não Infectadas n=126 (%)**	**OR [IC-95%]**	***p-value***
Sexo (n=216)	Masculino	42 (47)	55 (44)	1.13 [0.63–2.02]	0.679
	Feminino	48 (53)	71 (56)	Referência	
Idade meses (IIQ) (n=216)		11 (1-30)	1 (1-2)		**<0.001**
Carga Viral* cópias/ml (IIQ) (n=89/90)		167859 (25200-565000)	_		
Contagem de células T CD4+* células/µL (IIQ) (n=207/216)	0 a 3 meses	2114 (1813.5-2734.4)	2680 (2017.5-3402.3)		0.089
	3 a 6 meses	1900 (853-2206)	2474 (2194-3669)		0.009
	6 meses a 1 ano	1230 (608-2131)	3974 (3272.5-4250)		**0.002**
	1 a 2 anos	843 (622.2-1166.2)	2606.4 (2605.7-2607.2)		0.088
	2 a 6 anos	1000 (647.7-1463.5)	-		
	6 a 12 anos	549 (311-759.7)	-		
	12 a 18 anos	436 (421.5-450.5)	-		
Contagem de células T CD8+* células/µL (IIQ) (n=193/216)	0 a 3 meses	1081 (688.2-1877)	891.9 (699.8-1303.5)		0.140
	3 a 6 meses	1323.5 (1161.75-1735)	918 (745-1408.5)		**0.018**
	6 meses a 1 ano	2016 (1449-2481)	1323 (781.6-1397)		0.240
	1 a 2 anos	2274 (1388.7-3990.5)	1440.15 (1388.5-1503.7)		0.549

Tabela 2. Testes de associação com as variáveis clínicas e epidemiológicas das crianças expostas (teste Exato de Fisher, exceto para idade da criança de entrada no sistema, carga viral, contagem de células TCD4+ e contagem de células TCD8+).

(conclusão)

Variável		Crianças expostas		OR	*p-value*
		Infectadas	Não Infectadas		
		n=90 (%)	n=126 (%)	[IC-95%]	
Contagem de células T CD8+* células/µL (IIQ) (n=193/216)	2 a 6 anos (452.3 - 1700.5)	2458 (1235.7-2854.5)	-		
	6 a 12 anos (309.8 - 1010.6)	1346.5 (923.5-1929)	-		
	12 a 18 anos (332.0 - 774.2)	1266.5 (1117.7-1415.2)	-		
Peso ao nascer (n=210/216)	Extremo baixo peso (abaixo de 1000g)	1 (1)	0 (0)	Inf [0.03–Inf]	0.479
	Muito baixo peso (1000g - 1499g)	1 (1)	0 (0)	Inf [0.03–Inf]	0.479
	Baixo peso (1500g - 2499g)	10 (12)	16 (13)	0.69 [0.26–1.79]	0.515
	Peso insuficiente (2500g - 2999g)	14 (16)	45 (36)	0.35 [0.16–0.73]	**0.003**
	Sobrepeso (acima de 4000g)	5 (6)	2 (2)	2.75 [0.43–29.99]	0.265
	Peso normal*** (3000g - 3999g)	55 (64)	61 (49)	Referência	
Peso ao nascer combinado (n=208/216)	Baixo peso + Insuficiente (abaixo de 3000g)	24 (29)	61 (50)	0.40 [0.21–0.75]	**0.002**
	Peso Normal + Sobrepeso (acima de 3000g)	60 (71)	61 (50)	Referência	
Idade gestacional (n=121/216)	pré-termo	5 (12.5)	13 (16)	0.76 [0.20–2.51]	0.787
	pós-termo	1 (2.5)	1 (1)	1.96 [0.02–156.75]	1.000
	a termo	34 (85)	67 (83)	Referência	

*Teste de Wilcoxon-Mann-Whitney (teste de Shapiro-Wilk: p<0,001). IC = Intervalo de confiança; IIQ = intervalo interquartis; OR = Razão de chances (do inglês, *Odds Ratio*). Os dados das varíaveis idade, carga viral, contagem de TCD4+ e TCD8+ são referentes aos primeiros exames da data de diagnóstico e/ou entrada no sistema de atendimento.

Com relação às variáveis maternas, foi possível observar associação estatística significante em todas selecionadas para compor o estudo, exceto na carga viral materna nos primeiros seis meses de gestação. Assim, a idade materna média no momento do parto foi menor nas mães transmissoras (grupo caso) quando comparada as mães não transmissoras (grupo controle) (p=0.019). A carga viral materna média em cópias/ml na gestação foi maior entre as mães transmissoras (p=0.046). O

momento do diagnóstico materno do HIV-1, se ao longo do pré-natal, no momento do parto, ou somente após o nascimento da criança (pós-parto), quando comparado com mães que já tinham conhecimento prévio de sua sorologia antes do pré-natal, apresentou associação em todas as categorias. Mostrando, inclusive um aumento na chance da transmissão quanto mais tardio este diagnóstico, conforme observado nos respectivos resultados, pré-natal (OR=4.45; IC-95%=1.36-19.16), momento do parto (OR=18.45; IC-95%=5.13-86.36) e pós-parto (OR=526.75; IC-95%=64.15-16384.0).

Todas as medidas preventivas relacionadas à administração da terapia antirretroviral mostraram grande relevância, sendo a não aplicação de tal medida associada à susceptibilidade à transmissão/infecção em todos os casos, de acordo com os resultados: uso da terapia antirretroviral durante a gestação (OR=28.21; IC-95%=12.31-71.88; p<0.001), uso do AZT injetável no momento do parto (OR=8.78; IC-95%=4.44-18.00; p<0.001) e a ministração do AZT xarope ao recém-nascido (OR=209.11; IC-95%=33.38-8218.0; p<0.001). Já o parto vaginal aumentou em 3 vezes a chance da transmissão vertical, em comparação com o parto cesáreo (OR=3.06; IC-95%=1.67-5.68; p<0.001), enquanto crianças submetidas ao aleitamento materno, apresentaram 36 vezes mais chance de serem infectadas que aquelas que fizeram o uso da fórmula láctea (OR=35.90; IC-95%=12.07-145.44; p<0.001). Embora este trabalho considere a carga viral materna com base no período gestacional completo, com o intuito de avaliar em qual fase tal carga viral foi mais relevante para a transmissão vertical, este período foi categorizado em duas fases distintas. A carga viral materna nos primeiros seis meses de gestação não apresentou associação significativa (OR=1.15; IC-95%=0.26-5.72; p=1.00), enquanto apresentar carga viral detectável no último trimestre gestacional, mostrou-se crucial, aumentando em 28 vezes a chance da ocorrência da transmissão vertical do HIV-1 no grupo estudado (OR=28.69; IC-95%=4.53-1192.31; p<0.001). A tabela 3 sumariza tais variáveis maternas avaliadas.

Tabela 3. Testes de associação com as variáveis clínicas e epidemiológicas maternas (teste Exato de Fisher, exceto para idade materna no parto e carga viral materna na gestação).

Variável		Mães vivendo com HIV/Aids		OR	*p-value*
		Transmissoras n=90 (%)	Não Transmissoras n=126 (%)	[IC-95%]	
Idade materna no parto** anos (IIQ)(n=216)		23 (20-28)	25 (22-30)		**0.019**
CV materna na gestação** cópias/ml(IIQ) (n=72/216)		27369 (2241.5-175604)	1418 (167-6877)		**0.046**
Diagnóstico materno* (n=216)	pré-natal	19 (21)	57 (45)	4.45 [1.36–19.16]	**0.006**
	momento do parto	20 (22)	14 (11)	18.45 [5.13–86.36]	**<0.001**
	pós-parto	47 (52)	1 (1)	526.75 [64.15–16384]	**<0.001**
	antes do pré-natal	4 (5)	54 (43)	Referência	
TARV Gestação* (n=216)	Não	81 (90)	30 (24)	28.21 [12.31–71.88]	**<0.001**
	Sim	9 (10)	96 (76)	Referência	
TARV Parto* (n=202/216)	Não	62 (76)	31 (26)	8.78 [4.44–18.00]	**<0.001**
	Sim	20 (24)	89 (74)	Referência	
TARV Neo-Natal* (n=212/216)	Não	56 (64)	1 (1)	209.11 [33.38–8218]	**<0.001**
	Sim	32 (36)	123 (99)	Referência	
Tipo de Parto* (n=213/216)	Vaginal	48 (55)	36 (29)	3.06 [1.67–5.68]	**<0.001**
	Cesáreo	39 (45)	90 (71)	Referência	
Aleitamento Materno* (n=214/216)	Sim	48 (55)	4 (3)	35.90 [12.07–145.44]	**<0.001**
	Não	40 (45)	122 (97)	Referência	
CV materna nos primeiros 6 meses (n=208/216)	Detectável	86 (96)	112 (95)	1.15 [0.26–5.72]	1.000
	Indetectável	4 (4)	6 (5)	Referência	
CV materna no último trimestre* (n=200/216)	Detectável	87 (99)	84 (75)	28.69 [4.53–1192.31]	**<0.001**
	Indetectável	1 (1)	28 (25)	Referência	

*Variáveis pré-selecionadas para compor o modelo de regressão logística.
**Teste de Wilcoxon-Mann-Whitney (teste de Shapiro-Wilk: p<0,001). CV = carga viral; IC = Intervalo de confiança; IIQ = intervalo interquartis; OR = Razão de chances (do inglês, *Odds Ratio*); TARV = Terapia Antirretroviral.

Além da associação com a transmissão vertical, a relação entre várias destas

variáveis foi avaliada de forma independente entre si, dentre as quais, foi possível destacar algumas de maior relevância. Foi observado que 105 mães (49%) fizeram uso da terapia antirretroviral na gestação, porém, destas, somente 29 (33%) conseguiram atingir a indetectabilidade da carga viral até o último trimestre. Outra análise que envolveu o uso de tal terapia na gestação, foi sua relação com o peso das crianças ao nascer. Na análise combinada de peso foi demonstrado que crianças expostas a TARV durante a gestação tiveram 2 vezes mais chance de nascer com peso baixo ou insuficiente quando comparadas com crianças não expostas à TARV (OR=2.41; IC-95%=1.32-4.44; *p*=0.003). Este uso ou não da TARV na gestação, não foi determinado pela idade materna (*p*=0.099) e, também não influenciou o tempo gestacional, como pode ser observado na tabela 4.

Tabela 4. Testes de associação com as variáveis clínicas e exposição a TARV na gestação (teste Exato de Fisher, exceto para idade materna no momento do parto).

Variável		**Exposição a TARV na gestação**			
		Sim n=105 (%)	**Não n=111 (%)**	**OR [IC-95%]**	***p-value***
CV materna no último trimestre (n=200/216)	Detectável	60 (67)	111 (100)	0.00 [0.00–0.08]	**<0.001**
	Indetectável	29 (33)	0 (0)	Referência	
Peso ao nascer (n=210/216)	Extremo baixo peso (abaixo de 1000g)	1 (1)	0 (0)	Inf [0.03–Inf]	0.427
	Muito baixo peso (1000g - 1499g)	0 (0)	1 (1)	0.00 [0.00–54.01]	1.000
	Baixo peso (1500g - 2499g)	15 (14)	11 (10)	1.86 [0.72–4.89]	0.192
	Peso insuficiente (2500g - 2999g)	38 (37)	21 (20)	2.46 [1.23–5.00]	**0.007**
	Sobrepeso (acima de 4000g)	1 (1)	6 (6)	0.23 [0.01–1.99]	0.239
	Peso normal (3000g - 3999g)	49 (47)	67 (63)	Referência	
Peso ao nascer combinado (n=208/216)	Baixo peso + Insuficiente (abaixo de 3000g)	53 (51)	32 (30)	2.41 [1.32–4.44]	**0.003**
	Peso Normal + Sobrepeso (acima de 3000g)	50 (49)	73 (70)	Referência	
Idade gestacional (n=121/216)	pré-termo	14 (19)	4 (9)	2.28 [0.65–10.20]	0.193
	pós-termo	1 (1)	1 (2)	0.65 [0.01–52.73]	1.000
	a termo	61 (80)	40 (89)	referência	
Idade materna no parto* anos (IIQ) (n=216)		25 (22-30)	23 (20.75-29)		0.099

*Teste de Wilcoxon-Mann-Whitney (teste de Shapiro-Wilk: *p*<0,001). CV = carga viral; IC = Intervalo de confiança; IIQ = intervalo interquartis; OR = Razão de chances (do inglês, *Odds Ratio*); TARV = Terapia Antirretroviral.

4.2 VARIÁVEIS GENÉTICAS

4.2.1 Deleção CCR5Δ32

Devido ao histórico de proteção à infecção pelo HIV conferida pela deleção CCR5Δ32 em homozigose, anterior a análise genotípica dos dois genes de restrição (*IFITM3* e *BST2*), foi realizada a genotipagem desta deleção em todos os indivíduos que compunham o grupo estudado. No entanto, nenhum indivíduo homozigoto para a CCR5Δ32 foi encontrado, não necessitando, portanto, excluir nenhuma amostra das análises subsequentes.

Apesar disto, foi realizada a análise da associação entre a heterozigose para esta deleção e a transmissão vertical do HIV-1 no grupo disponível. As distribuições genotípicas da deleção CCR5Δ32 do gene CCR5 se apresentaram em conformidade com o o equilíbrio de Hardy-Weinberg nos grupos estudados, tanto nas crianças expostas quanto em suas mães vivendo com HIV/Aids.

Foram genotipados 395 indivíduos (201 crianças expostas e 194 mães vivendo com HIV/Aids) para a CCR5Δ32. Dentre as crianças, foram encontrados 7 heterozigotos, 4 delas pertencentes ao grupo de crianças infectadas (5%) e 3 não infectadas (3%). Já entre as mães, foram 9 heterozigotos, 3 mães transmissoras (4%) e 6 não transmissoras (5%). Assim, a frequência do alelo Δ32 nesta população foi de 0,020 (0,017 entre as crianças e 0,023 entre as mães).

A análise pelo teste exato de Fisher demonstrou que nesta população, nem o alelo Δ32, nem o genótipo heterozigoto da deleção CCR5Δ32, apresentaram-se estatisticamente associados com a transmissão vertical do HIV-1, em nenhum dos grupos estudados, conforme é possível observar os resultados na tabela 5 subsequente.

Tabela 5. Distribuição das frequências alélicas e genotípicas da deleção CCR5Δ32 do gene *CCR5* e teste de associação com ocorrência da transmissão vertical do HIV-1 nos grupos estudados (teste Exato de Fisher).

CCR5Δ32	Frequências		Associação Genética	
	Caso	Controle	OR [IC-95%]	*p-value*
	Crianças Expostas (201/216)			
	Infectadas n=86 (%)	Não infectadas n=115 (%)		
Alelos				
Δ32	4 (2)	3 (1)	1.80 [0.30–12.44]	0.467
Wt	168 (98)	227 (99)	Referência	
Genótipos				
wt/Δ32	4 (5)	3 (3)	1.82 [0.30–12.73]	0.464
wt/wt	82 (95)	112 (97)	Referência	
	Mães vivendo com HIV/Aids (194/210)			
	Transmissoras n=82 (%)	Não transmissoras n=112 (%)		
Alelos				
Δ32	3 (2)	6 (3)	0.68 [0.11–3.23]	0.739
Wt	161 (98)	218 (97)	Referência	
Genótipos				
wt/Δ32	3 (4)	6 (5)	0.67 [0.11–3.26]	0.736
wt/wt	79 (96)	106 (95)	Referência	

*Polimorfismo incluído nas análises de regressão logística.
IC = Intervalo de confiança; OR = Razão de chances (do inglês, *Odds Ratio*).

Além da análise alélica e genotípica, foi avaliada a associação entre os genótipos combinados dos filhos e suas respectivas mães. Esta análise também não mostrou associação significativa entre nenhuma das combinações e a transmissão vertical do HIV-1 no grupo estudado (Tabela 6).

Tabela 6. Frequências dos genótipos combinados das crianças expostas e suas respectivas mães para a deleção CCR5Δ32 do gene *CCR5* e teste de associação com ocorrência da transmissão vertical do HIV-1 nos grupos estudados (teste Exato de Fisher).

(Filhos/Mães)	Genótipo combinado CCR5Δ32 Caso n=81 (%)	Controle n=107 (%)	OR [IC-95%]	*p-value*
wt/Δ32/wt/Δ32	1 (1)	3 (3)	0,46 [0.01-5.79]	0.640
wt/Δ32/wt/wt	3 (4)	0 (0)	Inf [0.55-Inf]	0.080
wt/wt/wt/Δ32	2 (2)	2 (2)	1.36 [0.09-19.12]	1.000
wt/wt/wt/wt	75 (93)	102 (95)	Referência	

IC = Intervalo de confiança; OR = Razão de chances (do inglês, *Odds Ratio*

4.2.2 Polimorfismo rs12252 do gene *IFITM3*

As distribuições genotípicas do polimorfismo rs12252 do gene *IFITM3* se mantiveram em conformidade com o o equilíbrio de Hardy-Weinberg nos grupos estudados, tanto nas crianças expostas quanto em suas mães vivendo com HIV/Aids.

Para o rs12252, foram genotipados 392 indivíduos (198 crianças expostas e 194 mães vivendo com HIV/Aids). Dentre as crianças, foi possível observar apenas 4

homozigotas para o alelo variante, 3 infectadas (3%) e uma não infectada (1%) e 49 heterozigotas, 27 infectadas (32%) e 22 não infectadas (19%). Entre as mães, o número de homozigotas foi ainda menor, apenas duas mães, uma transmissora (1%) e uma não transmissora (1%) e 58 heterozigotas, 25 transmissoras (31%) e 33 não transmissoras (29%). Assim, a frequência do alelo variante C nesta população foi de 0,15 (0,14 entre as crianças e 0,16 entre as mães).

No grupo de crianças expostas, o alelo variante C se mostrou associado a susceptibilidade à transmissão vertical do HIV-1, onde sua presença apontou um aumento em duas vezes em a chance de a criança ser infectada (OR=2.02; IC-95%=1.11-3.75; *p*=0.020). Genótipos contendo esse alelo (C/T ou C/C) estiveram mais frequentes nos casos em comparação com os controles: 35% contra 20%, respectivamente. Este resultado pode ser visualizado nos dois modelos testados para este gene: codominante TC x TT (OR=2.00; IC-95%=1.00-4.08; *p*=0.045) e dominante TC+CC x TT (OR=2.13; IC-95%=1.07-4.26; *p*=0.023).

No grupo de mães vivendo com HIV/Aids estudado, a análise pelo teste exato de Fisher demonstrou que a presença do alelo variante C não esteve associada a transmissão vertical do HIV-1 para a criança. Assim como também nas distribuições genotípicas, não foi observada nenhuma diferença estatisticamente significativa entre os grupos de mães. A tabela 7 abaixo, resume estes resultados tanto das mães, quanto das crianças.

Tabela 7. Distribuição das frequências alélicas e genotípicas do polimorfismo rs12252 do gene *IFITM3* e teste de associação com ocorrência da transmissão vertical do HIV-1 nos grupos estudados (teste Exato de Fisher).

IFITM3	**Frequências**		**Associação Genética**	
rs12252	**Caso**	**Controle**	**OR [IC-95%]**	***p-value***
	Crianças Expostas (198/216)			
Modelos	Infectadas	Não infectadas		
	n=85 (%)	n=113 (%)		
Alélico				
C	33 (19)	24 (11)	2.02 [1.11–3.75]	**0.020**
T	137 (81)	202 (89)	Referência	
Codominante				
CC	3 (3)	1 (1)	4.86 [0.38–260.12]	0.299
TC	27 (32)	22 (19)	2.00 [1.00–4.08]	**0.045**
TT	55 (65)	90 (80)	Referência	
Dominante				
TC+CC	30 (35)	23 (20)	2.13 [1.07–4.26]	**0.023**
TT	55 (65)	90 (80)	Referência	
Recessivo				
CC	3 (4)	1 (1)	4.07 [0.32–216.73]	0.316
TC+TT	82 (96)	112 (99)	Referência	
Over-dominante				
TC	27 (32)	22 (19)	1.92 [0.95–3.90]	0.066
TT+CC	58 (68)	91 (81)	Referência	
	Mães vivendo com HIV/Aids (194/210)			
Modelos	Transmissoras	Não transmissoras		
	n=81 (%)	n=113 (%)		
Alélico				
C	27 (17)	35 (15)	1.09 [0.60–1.95]	0.779
T	135 (83)	191 (85)	Referência	
Codominante				
CC	1 (1)	1 (1)	1.43 [0.02–114.05]	1.000
TC	25 (31)	33 (29)	1.09 [0.55–2.12]	0.874
TT	55 (68)	79 (70)	Referência	
Dominante				
TC+CC	26 (32)	34 (30)	1.10 [0.56–2.12]	0.875
TT	55 (68)	79 (70)	Referência	
Recessivo				
CC	1 (1)	1 (1)	1.40 [0.02–110.76]	1.000
TC+TT	80 (99)	112 (99)	Referência	
Over-dominante				
TC	25 (31)	33 (29)	1.08 [0.55–2.10]	0.874
TT+CC	56 (69)	80 (71)	Referência	

*Polimorfismo incluído nas análises de regressão logística.
IC = Intervalo de confiança; OR = Razão de chances (do inglês, *Odds Ratio*).

Para o rs12252 do *IFITM3,* também foi avaliada a associação entre os genótipos combinados dos filhos e suas respectivas mães. Apesar da maior frequência do genótipo combinado TC/TC no grupo caso que no controle (OR=2.08; IC-95%=0.85-5.22; *p*=0.098), a análise não mostrou associação significativa entre nenhuma das combinações e a transmissão vertical do HIV-1 no grupo estudado (Tabela 8).

Tabela 8. Frequências dos genótipos combinados das crianças expostas e suas respectivas mães para o polimorfismo rs12252 do gene *IFITM3* e teste de associação com ocorrência da transmissão vertical do HIV-1 nos grupos estudados (teste Exato de Fisher).

Genótipo combinado *IFITM3* (Filhos/Mães)	Caso n=79 (%)	Controle n=105 (%)	OR [IC-95%]	*p-value*
CC / CC	1 (1)	0 (0)	Inf [0.035-Inf]	0.423
CC / TC	2 (2)	1 (1)	2.75 [0.14-166.55]	0.574
TC / CC	0 (0)	1 (1)	0.00 [0.00-55.06]	1.000
TC / TC	18 (23)	12 (11)	2.08 [0.85-5.22]	0.098
TC / TT	6 (8)	7 (7)	1.19 [0.31-4.45]	0.775
TT / TC	6 (8)	20 (19)	0.42 [0.13-1.19]	0.115
TT / TT	46 (58)	64 (61)	Referência	

IC = Intervalo de confiança; OR = Razão de chances (do inglês, *Odds Ratio*).

4.2.3 Polimorfismos do gene *BST2*

As distribuições genotípicas dos três polimorfismos do gene *BST2* analisados se apresentaram em conformidade com o o equilíbrio de Hardy-Weinberg nos grupos estudados, tanto nas crianças expostas quanto em suas mães vivendo com HIV/Aids.

No grupo de crianças expostas, para os SNPs rs919267, rs919266 e rs9576, foram genotipados respectivamente 206, 205 e 195 crianças. Dentre estas, para o rs919267 foi possível observar 11 homozigotas para o alelo variante (7 infectadas e 4 não infectadas) e 59 heterozigotas (24 infectadas e 35 não infectadas). Já para o rs919266 não foi encontrado nenhum indivíduo homozigoto para o alelo variante, somente 18 heterozigotos (9 infectados e 9 não infectados). E para o rs9576 a análise mostrou 4 indivíduos homozigotos para o alelo variante, todos infectados e 38 heterozigotos (16 infectados e 22 não infectados).

Dentre as crianças, a análise pelo teste exato de Fisher demonstrou que a presença do alelo variante em nenhum dos três SNPs esteve associada a transmissão vertical do HIV-1. Do mesmo modo que nas distribuições genotípicas, também não foi observada diferença estatisticamente significativa entre os grupos caso e controle (Tabela 9).

Tabela 9. Distribuição das frequências alélicas e genotípicas dos polimorfismos do gene *BST2* e teste de associação com ocorrência da transmissão vertical do HIV-1 nas crianças expostas estudadas (teste Exato de Fisher).

BST2 **SNPs (n)**	**Modelos**	**Crianças expostas**		**OR [IC-95%]**	***p-value***
		Infectadas	**Não Infectadas**		
		n=88 (%)	**n=118 (%)**		
	Alélico				
	T	38 (22)	43 (18)	1.24 [0.59–2.07]	0.452
	C	138 (78)	193 (82)	Referência	
	Codominante				
	TT	7 (8)	4 (3)	2.41 [0.58–11.78]	0.210
	CT	24 (27)	35 (30)	0.95 [0.48–1.85]	1.000
	CC	57 (65)	79 (67)	Referência	
	Dominante				
rs919267	CT+TT	31 (35)	39 (33)	1.10 [0.59–2.05]	0.768
(206/216)	CC	57 (65)	79 (67)	Referência	
	Recessivo				
	TT	7 (8)	4 (3)	2.45 [0.60–11.81]	0.211
	CT+CC	81 (92)	114 (97)	Referência	
	Over-dominante				
	CT	24 (27)	35 (30)	0.89 [0.46–1.71]	0.757
	CC+TT	64 (73)	83 (70)	Referência	
		n=87 (%)	**n=118 (%)**		
	A	9 (5)	9 (4)	1.37 [0.47–4.00]	0.627
rs919266	G	165 (95)	227 (96)	Referência	
(205/216)	Genótipos				
	GA	9 (10)	9 (8)	1.39 [0.47–4.17]	0.619
	GG	78 (90)	109 (92)	Referência	
		n=80 (%)	**n=115 (%)**		
	Alélico				
	A	24 (15)	22 (10)	1.66 [0.86–3.25]	0.112
	C	136 (85)	208 (90)	Referência	
	Codominante				
	AA	4 (5)	0 (0)	Inf [0.98–Inf]	0.026
	CA	16 (20)	22 (19)	1.12 [0.51–2.45]	0.853
	CC	60 (75)	93 (81)	Referência	
	Dominante				
rs9576	CA+AA	20 (25)	22 (19)	1.40 [0.67–2.96]	0.377
(195/216)	CC	60 (75)	93 (81)	Referência	
	Recessivo				
	AA	4 (5)	0 (0)	Inf [0.97–Inf]	0.027
	CA+CC	76 (95)	115 (100)	Referência	
	Over-dominante				
	CA	16 (20)	22 (19)	1.06 [0.47–2.29]	1.000
	CC+AA	64 (80)	93 (81)	Referência	

IC = Intervalo de confiança; OR = Razão de chances (do inglês, *Odds Ratio*).

Já no grupo de mães vivendo com HIV/Aids, para os SNPs rs919267, rs919266 e rs9576, foram genotipados respectivamente 203, 201 e 202 mães. Dentre estas, para o rs919267 foi possível observar 8 homozigotas para o alelo variante (6 transmissoras e 2 não transmissoras) e 69 heterozigotas (31 transmissoras e 38 não transmissoras). Já para o rs919266 não foi encontrado nenhuma homozigota para o alelo variante, somente 20 heterozigotas (15 transmissoras e 5 não transmissoras). E para o rs9576 a análise mostrou 4 homozigotas para o alelo variante (3 transmissoras

e uma não transmissora) e 42 heterozigotos (25 transmissoras e 17 não transmissoras).

Neste grupo, houve associação dos alelos variantes dos três SNPs com a susceptibilidade à transmissão vertical do HIV-1. No rs919267 a presença do alelo variante T aumentou em quase duas vezes em a chance de a criança ser infectada (OR=1.69; IC-95%=1.01-2.81; *p*=0.035), para o alelo A do rs919266, este aumento foi de 4 vezes (OR=4.57; IC-95%=1.54-16.42; *p*=0.002), enquanto o alelo variante A do rs9576, aumentou em quase 3 vezes a susceptibilidade (OR=2.70; IC-95%=1.42-5.28; *p*=0.001). A análise genotípica seguiu o mesmo direcionamento. Para o rs919267, no modelo codominante, o genótipo recessivo TT mostrou uma tendência à associação a susceptibilidade à transmissão vertical do HIV-1 (OR=5.33; IC-95%=0.90-56.08; *p*=0.053). Já no rs919266 o genótipo heterozigoto GA aumentou em cinco vezes a chance de a mãe transmitir o HIV-1 para seu filho (OR=4.94; IC-95%=1.62-18.18; *p*=0.002). Enquanto no rs9576, genótipos contendo o alelo variante A (C/A ou A/A) estiveram mais frequentes nos casos em comparação com os controles: 34% contra 15%, respectivamente. Os modelos testados, com excessão do modelo recessivo, refletem este resultado: codominante CA x CC (OR=2.76; IC-95%=1.31-5.97; *p*=0.004), dominante CA+AA x CC (OR=2.92; IC-95%=1.42-6.16; *p*=0.002) e sobredominante CA x CC+AA (OR=2.64; IC-95%=1.25-5.69; *p*=0.008). A Tabela 10 sumariza estas análises, bem como os resultados.

Tabela 10. Distribuição das frequências alélicas e genotípicas dos polimorfismos do gene *BST2* e teste de associação com ocorrência da transmissão vertical do HIV-1 nas mães vivendo com HIV/Aids estudadas (teste Exato de Fisher).

BST2 **SNPs (n)**	**Modelos**	**Mães vivendo com HIV/Aids**		**OR [IC-95%]**	***p-value***
		Transmissoras	**Não Transmissoras**		
		n=82 (%)	**n=121 (%)**		
	Alélico				
	T	43 (26)	42 (17)	1.69 [1.01–2.81]	**0.035**
	C	121 (74)	200 (83)	Referência	
	Codominante				
	TT	6 (7)	2 (2)	5.33 [0.90–56.08]	**0.053**
	CT	31 (38)	38 (31)	1.47 [0.77–2.78]	0.222
	CC	45 (55)	81 (67)	Referência	
	Dominante				
rs919267	CT+TT	37 (45)	40 (33)	1.66 [0.89–3.08]	0.105
(203/210)	CC	45 (55)	81 (67)	Referência	
	Recessivo				
	TT	6 (7)	2 (2)	4.66 [0.81–48.38]	0.063
	CT+CC	76 (93)	119 (98)	Referência	
	Over-dominante				
	CT	31 (38)	38 (31)	1.33 [0.70–2.49]	0.368
	CC+TT	51 (62)	83 (69)	Referência	
		n=83 (%)	**n=118 (%)**		
	A	15 (9)	5 (2)	4.57 [1.54–16.42]	**0.002**
rs919266	G	151 (91)	231 (98)	Referência	
(201/210)	Genótipos				
	GA	15 (18)	5 (4)	4.94 [1.62–18.18]	**0.002**
	GG	68 (82)	113 (96)	Referência	
		n=82 (%)	**n=120 (%)**		
	Alélico				
	A	31 (19)	19 (8)	2.70 [1.42–5.28]	**0.001**
	C	133 (81)	221 (92)	Referência	
	Codominante				
	AA	3 (4)	1 (1)	5.60 [0.44–299.81]	0.130
	CA	25 (30)	17 (14)	2.76 [1.31–5.97]	**0.004**
	CC	54 (66)	102 (85)	Referência	
	Dominante				
rs9576	CA+AA	28 (34)	18 (15)	2.92 [1.42–6.16]	**0.002**
(202/210)	CC	54 (66)	102 (85)	Referência	
	Recessivo				
	AA	3 (4)	1 (1)	4.48 [0.35–238.86]	0.306
	CA+CC	79 (96)	119 (99)	Referência	
	Over-dominante				
	CA	25 (30)	17 (14)	2.64 [1.25–5.69]	**0.008**
	CC+AA	57 (70)	103 (86)	Referência	

*Polimorfismo incluído nas análises de regressão logística.
IC = Intervalo de confiança; OR = Razão de chances (do inglês, *Odds Ratio*).

Os três SNPs do *BST2,* também foram avaliados quanto a associação entre os genótipos combinados dos filhos e suas respectivas mães. Para o rs919267 análise não mostrou associação significativa entre nenhuma das combinações genotípicas e a transmissão vertical do HIV-1 no grupo estudado. Já no rs919266 a combinação onde o filho é homozigoto dominante e a mãe heterozigota (GG/GA) aumentou em 6 vezes a chance de a criança ser infectada pelo HIV-1 (OR=6.09; IC-95%=1.16-60.62;

p=0.018), enquanto no rs9576 a mesma combinação (CC/CA) aumentou tal chance em 3 vezes (OR=3.28; IC-95%=1.10-10.59; *p*=0.021) (Tabela 11).

Tabela 11. Frequências dos genótipos combinados das crianças expostas e suas respectivas mães para os polimorfismos do gene *BST2* e teste de associação com ocorrência da transmissão vertical do HIV-1 nos grupos estudados (teste Exato de Fisher).

SNPs (n)	Genótipo combinado *BST2* (Filhos/Mães)	Caso	Controle	OR [IC-95%]	*p-value*
		n=83 (%)	n=117 (%)		
	TT / TT	3 (4)	1 (1)	5.11 [0.39-276.13]	0.153
	TT / CT	4 (5)	3 (2)	2.29 [0.36-16.49]	0.423
rs919267	CT / TT	4 (5)	1 (1)	6.80 [0.64-345.26]	0.072
(200/210)	CT / CT	10 (12)	19 (16)	0.91 [0.34-2.32]	1.000
	CT / CC	8 (10)	15 (13)	0.92 [0.31-2.59]	1.000
	CC / CT	17 (20)	14 (12)	2.09 [0.86-5.16]	0.095
	CC / CC	37 (44)	64 (55)	Referência	
		n=83 (%)	n=114 (%)		
	GA / GA	7 (8)	3 (3)	3.56 [0.78-22.08]	0.094
rs919266	GA / GG	1 (1)	6 (5)	0.26 [0.005-2.19]	0.252
(197/210)	GG / GA	8 (10)	2 (2)	6.09 [1.16-60.62]	**0.018**
	GG / GG	67 (81)	103 (90)	Referência	
		n=76 (%)	n=113 (%)		
	AA / AA	3 (4)	0 (0)	Inf [0.76-Inf]	0.043
	AA / CA	1 (1)	0 (0)	Inf [0.05-Inf]	0.346
rs9576	CA / AA	1 (1)	1 (1)	1.92 [0.02-153.21]	1.000
(189/210)	CA / CA	10 (13)	10 (9)	1.92 [0.66-5.58]	0.212
	CA / CC	5 (7)	10 (9)	0.97 [0.24-3.34]	1.000
	CC / CA	12 (16)	7 (6)	3.28 [1.10-10.59]	**0.021**
	CC / CC	44 (58)	85 (75)	Referência	

IC = Intervalo de confiança; OR = Razão de chances (do inglês, *Odds Ratio*).

4.2.4 Haplótipos formados pelos SNPs do *BST2*

Foi avaliado o desequilíbrio de ligação (LD) para os três SNPs do gene *BST2*, tanto no grupo de crianças expostas, quanto no grupo de mães vivendo com HIV/Aids estudados.

No grupo de crianças expostas, apenas os SNPs rs919267 e rs9576 se apresentaram em desequilíbrio (D'=0,91), conforme mostra a figura 20.

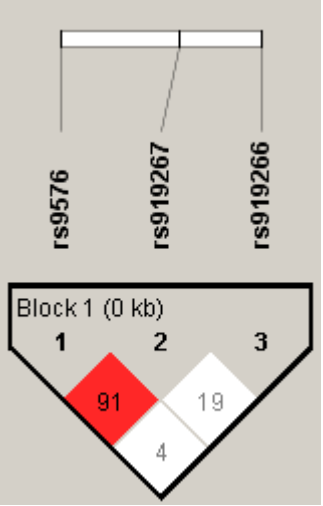

Figura 20. Mapa do desequilíbrio de ligação dos três polimorfismos do gene *BST2* no grupo de crianças expostas ao HIV-1 estudado. Mapa obtido através do software Haploview 4.2., onde os valores D '(%) são mostrados nos quadros.

Assim, foi feito o cálculo de haplótipos entre estes dois polimorfismos e foi possível observar que não houve associação estatisticamente significativa entre nenhum deles e transmissão vertical do HIV-1 (Tabela 12).

Tabela 12. Distribuição haplotípica para variantes do gene *BST2* no grupo de crianças expostas ao HIV-1 estudado (teste Exato de Fisher).

Haplótipos		**Crianças Expostas**			
rs919267	**rs9576**	**Infectadas n=154(%)**	**Não Infectadas n=204(%)**	**OR [IC95%]**	***p-value***
C	A	1 (1)	2 (1)	0.69 [0.01-13.46]	1.000
T	A	25 (16)	19 (9)	1.82 [0.91-3.67]	0.073
T	C	11 (7)	21 (10)	0.73 [0.30-1.65]	0.453
C	C	117 (76)	162 (80)	Referência	

IC = Intervalo de confiança; OR = Razão de chances (do inglês, *Odds Ratio*).

Já no grupo de mães vivendo com HIV/Aids os três polimorfismos do BST2 apresentaram desequilíbrio de ligação entre si, sendo rs9576 – rs919267 (D'=0,97), rs919267 – 919266 (D'=0,91) e rs9576 – rs919266 (D'=0,93), o que pode ser visualizado na figura 21.

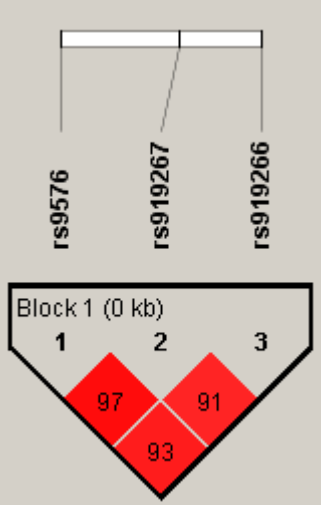

Figura 21. Mapa do desequilíbrio de ligação dos três polimorfismos do gene *BST2* no grupo de mães vivendo com HIV/Aids estudado. Mapa obtido através do software Haploview 4.2., onde os valores D '(%) são mostrados nos quadros.

Com isso foi realizada a análise de haplótipos entre estes três SNPs, o que mostrou, no grupo de mães vivendo com HIV/Aids, associação entre o haplótipo T-A-A e a susceptibilidade à transmissão vertical do HIV-1, onde a presença deste conjunto aumentou em quase quatro vezes a chance de a mãe transmitir o vírus para seu filho, quando comparado ao haplótipo C-G-C de referência (OR=3.89; IC-95%=1.24-14.46; *p*=0.010) (Tabela 13).

Tabela 13. Distribuição haplotípica para variantes do gene BST2 no grupo de mães vivendo com HIV/Aids estudado (teste Exato de Fisher).

Haplótipos			**Mães vivendo com HIV/Aids**			
rs919267	**rs919266**	**rs9576**	**Transmissoras n=162(%)**	**Não Transmissoras n=232(%)**	**OR [IC95%]**	***p-value***
T	A	C	1 (1)	0 (0)	Inf [0.04-Inf]	0.383
C	A	A	1 (1)	0 (0)	Inf [0.04-Inf]	0.383
T	A	A	12 (7)	5 (2)	3.89 [1.24-14.46]	**0.010**
T	G	A	17 (10)	14 (6)	1.97 [0.88-4.50]	0.083
T	G	C	13 (8)	21 (9)	1.01 [0.45-2.20]	1.000
C	G	C	118 (73)	192 (83)	Referência	

IC = Intervalo de confiança; OR = Razão de chances (do inglês, *Odds Ratio*).

4.3 REGRESSÃO LOGÍSTICA

Devido a importância observada da aplicação das medidas preventivas para o desfecho da transmissão vertical do HIV-1, estas variáveis foram selecionadas para juntamente com os genótipos de *IFITM3* (filhos) e *BST2* (mães) para compor o modelo de regressão logística. Tanto em todas as variáveis clínicas, quanto nos polimorfismos selecionados, foi observada associação prévia com a transmissão vertical do HIV-1

nas análises univaridas. Esta análise compreendeu 174 pares de mães e filhos (72 casos e 102 controles), na qual foi adotado o modelo dominante para os SNPs, colocando o genótipo heterozigoto de cada locus junto com o homozigoto minoritário, sendo necessário devido a ausência do genótipo homozigoto minoritário, para o SNP rs919266, no grupo estudado.

Os resultados da regressão logística mantiveram a associação significativa com a transmissão vertical do HIV-1, somente das variáveis clínicas uso da TARV durante a gestação (OR=5.34; IC-95%=1.40-20.44; *p*=0.014) e pelo recém-nascido (OR=41.96; IC-95%=1.82-965.54; *p*=0.019). A tabela 14 a seguir, apresenta as variáveis incluídas no modelo e os resultados estatísticos relacionados.

Tabela 14. Variáveis clínicas e genéticas incluídas no modelo de regressão logística para explicar a ocorrência da transmissão vertical do HIV-1 (n=174).

Variáveis	Estimativa	OR [IC-95%]	*p-value*
Diagnóstico materno	0.662	1.94 [0.53–7.05]	0.314
TARV Gestação	1.676	5.34 [1.40–20.44]	**0.014**
TARV Parto	0.021	1.02 [0.34–3.11]	0.971
TARV Neo-natal	3.737	41.96 [1.82–965.54]	**0.019**
Aleitamento materno	0.521	1.68 [0.09–31.55]	0.728
rs12252 (filhos)*	0.008	1.01 [0.31–3.29]	0.989
rs919267 (mães)*	- 0.265	0.77 [0.18–3.31]	0.723
rs919266 (mães)*	0.675	1.96 [0.19–20.06]	0.569
rs9576 (mães)*	- 0.163	0.85 [0.12–6.04]	0.871
Intercepto	-2.464	-	<0.001

IC = Intervalo de confiança; OR = Razão de chances (do inglês, *Odds Ratio*); TARV=Terapia antirretroviral. * Modelo dominante.

Para predizer a probabilidade da ocorrência da transmissão vertical do HIV-1, com e sem as variáveis de risco no modelo de regressão logística foi calculada a exponencial da soma das estimativas: intercepto, momento do diagnóstico materno, uso de TARV na gestação, uso de profilaxia antirretroviral no momento do parto, uso de profilaxia antirretroviral pelo recém-nascido, aleitamento materno, os genótipos dos filhos *IFITM3* - rs12252 e os genótipos maternos *BST2* (rs919267, rs919266, rs9576), multiplicada pela variável analisada (sendo 1 para variável de risco e 0 para a variável não risco). Este valor é dividido pela soma de 1 mais a respectiva exponencial.

Os resultados deste cálculo mostraram que, mesmo a partir de mães que apresentaram carga viral detectável em algum momento da gestação: baseando-se em uma criança hipotética do presente estudo, sem as variáveis de risco (uma criança, cuja mãe foi precocemente diagnosticada e usou TARV na gestação e no momento do parto, com uso de AZT profilático pelo período mínimo de um mês após o nascimento, não exposta ao aleitamento materno e que não possui os genótipos de

risco para o *IFITM3* e nem sua mãe para o *BST2*) a probabilidade da ocorrência da transmissão vertical do HIV-1 foi de 8%. Quando este cenário se inverte, e temos uma criança para a qual nenhuma medida preventiva foi administrada, e que tanto ela quanto sua mãe apresentam os genótipos de risco, esta probabilidade sobe para 99%.

Por fim, foi analisado o quanto os polimorfismos avaliados interferiram neste desfecho. Para tanto, hipotetizou-se uma criança na qual todas as medidas preventivas foram adotadas, mas tanto ela quanto sua mãe possuiam os genótipos de risco, e a transmissão vertical aumentou para 10%. Enquanto, outra criança onde apesar de nenhuma medida preventiva ter sido adotada, nem ela, nem sua mãe possuiam nenhum dos genótipos de risco, apresentou redução desta chance para 98%. Isto implica dizer que, possuir os genótipos de risco dos genes *IFITM3* e *BST2* avaliados no presente trabalho representou, no grupo estudado, um aumento de 1 a dois pontos percentuais na chance da ocorrência da transmissão vertical do HIV-1.

5. DISCUSSÃO

Apesar do conhecimento que a manutenção da carga viral materna indetectável é capaz de erradicar a transmissão vertical do HIV-1, ou se aproximar muito disto; o desfecho desta transmissão ainda é bastante complexo e dependente de um montante de variáveis, dificultando a efetividade desta máxima (Ministério da Saúde do Brasil, 2018c).

Assim, a análise das variáveis clínicas possibilitou a observação que dentre as mães que mantiveram a carga viral indetectável ao longo de toda a gestação, a taxa de transmissão vertical do HIV-1 foi zerada, mostrando a efetividade do tratamento antirretroviral, bem como das demais medidas preventivas na erradicação desta forma de transmissão. Resultado semelhante pode ser observado no estudo de Carey et al. 2018, onde foram analisadas 137 pares de mães vivendo com HIV/Aids e seus respectivos filhos expostos, adequadamente acompanhados, no qual 73% das mães apresentaram carga viral indetectável (< 40 cópias/ml) no momento ou próximo ao parto e em 94% dos casos este valor se manteve abaixo de 1000 cópias/ml. Neste estudo, nenhum caso de transmissão vertical do HIV-1 foi observado (Carey et al. 2018).

No entanto, dentre as 259 mães envolvidas no estudo, apenas 43 (16,6%) mantiveram esta indetectabilidade. Esta questão é ainda mais preocupante quando excluímos da análise as mães que descobriram tardiamente sua sorologia e avaliamos

somente aquelas que já conheciam sua sorologia previamente à gestação. Aqui, chegamos a conclusão que dentre estas, sabidamente portadoras do HIV e em tratamento, 59% não mantiveram sua carga viral indetectável ao longo de todo período gestacional, resultando em uma taxa de transmissão vertical de 6.8%, neste grupo. A partir da análise aprofundada dos prontúarios e do histórico de dispensa das medicações, foi possível observar que o principal responsável por tal resultado foi a falha na adesão, em mães que apesar de saberem estar gestantes, esclarecidas da importância e da eficácia do uso adequado dos antirretrovirais na erradicação da transmissão vertical, do acesso gratuito aos medicamentos, e do esforço da equipe médica no reforço da adesão, ainda assim, negligenciaram seu tratamento. E esta não é uma realidade observada apenas neste grupo estudado, o próprio Ministério da Saúde do Brasil mostra que, apesar das evidências de que o desejo da mulher de proteger a saúde de seu filho leve a melhor adesão a TARV durante a gravidez, é demostrado, no caso de gestantes sem exposição prévia aos ARV em tratamento, que apenas cerca de 70% atingem supressão viral próximo ao parto. Sendo o motivo principal, a adesão insuficiente, que costuma se agravar após o parto (Ministério da Saúde do Brasil, 2018c).

Assim, para o sucesso das políticas atuais de acompanhamento e tratamento de gestantes infectadas pelo HIV, aspectos individuais e dinâmicos que podem afetar a adesão, devem ser considerados. É imprescindível que tais pacientes, além de receber informações sobre os benefícios da TARV, lhes seja garantido espaço para a discussão dos temores sobre possíveis impactos negativos das medicações nos fetos e RN, e ainda, dentro do possível, uma maior interação com os familiares desta gestante, auxiliando no suporte psicológico também fora do ambiente hospitalar (Ministério da Saúde do Brasil, 2017b; Ministério da Saúde do Brasil, 2018c).

Outras duas varíaveis que merecem destaque são o número de linfócitos TCD4+ e TCD8+ nas crianças, onde, apesar de não ter sido observada diferença estatisticamente significante em todas as categorias é possível observar que quanto maior a idade e, portanto, mais tempo uma criança leva para dar entrada no sistema de atendimento, menor vai ficando o número de linfócitos TCD4+, ocorrendo o inverso com o número de linfócitos TCD8+, quando comparado ao grupo de crianças expostas não infectadas. O estudo de Seers et al. 2018 avaliou a correlação entre a idade de início da TARV e a razão CD4/CD8. Onde, após o início da TARV, o índice CD4/CD8 ≥1 representa a normalização no número destas células de defesa. Em 88 pacientes

avaliados, foi demonstrada uma forte correlação negativa entre a idade de início da TARV e a razão CD4/CD8 atual (rho = -0,577; P <0,01), corroborando com nossos resultados e demonstrando a importância de um diagnóstico precoce, com início o quanto antes do tratamento adequado (Seers et al. 2018).

Ainda entre as crianças expostas, outra varíavel curiosa foi o peso das crianças ao nascer, onde crianças não infectadas apresentaram menor peso quando comparadas às infectadas. O estudo de Segat et al. 2014, também avaliou o peso ao nascer em crianças expostas, não observando associação entre esta variável e a infecção pelo HIV-1 (OR=1.56; IC-95%=0.71-3.27). No entanto, tal resultado díspar pode ser relacionado, ao uso da TARV durante gestação, mais representativo entre o grupo de crianças com menor peso e não infectadas; ponto não avaliado trabalho de Segat et al. 2014, já que nenhuma das mães envolvidas em seu estudo fizeram uso de TARV durante a gestação. Nossos resultados mostraram que crianças cujas mães fizeram o uso de TARV na gestação tiveram duas vezes mais chance de nascer com peso baixo ou insuficiente, quando comparadas aquelas não expostas aos antirretrovirais (OR=2.41; IC-95%=1.32-4.44). O estudo de Wang et al. 2018, onde foi avaliada a relação entre o baixo peso ao nascer e o uso de antirretrovirais durante a gestação em 731 mães vivendo com HIV/Aids e seus respectivos filhos, corrobora com estes resultados. Neste trabalho o uso da TARV anterior à concepção ou seu início no primeiro trimestre de gestação também aumentou em praticamente duas vezes a chance de a criança nascer abaixo do peso (OR=1.92; p=0.026) (Wang et al. 2018).

A partir das análises estatísticas, foi possível comprovar a relevância das variáveis maternas envolvidas no estudo, principalmente das medidas preventivas, na erradicação da transmissão vertical do HIV-1, destacando a importância da carga viral materna, no contexto da transmissão vertical do HIV-1, fundamentalmente no último trimestre. O estudo de Sripan et al., realizado em 2015, corrobora com tais observações. Neste trabalho, exames de PCR em fetos abortados mostraram que praticamente não existe transmissão no 1° trimestre de gestação, enquanto a transmissão no 2° trimestre, medida através de amniocentese, também é rara. Porém, no 3° trimestre, com a significativa redução da integridade vascular da placenta, é onde ocorrem a maior parte das infecções, poucas semanas antes do parto ou no momento do parto (Sripan et al. 2015). Assim, é possível sugerir um olhar ainda mais acurado para este período em gestantes vivendo com HIV/Aids, por parte das políticas

públicas e das equipes médicas, com talvez um aumento no número de consultas e no número de exames de carga viral realizados neste período, com cursos e encontros regulares de gestantes envolvendo as gestantes HIV-1 e seus familiares, coordenados pelas equipes de saúde onde as experiências e receios possam ser compartilhadas e o reforço da adesão seja enfatizado. Ou seja, um acompanhamento ainda próximo desta gestante no último trimestre de gestação, já que o futuro da criança que está sendo gerada, muito provavelmente dependerá deste período crucial. O estudo desenvolvido na Itália, envolvendo 6503 mães vivendo com HIV/Aids e seus respectivos filhos expostos, abrangendo o período de 1996 – 2016, demostrou que a implementação de medidas preventivas, cada vez mais efetivas, com o adequado acompanhamento da gestante vivendo com HIV/Aids, resultou em uma significativa queda da transmissão vertical do HIV-1 ao longo destes anos. Em crianças acompanhadas desde o nascimento, a taxa de transmissão vertical do HIV-1 foi de 3.5% (96/2783) em 1996-2003, 1.4% (36/2480) em 2004-2010, reduzindo para 1.1% (9/835) em 2011-2016. Demonstrando, inclusive, neste último período (2011-2016), que em mães com carga viral indetectável no último trimestre de gestação, a taxa de transmissão foi zerada (Chiappini et al. 2018).

Com relação às variáveis genéticas avaliadas, em nosso estudo, a deleção CCR5Δ32 em heterozigose não se mostrou associada à transmissão vertical do HIV-1. Resultado que corrobora com vários estudos onde tal associação foi avaliada, porém também não foi encontrada. Em 2003, Contopoulos-Ioannidis et al., realizaram uma metanálise que avaliou tal associação. Este estudo reuniu 11 artigos, totalizando 3861 crianças utilizadas na análise, e não foi encontrada associação significativa (OR=1.04; IC-95%=0.92-1.17), mesmo ao estratificarem este grupo de crianças e analisarem somente descendentes europeus, onde este alelo é mais prevalente (OR=1.03; IC-95%=0.90-1.17). Em estudos posteriores, como de Souza et al. 2006, também não foi observada associação com a transmissão vertical quando comparadas crianças expostas infectadas e não infectadas (OR=1.13; IC-95%=0.21-7.50). Porém muitos trabalhos, dentre eles outra metanálise de 2001, que avaliaram esta deleção em grupos de crianças infectadas pelo HIV-1 reportaram, a associação da heterozigose com a progressão mais lenta da infecção (Ioannidis et al. 2001). No entanto, uma metanálise recente, porém envolvendo a susceptibilidade a infecção pelo HIV-1 em indivíduos adultos, relatou um efeito protetor do genótipo heterozigoto

(OR=0.71; IC-95%=0.54-0.94), quanto estratificaram a análise somente para indivíduos infectados e expostos não infectados (Ni et al. 2018).

Já para o polimorfismo rs12252 avaliado no gene *IFITM3*, ao redirecionar a proteína IFITM3Δ21 unicamente para a membrana celular, era esperada uma maior restrição à infecção pelo HIV-1. No entanto isto ainda é bastante controverso, já que não está claro se a proteína mutada (com a ausência de sua porção N-terminal), apesar de presente na superfície celular, manteria sua funcionabilidade na restrição ao HIV-1. Embora alguns trabalhos tenham demostrado *in vitro* que a IFITM3Δ21 foi mais eficiente na restrição a entrada do HIV-1 na célula (Jia et al. 2012), inclusive sendo mais abundantemente incorporadas às partículas virais nascentes (Compton et al. 2016) que a sua forma selvagem IFITM-3; o único estudo que analisou este polimorfismo em uma coorte de PVHA, apontou o inverso (Zhang et al. 2015).

Tal estudo, apesar de não encontrar associação com a susceptibilidade à infecção pelo HIV-1, demonstrou que o alelo rs12252-C afeta a progressão desta infecção, onde pacientes portadores deste alelo, apresentaram uma progressão mais rápida da doença (OR=3.78; IC-95%=1.47-9.72), corroborando, em partes, com o nosso resultado. No entanto, este estudo confrontou pacientes HIV-1 positivos contra controles saudáveis (apesar de pertencerem a um grupo tido como de risco - HSH, isto não os caracterizaria como necessariamente expostos), e não com controles saudáveis sabidamente expostos, como em nosso trabalho. Este pode ser o motivo de não ter sido encontrada associação com a susceptibilidade, somente com a progressão. Os autores, demonstraram ainda, que pacientes que apresentavam os genótipos de risco CC/CT exibiram um pico de viremia mais elevado e uma contagem de células TCD4 mais baixa, além de um maior risco ao rápido declínio da contagem destas células TCD4 a níveis menores que 350 células/ml, quando comparados aos indivíduos controles (Zhang et al. 2015).

Outra explicação para os resultados encontrados por nosso estudo poderia ser baseada no achado de Compton et al. 2014, onde observaram que a proteína IFITM-1 que naturalmente não possui a porção N-terminal observada na IFITM-3, assemelhando-se a IFITM3Δ21, restringe apenas modestamente a infectividade do HIV-1, quando comparada a IFITM-3. Assim, é possível que por algum mecanismo ainda desconhecido, somente o fato de estar presente na membrana plasmática não seja suficiente para restringir o HIV-1, sendo necessária a porção N-terminal para que tal restrição seja efetiva (Compton et al. 2014).

No gene *BST2*, algumas variantes já foram estudadas quanto à sua influência na susceptibilidade à infecção pelo HIV-1, principalmente polimorfismos localizados na região promotora, como é o caso dos estudos de Laplana et al. 2013, que investigou uma coorte espanhola e Hancock et al. 2015, uma norte-americana. Laplana et al. 2013 analisaram duas variantes relacionadas a expressão do *BST2* (a indel rs32173118 e sua tag SNP rs10415893), onde ambas foram associadas com a progressão da doença. Já o estudo de Hancock et al. 2015 avaliou dois polimorfismos no *BST2* (rs113189798 e rs12609479), associados respectivamente ao aumento e à diminuição do risco da infecção pelo HIV-1, onde o alelo variante do segundo SNP (rs12609479A) aumenta a expressão do *BST2*. O rs12609479, presente na região promotora, apresenta desequilíbrio de ligação com os três SNPs avaliados pelo nosso estudo no gene *BST2*, enquanto o tag SNP 10415893, da região 3'UTR, está em desequilíbrio com o rs919267. Apesar do papel funcional dos SNPs selecionados pelo nosso estudo ainda não ter sido demonstrado, estes dados sugerem que eles podem estar envolvidos na expressão do *BST2*.

Assim, os três polimorfismos investigados neste estudo apresentaram associação com a susceptibilidade à transmissão vertical do HIV-1, mostrando que a presença do alelo variante nas mães vivendo com HIV/Aids favoreceu a transmissão. No estudo de Kamada et al. 2016, único trabalho que avaliou estes mesmos polimorfismos no *BST2*, foram analisadas uma coorte africana de transmissão vertical, e duas de progressão da infecção pelo HIV-1 (uma de adultos brasileiros e uma italiana de crianças). Como resultados encontraram que o alelo rs9576A foi associado com a proteção à infecção pelo HIV-1 durante a amamentação (OR=0.32; IC-95%=0.11-0.90), e que indivíduos que carregavam ou o alelo rs919266A, ou o genótipo rs919266GA, mostraram uma progressão mais lenta à aids na coorte brasileira de adultos, respectivamente (OR=0,17; IC-95%=0.02-1.00) e (OR=0,14; IC-95%=0.02-0.87). Resultados parcialmente contrários ao que foi obtido em nosso estudo, onde tanto o alelo rs9576A, quanto o alelo rs919266A e o genótipo rs919266GA foram associados ao aumento na chance da ocorrência da transmissão vertival do HIV-1.

A análise de Regressão Logística demonstrou, no grupo de pacientes avaliados, que a probabilidade da ocorrência da transmissão vertical sofreu um aumento de 91 pontos percentuais, quando comparamos uma criança onde todas as medidas preventivas foram adotadas, sem os genótipos de risco para o rs12252 do

IFITM3 e cuja mãe não apresente os genótipos de risco para os polimorfismos estudados no *BST2*, com uma criança onde estes fatores de risco não estão presentes.

Em resumo, os presentes resultados demonstram a relevância das medidas preventivas e apontam que a presença de genótipos de risco dos genes *IFITM3*-Filhos (contendo o alelo C) e *BST-2*-Mães (contendo os alelos rs919267T, rs919266A e rs9576A), estão associados com uma maior probabilidade da transmissão vertical do HIV-1. Assim, a análise de regressão logística obtida poderia ser utilizada, em conjunto com resultados de outros fatores de retrição que venham a ser estudados pelo grupo, para ajudar a predizer, com base em fatores genéticos maternos, quais crianças estariam mais susceptíveis à ocorrência da transmissão vertical, em grupos semelhantes ao avaliado neste trabalho.

No entanto, mais estudos são necessários, principalmente para validar os resultados obtidos, preferencialmente com grupos maiores de pacientes que possibilitem restringir como detectáveis apenas as mães com carga viral detectável no último trimestre. Além disso, outros genes de fatores de restrição e suas variantes que atuem no resultado final da transmissão vertical do HIV-1 poderiam ser incluídos no modelo de regressão logística, o que refinaria seu poder preditivo.

6. CONCLUSÕES

- A aplicação do conjunto de medidas preventivas, principalmente o uso da TARV pelas mães ao longo da gestação, em especial no último trimestre, foi crucial para o desfecho da transmissão vertical do HIV-1. Certificando, em conjunto com os resultados obtidos a partir da análise dos prontuários médicos, a relevância da manutenção da carga viral materna indetectável, principalmente no período mais próximo ao parto.
- A deleção CCR5Δ32 em heterozigose não influenciou na transmissão vertical do HIV-1, no grupo estudado.
- O polimorfismo rs12252 do *IFITM3,* foi associado com a susceptibilidade à transmissão vertical do HIV-1, no grupo de crianças expostas.
- Os três polimorfismos (rs919266, rs919267 e rs9576) do *BST2* no grupo de mães vivendo com HIV/Aids, apresentaram associação com a susceptibilidade à transmissão do HIV-1.
- Apesar das limitações, o presente estudo permitiu entender melhor os fatores de restrição IFITM-3 e Teterina, bem como os mecanismos envolvidos na transmissão vertical do HIV-1. Podendo contribuir para futuras pesquisas que objetivem elucidar melhor a função destes polimorfismos, ainda pouco estudados no contexto do HIV.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABBAS, A. K.; LICHTMAN, A. H.; PILLAI, S. Properties and overview of immune responses. **Cellular and Molecular Immunology.** 9th ed. Philadelphia, PA: Elsevier, 2018.

ABU-RADDAD, L. J. Role of acute HIV infection in driving HIV transmission: implications for HIV treatment as prevention. **PLoS medicine**, v. 12, n. 3, p. 1001803, 2015.

AL-HUSAINI, A. M. Role of placenta in the vertical transmission of human immunodeficiency virus. **Journal of Perinatology**, v.5, n. 29, p. 331, 2009.

ALLERS K, Hütter G, HOFMANN J, LODDENKEMPER C, RIEGER K, THIEL E, et al. Evidence for the cure of HIV infection by CCR5Δ32/Δ32 stem cell transplantation. **Blood**, v. 10, n. 117, p. 2791-2799, 2011.

AMINI-BAVIL-OLYAEE, S., CHOI, Y. J., LEE, J. H., SHI, M., HUANG, I. C., FARZAN, M., & JUNG, J. U. The antiviral effector IFITM3 disrupts intracellular cholesterol homeostasis to block viral entry. **Cell host & microbe**, v.4, n. 13, p. 452-464, 2013.

AN, P. WINKLER, C. A. Host genes associated with HIV/AIDS: advances in gene discovery. **Trends in genetics**, v.3, n. 26, p. 119-131, 2010.

ARIAS, J. F.; IWABU, Y. TOKUNAGA, K. Structural basis for the antiviral activity of BST-2/tetherin and its viral antagonism. **Frontiers in microbiology**, v. 2, p. 250, 2011.

BAGGALEY R.F, WHITE R.G; BOILY M.C. Systematic review of orogenital HIV 1 transmission probabilities. **Int J Epidemiol**, n. 37 p. 1255–1265, 2008.

BAILEY, C. C., HUANG, I. C., KAM, C., & FARZAN, M. Ifitm3 limits the severity of acute influenza in mice. **PLoS pathogens**, v. 8, n. 9, 2012.

BAILEY, C. C., KONDUR, H. R., HUANG, I. C., & FARZAN, M. Interferon-induced transmembrane protein 3 is a type II transmembrane protein. **Journal of Biological Chemistry**, v. 288, n.45, p. 32184-32193, 2013.

BAILEY, C. C., ZHONG, G., HUANG, I. C., & FARZAN, M. "IFITM-family proteins: the cell's first line of antiviral defense." **Annual review of virology**, v. 1, p. 261, 2014.

BARMANIA, F. PEPPER, M. S. CC chemokine receptor type five (CCR5): an emerging target for the control of HIV infection. **Applied & translational genomics**, v. 2, p. 3-16, 2013.

BARRE-SINOUSSI F, CHERMANN J.C, Rey F, NUGEYRE M.T, Chamaret S, Gruest J, Dauguet C, Axler-Blin C, Vézinet-Brun F, Rouzioux C et al. Isolation of a T-lymphotropic retrovirus from a patient at risk for acquired immune deficiency syndrome (AIDS). **Science**, n. 220, p. 868–871, 1983.

BARRÉ-SINOUSSI, F. ROSS, A. L. DELFRAISSY, J. F. Past, present and future: 30 years of HIV research. **Nature Reviews Microbiology**, v. 11, n. 12, p. 877-883, 2013.

BARRETT J.C, FRY B, MALLER J, DALY M.J. HAPLOVIEW. Analysis and visualization of LD and haplotype maps. **Bioinformatics**, v. 21, p. 263–5, 2005.

BAUMANN J.G. Intracellular restriction factors in mammalian cells-An ancient defense system finds a modern foe. **Current HIV research**, v. 4, p. 141–68, 2008.

BLASIUS, A. L., GIURISATO, E., CELLA, M., SCHREIBER, R. D., SHAW, A. S., & COLONNA, M. Bone marrow stromal cell antigen 2 is a specific marker of type I IFN-producing cells in the naive mouse, but a promiscuous cell surface antigen following IFN stimulation. **The Journal of Immunology**, v. 177, n. 5, p. 3260-3265, 2006.

BOLDT, A. B., CULPI, L. TSUNETO, L. T., SOUZA, I. R., KUN, J. F., & PETZL-ERLER, M. L. Analysis of the CCR5 gene coding region diversity in five South American populations reveals two new nonsynonymous alleles in Amerindians and high CCR5*D32 frequency in Euro-Brazilians. **Genetics And Molecular Biology**, v. 1, n. 32, p.12-19, 2009.

BRASIL, Ministério da Saúde. Hiv/Aids. Boletim Epidemiológico, v. 1, n. 95, 2015.

BRASIL, Ministério da Saúde. Hiv/Aids. Boletim Epidemiológico, v.1, n. 60, 2017a.

BRASIL, Ministério da Saúde. Hiv/Aids. Secretaria de Vigilância em Saúde - Boletim Epidemiológico, v. 1, n. 72, 2018b.

BRASIL, Ministério da Saúde. Manual Técnico para diagnóstico da infecção pelo HIV em adultos e crianças. 4ªed, v.1, n. 131, 2017d.

BRASIL, Ministério da Saúde. Protocolo Clínico de Tratamento de Adultos com HIV e Aids, v. 67, 2013.

BRASIL, Ministério da Saúde. Protocolo clínico e diretrizes terapêuticas para Manejo da infecção pelo HIV em crianças e adolescentes, v. 1, n. 220, 2017b.

BRASIL, Ministério da Saúde. Protocolo clínico e diretrizes terapêuticas para Prevenção da transmissão vertical de hiv, sífilis e hepatites virais 1–252, 2018c.

BRASIL, Ministério da Saúde. Relatório do monitoramento clínico do HIV, v. 1, n. 142, 2018a.

BRASS, A. L., HUANG, I. C., BENITA, Y., JOHN, S. P., KRISHNAN, M. N., FEELEY, E. M., ... & ADAMS, D. J. The IFITM proteins mediate cellular resistance to influenza A H1N1 virus, West Nile virus, and dengue virus. **Cell**, v. 7, n. 139, p. 1243-1254, 2009.

BROOK, I. Approval of zidovudine (AZT) for acquired immunodeficiency syndrome: a challenge to the medical and pharmaceutical communities. **Jama**, v. 11, n. 258, p. 1517-1517, 1987.

BROOMFIELD, R. A quasi-experimental research to investigate the retention of basic cardiopulmonary resuscitation skills and knowledge by qualified nurses following a course in professional development. **Journal of Advanced Nursing**, v. 23, n. 5, p.1016-1023, 1996.

BROWN, T. T.; JERNIGAN, T. L. Brain development during the preschool years. **Neuropsychology review**, v. 22, n. 4 p. 313-333, 2012.

CAMPBELL E.M., HOPE T.J. HIV-1 capsid: the multifaceted key player in HIV 1 infection. **Nat Rev Microbiol**, v. 13, p. 471–483, 2015.

CAREY, L., DESOUZA, C., MOORCROFT, A., & ELGALIB, A. Pregnancy outcomes of women with HIV in a district general hospital in the UK. **Journal of Obstetrics and Gynaecology,** v. 38, n. 6, p. 777-780, 2018.

CARRINGTON, M., DEAN, M., MARTIN, M. P., & O'BRIEN, S. J. Genetics of HIV-1 infection: chemokine receptor CCR5 polymorphism and its consequences. **Human molecular genetics**, v. 8*,* n. 10, p. 1939-1945, 1999.

CARTER C., EHRLICH L.S. Cell biology of HIV-1 infection of macrophages. **Annu Rev Microbiol,** n. 62, p. 425-443, 2008.

CARVALHAES, F. A. D. P. L., CARDOSO, G. L., VALLINOTO, A. C. R., MACHADO, L. F., ISHAK, M. D. O. G., ISHAK, R., & GUERREIRO, J. F. Frequencies of CCR5-D32, CCR2-64I and SDF1-3'A mutations in Human Immunodeficiency Virus (HIV) seropositive subjects and seronegative individuals from the state of Pará in Brazilian Amazonia. **Genetics And Molecular Biology**, v. 28, n. 4, p.665-669, 2005.

CARVALHO, M. W., LEBOUTE, A. P., OLIVEIRA, S. F., SOUSA, S., KLAUTAU-GUIMARÃES, M. D. N., & SIMÕES, A. L. CCR5D32 mutation in three Brazilian populations of predominantly Sub-Saharan African ancestry. **Genetics and Molecular Biology**, v. 27, n. 3, p. 321-325, 2004.

CASE, K. Nomenclature: human immunodeficiency virus. **Annals of internal medicine**, v. 105, n. 1, p. 133-133, 1986.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL, et al. Pneumocystis pneumonia Los Angeles. **MMWR**, n.30, p. 250-252, 1981.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL, et al. Update on acquired immune deficiency syndrome (AIDS)--United States. **MMWR. Morbidity and mortality weekly report**, n. 507, p. 31-37, 1982.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL. International Notes Acquired Immunodeficiency Syndrome (AIDS) - Europe Morb Mortal Wkly Rep, n. 32, p. 610-611, 1983.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL. Update to Interim Guidance for Preexposure Prophylaxis (PrEP) for the Prevention of HIV Infection: PrEP for Injecting Drug Users. **Morb Mortal Wkly Rep**. n. 62, v.23, p. 463-465, 2013.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL., PREVENTION. Zidovudine for the prevention of HIV transmission from mother to infant, 1994.

CHANG C.C, CRANE M, Z. J, MINA M, POST J.J, CAMERON B.A, LLOYD A.R, JAWOROWSKI A, FRENCH M.A. LEWIN S.R. HIV and co-infections. **Immunol Rev 254**, p. 114–142, 2013.

CHARURAT M, DATONG P, MATAWAL B, AJENE A, BLATTNER W., ABIMIKU A. Timing and determinants of mother-to-child transmission of HIV in Nigeria. **Int J Gynecol Obstet**, n. 13, p.106-108, 2009.

CHESARINO, N. M., COMPTON, A. A., MCMICHAEL, T. M., KENNEY, A. D., ZHANG, L., SOEWARNA, V., ... & Yount, J. S. IFITM3 requires an amphipathic helix for antiviral activity. **EMBO reports**, v. 18, n. 10, p. 1740-1751, 2017.

CHESARINO, N. M., MCMICHAEL, T. M., HACH, J. C., & YOUNT, J. S. Phosphorylation of the antiviral protein interferon-inducible transmembrane protein 3 (IFITM3) dually regulates its endocytosis and ubiquitination. **Journal of Biological Chemistry**, v. 289, n. 17, p. 11986-11992, 2014.

CHESARINO, N. M.; MCMICHAEL, T. M.; YOUNT, J. S. Regulation of the trafficking and antiviral activity of IFITM3 by post-translational modifications. **Future microbiology**, v. 9, n. 10, p. 1151-1163, 2014.

CHESARINO, NICHOLAS M.; MCMICHAEL, TEMET M.; YOUNT, JACOB S. E3 ubiquitin ligase NEDD4 promotes influenza virus infection by decreasing levels of the antiviral protein IFITM3. **PLoS pathogens,** v. 11, n. 8, 2015.

CHIAPPINI, E., GALLI, L., LISI, C., GABIANO, C., ESPOSITO, S., GIACOMET, V., ... & BUFFOLANO, W. Strategies for Prevention of Mother-to-Child Transmission Adopted in the “Real-World” Setting: Data From the Italian Register for HIV-1 Infection in Children. **JAIDS Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes**, v. 79, n.1, p. 54-61, 2018.

CHOUGRANI, I. et al. Safety of protease inhibitors in HIV-infected pregnant women. **HIV/AIDS** *(*Auckland, NZ*)*, n. 5, p. 253, 2013.

CHUN, H. M., CARPENTER, R. J., MACALINO, G. E., & CRUM-CIANFLONE, N. F. The role of sexually transmitted infections in HIV-1 progression: A comprehensive review of the literature. **Journal of sexually transmitted diseases**, 2013.

CHUTIWITOONCHAI, N. et al. Characteristics of IFITM, the newly identified IFN-inducible anti-HIV-1 family proteins. **Microbes and infection**, v. 15, n.15, p. 280–290, 2013.

COHEN MS, CHEN YQ, MCCAULEY M, et al. Prevention of HIV-1 infection with early antiretroviral therapy. **N Engl J Med**, v. 365, n. 6, p. 493–505, 2011.

COMPTON, A. A., et al. "IFITM proteins incorporated into HIV-1 virions impair viral fusion and spread." **Cell host & microbe***,* v. 16, n. 6, p. 736-747, 2014.

COMPTON, A. A., et al. "Natural mutations in IFITM3 modulate post-translational regulation and toggle antiviral specificity." **EMBO reports,** 2016.

CONNOR E.M, SPERLING R.S, GELBER R, KISELEV P, SCOTT G, O'SULLIVAN M.J, et al. Pediatric AIDS Clinical Trials Group Protocol 076 Study Group. Reduction of maternal-infant transmission of human immunodeficiency virus type 1 with zidovudine treatment. **N Engl J Med**, v. 331, n. 18, p. 1173–1180, 1994.

CONTOPOULOS-IOANNIDIS D.G, O'BRIEN T.R, GOEDERT J.J, ROSENBERG P.S, IOANNIDIS J.P. Effect of CCR5-delta32 heterozygosity on the risk of perinatal HIV-1 infection: a meta-analysis. **J Acquir Immune Defic Syndr**, n. 32, p. 70–76, 2003.

DE COCK K.M. Epidemiology and the emergence of human immunodeficiency virus and acquired immune deficiency syndrome. **Philosophical Transactions of the Royal Society B**, v. 356, n. 1410, p. 795–798, 2001.

DE SOUZA P.R., ARRAES L.C., DE LIMA FILHO J.L., BRUNESKA D., MILANESE M., CROVELLA S. CCR5 promoter polymorphisms and HIV-1 perinatal transmission in Brazillian children. **Journal of Reproductive Immunology**, n. 69, p. 77-84, 2006.

DEAN M, CARRINGTON M, WINKLER C, HUTTLEY G.A, SMITH M.W, ALLIKMETS R, GOEDERT J.J, BUCHBINDER S.P, VITTINGHOFF E, GOMPERTS E, DONFIELD S, VLAHOV D, KASLOW R, SAAH A, RINALDO C, DETELS R, O'BRIEN S.J. Genetic restriction of HIV-1 infection and progression to AIDS by a deletion allele of the CKR5 structural gene. **Science**, v. 273, n. 5283, p. 1856-62, 1996.

DERDEYN C., SILVESTRI G. Viral and host factors in the pathogenesis of HIV infection. **Current opinion in immunology**, n. 17, p. 366–73, 2005.

DESAI T.M, MARIN M, CHIN C.R, SAVIDIS G, BRASS A.L, MELIKYAN G.B. IFITM3 restricts influenza a virus entry by blocking the formation of fusion pores following virus-endosome hemifusion. **PLoS Pathog**, n. 10, 2014.

DOMINGUES R.M.S.M, SARACENI V, LEAL M DO C. Mother to child transmission of HIV in Brazil: Data from the "Birth in Brazil study", a national hospital-based study. Nixon DF, ed. **PLoS ONE**, n. 13, v.2, 2018.

DOUEK, DANIEL C. et al. HIV preferentially infects HIV-specific CD4+ T cells. **Nature, Maryland**, v. 417, n. 4, p.95-98, 2002.

DOUGLAS, J.L.; VISWANATHAN, K.; MCCARROLL, M.N.; GUSTIN, J.K.; FRUH, K. MOSES, A.V. Vpu directs the degradation of the human immunodeficiency virus restriction fator BST2/Tetherin via a beta TrCP-dependent mechanism**. J. Virol**., n. 83, p. 7931–7947, 2009.

DUBE, M., ROY, B.B., GUIOT-GUILLAIN, P., BINETTE, J., MERCIER, J., CHIASSON, A.; COHEN, E.A. Antagonism of tetherin restriction of HIV-1 release by Vpu involves binding and sequestration of the restriction factor in a perinuclear compartment. **PLoS Pathog**, 2010.

EVANS, D. T., SERRA-MORENO, R., SINGH, R. K., GUATELLI, J. C. BST-2/tetherin: a new component of the innate immune response to enveloped viruses. **Trends in microbiology**, v. 18, n.9, p. 388-396, 2010.

EVERITT, A. R., CLARE, S., PERTEL, T., JOHN, S. P., WASH, R. S., SMITH, S. E., ... WISE, H. M. IFITM3 restricts the morbidity and mortality associated with influenza. **Nature**, v. 484, n.7395, p. 519, 2012.

FALCON, A., CUEVAS, M. T., RODRIGUEZ-FRANDSEN, A., REYES, N., POZO, F., MORENO, S., ... & CASAS, I. CCR5 deficiency predisposes to fatal outcome in influenza virus infection. **Journal of General Virology**, v. 96, n.8, p. 2074-2078, 2015.
FANALES-BELASIO, E., RAIMONDO, M., SULIGOI, B., BUTTÒ, S. HIV virology and pathogenetic mechanisms of infection: a brief overview. **Annali dell'Istituto superiore di sanita**, n. 46, p. 5-14, 2010.

FENG, Y., BAIG, T. T., LOVE, R. P., CHELICO, L. Suppression of APOBEC3-mediated restriction of HIV-1 by Vif. **Frontiers in microbiology**, v. 5, p. 450, 2014.

FOLEY, B. T., KORBER, B. T. M., LEITNER, T. K., APETREI, C., HAHN, B., MIZRACHI, I., ... WOLINSKY, S. HIV sequence compendium. Los Alamos National Lab.(LANL), Los Alamos, NM (United States), 2017.

FORBES, J. C., ALIMENTI, A. M., SINGER, J., BROPHY, J. C., BITNUN, A., SAMSON, L. M., Read, S. E. Canadian Pediatric AIDS Research Group (CPARG). A national review of vertical HIV transmission. **AIDS**, v. *26*, n.6, p. 757-63, 2012.

FORRESTER, J. W. System dynamics—a personal view of the first fifty years. **System Dynamics Review: The Journal of the System Dynamics Society**, v. *23*, n. 2-3, p. 345-358, 2007.

FRAZER, K. A., MURRAY, S. S., SCHORK, N. J., & TOPOL, E. J. Human genetic variation and its contribution to complex traits. **Nature Reviews Genetics**, v. 10, n.4, p. 241, 2009.

FREDRICKSON, B. L. The broaden–and–build theory of positive emotions**. Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences**, v. 359, n. 1449, p. 1367-1377, 2004.

FREED, E. O. HIV-1 assembly, release and maturation. **Nature Reviews Microbiology**, v. 13, n.8, p. 484-496, 2015.

GALLO, R. C., SALAHUDDIN, S. Z., POPOVIC, M., SHEARER, G. M., KAPLAN, M., HAYNES, B. F., SAFAI, B. Frequent detection and isolation of cytopathic retroviruses (HTLV-III) from patients with AIDS and at risk for AIDS. **Science**, v. 224, n.4648, p. 500-503, 1984.

GANSER-PORNILLOS, B. K., YEAGER, M., SUNDQUIST, W. I. The structural biology of HIV assembly. **Current opinion in structural biology**, v. 18, n.2, p. 203-217, 2008.
GAO, F., BAILES, E., ROBERTSON, D. L., CHEN, Y., RODENBURG, C. M., MICHAEL, S. F ... SHARP, P. M. Origin of HIV-1 in the chimpanzee Pan troglodytes troglodytes. **Nature**, v. 397, n. 6718, p. 436, 1999.

GATELL, J.M. Antiretroviral therapy for HIV: Do subtypes matter? **Clin Infect Dis** v. 53, p. 1153–1155, 2011.

GOTTLIEB, M. S., GROOPMAN, J. E., WEINSTEIN, W. M., FAHEY, J. L., & DETELS, R. The acquired immunodeficiency syndrome. **Annals of internal medicine**, v. 99, n.2, p. 208-220, 1983.

GRINGHUIS S.I., VAN DER VLIST M., VAN DEN BERG L.M., DEN DUNNEN J., LITJENS M., GEIJTENBEEK T.B. HIV-1 exploits innate signaling by TLR8 and DC-SIGN for productive infection of dendritic cells. **Nat Immunol**, v.11, p. 419–426, 2010.

GROTTO, R.M.T., PARDINI, M. I. M. C. Biologia molecular do HIV-1 e genética da resistência humana à AIDS. **Arq Ciênc Saúde**, Botucatu, v. 13, n. 3, p.61-64, 2006.

GUHA D., AYYAVOO V. Innate immune evasion strategies by human immunodeficiency virus type 1. **Isrn Aids**, 2013.

GUPTA RK, ABDUL-JAWAD S, MCCOY LE, MOK HP, PEPPA D, SALGADO M. HIV-1 remission following CCR29Delta32/Delta32 haematopoietic stem-cell transplantation. **Nature**, v.568, n.7751, p. 244–248, 2019.

HAASE A.T. Perils at mucosal front lines for HIV and SIV and their hosts. **Nat Rev Immunol**, n. 5, p. 783–792, 2005.

HAHN B.H, SHAW G.M, COCK K.M DE., SHARP P.M. AIDS as a Zoonosis: Scientic and Public Health Implications. **Science**, v. 80, n.287, p. 607–614, 2000.

HANCOCK D.B., GADDIS N.C., LEVY J.L., BIERUT L.J., KRAL A.H., JOHNSON E.O. Associations of common variants in the BST2 region with HIV-1 acquisition in African American and European American people who inject drugs. **AIDS**, v. 29, n. 7, p. 767–777, 2015.

HARPER M.S., BARRETT B.S., SMITH DS., LI S.X., GIBBERT K., DITTMER U., HASENKRUG K.J., SANTIAGO M.L. IFN-alpha treatment inhibits acute Friend retrovirus replication primarily through the antiviral effector molecule Apobec3. **J Immunol**, n. 190, p. 1583–1590, 2013.

HAYLEY IPP, ANNALISE Z. The paradox of the immune response in HIV infection: When inflammation becomes harmful, **Clinica Chimica Acta**, n. 416, p. 96-99, 2013.

HEMELAAR J, GOUWS E, GHYS P.D., OSMANOV S. Global trends in molecular epidemiology of HIV-1 during 2000–2007. **AIDS**, n. 25, p. 679–689, 2017.

HEMELAAR J. Implications of HIV diversity for the HIV-1 pandemic. **J Infect**, n. 66, p. 391–400, 2013.

HEMELAAR J. The origin and diversity of the HIV-1 pandemic. **Trends Mol Med**, n. 18, p.182–192, 2012.

HENRICH, T. J., HANHAUSER, E., MARTY, F. M., SIRIGNANO, M. N., KEATING, S., LEE, T. H., ... HILL, A. L. Antiretroviral-free HIV-1 remission and viral rebound after allogeneic stem cell transplantation: report of 2 cases. **Annals of internal medicine**, v. 161, n. 5, p. 319-327, 2014.

HERBECK, J. T., MÜLLER, V., MAUST, B. S., LEDERGERBER, B., TORTI, C., DI GIAMBENEDETTO, S., ... GOTTLIEB, G. S. Is the virulence of HIV changing? A meta-analysis of trends in prognostic markers of HIV disease progression and transmission. **AIDS (London, England)**, v. 26, n. 2, p. 193, 2012.

HICKFORD, D., FRANKENBERG, S., SHAW, G., & RENFREE, M. B. Evolution of vertebrate interferon inducible transmembrane proteins. **BMC genomics**, v. 13, n. 1, p. 155, 2012.

HIRSCH, M. S., CONWAY, B., RICHARD, T. D., JOHNSON, V. A., BRUN-VÉZINET, F., CLOTET, B., ... & LOVEDAY, C. Antiretroviral drug resistance testing in adults with HIV infection: implications for clinical management. **Jama**, v. 279, n. 24, p. 1984-1991, 1998.

HO, D. D. Therapy of HIV infections: problems and prospects. **Bulletin of the New York Academy of Medicine**, v. *73*, n.1, p. 37, 1996.

HOCKING, G. C., & PATTERSON, J. C. Quasi-two-dimensional reservoir simulation model. **Journal of Environmental Engineering,** n. 117, v.5, p. 595-613, 1991.

HOFFMANN, I. C., Santos, W. M. D., Padoin, S. M. D. M., & Barros, S. M. O. D. A five-year review of vertical HIV transmission in a specialized service: cross-sectional study. **São Paulo Medical Journal**, v. 134, n.6, p. 508-512, 2016.

HOMANN, S., SMITH, D., LITTLE, S., RICHMAN, D., & GUATELLI, J. Upregulation of BST-2/tetherin by HIV infection in vivo. **Journal of virology**, v. 85, n. 20, 2011.

HUANG, I. C., BAILEY, C. C., WEYER, J. L., RADOSHITZKY, S. R., BECKER, M. M., CHIANG, J. J., ... & LONGOBARDI, L. E. Distinct patterns of IFITM-mediated restriction of filoviruses, SARS coronavirus, and influenza A virus. **PLoS pathogens**, v. *7*, n.1, 2011.

HUTCHINSON, J. F. The biology and evolution of HIV. **Annual review of anthropology**, v. 30, n. 1, p. 85-108, 2001.

HÜTTER, G., BODOR, J., LEDGER, S., BOYD, M., MILLINGTON, M., TSIE, M., & SYMONDS, G. CCR5 targeted cell therapy for HIV and prevention of viral escape. **Viruses**, v. 7, n.8, p. 4186-4203, 2015.

HÜTTER, G., NOWAK, D., MOSSNER, M., GANEPOLA, S., MÜßIG, A., ALLERS, K., ... & BLAU, I. W. Long-term control of HIV by CCR5 Delta32/Delta32 stem-cell transplantation. **New England Journal of Medicine**, v. 360, n. 7, p. 692-698, 2009.

INTERNATIONAL SNP MAP WORKING GROUP. A map of human genome sequence variation containing 1.42 million single nucleotide polymorphisms. **Nature**, v. 409, n. 6822, p. 928, 2001.

IOANNIDIS, J. P., ROSENBERG, P. S., GOEDERT, J. J., ASHTON, L. J., BENFIELD, T. L., BUCHBINDER, S. P., ... KOSTRIKIS, L. G. Effects of CCR5-Δ 32, CCR2-64I, and SDF-1 3′ A alleles on HIV-1 disease progression: an international meta-analysis of individual-patient data**. Annals of internal medicine**, v. 135, n.9, p. 782-795, 2001.

ISHIKAWA, J., KAISHO, T., TOMIZAWA, H., LEE, B. O., KOBUNE, Y., INAZAWA, J., ... & HIRANO, T. Molecular cloning and chromosomal mapping of a bone marrow stromal cell surface gene, BST2, that may be involved in pre-B-cell growth. **Genomics**, v. 26, n. 3, p. 527-534, 1995.

JIA, R., PAN, Q., DING, S., RONG, L., LIU, S. L., GENG, Y., ... & LIANG, C. The N-terminal region of IFITM3 modulates its antiviral activity by regulating IFITM3 cellular localization. **Journal of virology**, v. 86, n. 24, p. 13697-13707, 2012.

JIA, R., XU, F., QIAN, J., YAO, Y., MIAO, C., ZHENG, Y. M., ... & LIANG, C. Identification of an endocytic signal essential for the antiviral action of IFITM3. **Cellular microbiology**, v. 16, n.7, p. 1080-1093, 2014.

JOHN, S. P., CHIN, C. R., PERREIRA, J. M., FEELEY, E. M., AKER, A. M., SAVIDIS, G., ... & PERTEL, T. The CD225 domain of IFITM3 is required for both IFITM protein association and inhibition of influenza A virus and dengue virus replication. **Journal of virology**, v. 87, n.14, p. 7837-7852, 2013.

JOUVENET, N., NEIL, S. J., ZHADINA, M., ZANG, T., KRATOVAC, Z., LEE, Y., ... & BIENIASZ, P. D. Broad-spectrum inhibition of retroviral and filoviral particle release by tetherin. **Journal of virology**, v. 83, n.4, p. 1837-1844, 2009.

KAMADA, A. J., BIANCO, A. M., ZUPIN, L., GIRARDELLI, M., MATTE, M. C. C., DE MEDEIROS, R. M., ... & KUHN, L. Protective role of BST2 polymorphisms in mother-to-child transmission of HIV-1 and adult AIDS progression**. Journal of acquired immune deficiency syndromes**, v. 72, n. 3, p. 237, 2016.

KAPLAN, G., ROITBURD-BERMAN, A., LEWIS, G. K., & GERSHONI, J. M. Range of CD4-bound conformations of HIV-1 gp120, as defined using conditional CD4-induced antibodies. **Journal of virology,** v. 90, n.9, p. 4481-4493, 2016.

KARIUKI, S. M., SELHORST, P., ARIËN, K. K., & DORFMAN, J. R. The HIV-1 transmission bottleneck. **Retrovirology**, v.14, n.1, p. 22, 2017.

KEHDY, F. S., GOUVEIA, M. H., MACHADO, M., MAGALHÃES, W. C., HORIMOTO, A. R., HORTA, B. L., ... RODRIGUES-SOARES, F. Origin and dynamics of admixture

in Brazilians and its effect on the pattern of deleterious mutations. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 112, n. 28, p. 8696-8701, 2015.

LACKNER, A. A., LEDERMAN, M. M., & RODRIGUEZ, B. HIV pathogenesis: the host. **Cold Spring Harbor perspectives in medicine,** v. *2*, n. 9, 2012.

LAPLANA, M., CARUZ, A., PINEDA, J. A., PUIG, T., FIBLA, J. Association of BST-2 gene variants with HIV disease progression underscores the role of BST-2 in HIV type 1 infection. **The Journal of infectious diseases**, v. 207, n.3, p. 411-419, 2012.

LEMOS, L. M. D. D., ROCHA, T. F. S., CONCEIÇÃO, M. V. D., SILVA, E. D. L., SANTOS, A. H. D. S., & GURGEL, R. Q. Evaluation of preventive measures for mother-to-child transmission of HIV in Aracaju, State of Sergipe, Brazil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 45, n.6, p. 682-686, 2012.

LEWIN, A. R., REID, L. E., MCMAHON, M., STARK, G. R., KERR, I. M. Molecular analysis of a human interferon-inducible gene family. **Europ. J. Biochem**, v. 199, p. 417-423, 1991.

LI G., DE CLERCQ E. HIV Genome-Wide Protein Associations: a Review of 30 Years of Research. **Microbiol Mol Biol Rev**, v. 80, p. 679–731, 2016.

LI, K., MARKOSYAN, R. M., ZHENG, Y. M., GOLFETTO, O., BUNGART, B., LI, M., ... & GRATTON, E. IFITM proteins restrict viral membrane hemifusion. **PLoS pathogens**, v. 9, n.1, 2013.

LI, X., XUE, Y., CHENG, H., LIN, Y., ZHOU, L., NING, Z., ... & ZHENG, X. HIV-1 genetic diversity and its impact on baseline CD4+ T cells and viral loads among recently infected men who have sex with men in Shanghai, China. **PloS one**, v. 10, n. 6, 2015.

LIBERT, F., COCHAUX, P., BECKMAN, G., SAMSON, M., AKSENOVA, M., CAO, A., ... & FERREC, C. The Δ CCR5 mutation conferring protection against HIV-1 in Caucasian populations has a single and recent origin in Northeastern Europe**. Human molecular genetics**, v. 7, n.3, p. 399-406, 1998.

LIM JK, MURPHY PM. Chemokine control of West Nile virus infection. **Exp Cell Res**, v. 317, n. 5, p. 569–574, 2011.

LIN, T. Y., CHIN, C. R., EVERITT, A. R., CLARE, S., PERREIRA, J. M., SAVIDIS, G., ... & ELLEDGE, S. J. Amphotericin B increases influenza A virus infection by preventing IFITM3-mediated restriction. **Cell reports**, v. 5, n.4, 895-908, 2013.

LING, S., ZHANG, C., WANG, W., CAI, X., YU, L., WU, F., ... TIAN, C. Combined approaches of EPR and NMR illustrate only one transmembrane helix in the human IFITM3. **Scientific reports,** v. 6, 2016.

LIU, J., DOTY, T., GIBSON, B., & HEYER, W. D. Human BRCA2 protein promotes RAD51 filament formation on RPA-covered single-stranded DNA. **Nature structural & molecular biology**, v. 17, n.10, p. 1260, 2010.

LIU, R., PAXTON, W. A., CHOE, S., CERADINI, D., MARTIN, S. R., HORUK, R., ... & LANDAU, N. R. Homozygous defect in HIV-1 coreceptor accounts for resistance of some multiply-exposed individuals to HIV-1 infection. **Cell**, v. 86, n.3, p. 367-377, 1996.

LIU, S., KONG, C., WU, J., YING, H., & ZHU, H. Effect of CCR5-Δ32 heterozygosity on HIV-1 susceptibility: a meta-analysis. **PloS one**, v. 7, n. 4, 2012.

LOPALCO, L. CCR5: From Natural Resistance to a New Anti-HIV Strategy. **Viruses**, v. 2, n. 2, p. 574–600, 2010.

LOSCHKO, J., SCHLITZER, A., DUDZIAK, D., DREXLER, I., SANDHOLZER, N., BOURQUIN, C., ... & KRUG, A. B. Antigen delivery to plasmacytoid dendritic cells via BST2 induces protective T cell-mediated immunity. **The Journal of Immunology,** v. 186, n. 12, p. 6718-6725, 2011.

LU J, PAN Q, RONG L, LIU SL, LIANG C. The IFITM proteins inhibit HIV-1 infection. **J Virol,** n. 85, p. 2126–2137, 2011.

LUFT, L.A.M., GILL M.J., CHURCH D.L. HIV-1 viral diversity and its implications for viral load testing: Review of current platforms. **Int J Infect Dis**, v. 15, 2011.

MAARTENS G, CELUM C AND LEWIN SR. HIV infection: Epidemiology, pathogenesis, treatment, and prevention. **Lancet**, v. 384, p. 258–271, 2014.

MALATINKOVA, E., DE SPIEGELAERE, W., BONCZKOWSKI, P., KISELINOVA, M., VERVISCH, K., TRYPSTEEN, W., ... & KINLOCH-DE LOES, S. Impact of a decade of successful antiretroviral therapy initiated at HIV-1 seroconversion on blood and rectal reservoirs. **Elife**, n. 4, 2015.

MALIAKKAL, A., WALMSLEY, S., & TSENG, A. Critical review: review of the efficacy, safety, and pharmacokinetics of raltegravir in pregnancy. **JAIDS Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes**, v. *72*, n. 2, p. 153-161, 2016.

MANGEAT B, GERS-HUBER G, LEHMANN M, ZUFFEREY M, LUBAN J, PIGUET V. HIV-1 Vpu neutralizes the antiviral factor tetherin/BST-2 by binding it and directing its beta-TrCP2-dependent degradation. **PLoS Pathog**, n. 5, 2009.

MARTINEZ, J., SANTIAGO, M. R., SOUZA, D. A., SILVA, G. E., CHAHUD, F., QUINTANA, S. M., ... & FERNANDES, A. P. M. The role of the placenta in the vertical transmission of HIV-1. **Medicina** (Ribeirão Preto. Online), v. 49, n. 1, p. 80-85, 2016.

MARTIN-SERRANO, J. & NEIL, S. J. D. Host factors involved in retroviral budding and release. **Nature Rev. Microbiol,** v. 9, p. 519–531, 2011.

MASUR H, MICHELIS MA, GREENE JB, ONORATO I, STOUWE RA, HOLZMAN RS, et al. An outbreak of community-acquired *Pneumocystis carinii* pneumonia: initial manifestation of cellular immune dysfunction. **N Engl J Med**, v. 05, n. 24, p. 1431–1438, 1981.

MATT C, ROGER M. Genetic determinants of pediatric HIV-1 infection: vertical transmission and disease progression among children. **Mol Med,** v. 7, p. 583–589, 2001.

MENEZES BRUNETTA D, DE SANTIS G.C, CRIVELENTI VILAR F, AMORIM BRANDÃO R, ZOMER DE ALBERNAZ MUNIZ R, MOMO G, DE LIMA N, AMORELLI-CHACEL M.E, COVAS DT AND MACHADO A.A. Hematological particularities and co-infections in injected drug users with AIDS, v. 1, p. 654–656, 2013.

MILLER S.A., DYKES D.D., POLESKY H.F. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. **Nucleic Acids Res**, v. 16, n. 1215, 1988.

MILLER, L. E. Laboratory Diagnosis of HIV Infection. In: STEVENS, C. D. (Ed.). Clinical immunology and serology: a laboratory perspective. 3rd. **Philadelphia**: F.A. Davis Company, 2010.

MIYAGI, E., ANDREW, A.J., KAO, S., STREBEL, K. Vpu enhances HIV-1 virus release in the absence of Bst-2 cell surface down-modulation and intracellular depletion. Proc. Natl. Acad. **Sci**, v. 106, p. 2868–2873, 2009.

MOHAMMADIP, DESFARGES S, BARTHA I, JOOS B, ZANGGER N, MUÑOZ M, GÜNTHARD HF, BEERENWINKEL N, TELENTI A., CIUFFI, A. 24 Hours in the Life of HIV-1 in a T Cell Line. **PLoS Pathog**, 2013.

MONTANER, J. S., REISS, P., COOPER, D., VELLA, S., HARRIS, M., CONWAY, B., ... MYERS, M. A randomized, double-blind trial comparing combinations of nevirapine, didanosine, and zidovudine for HIV-infected patients: the INCAS Trial. **Jama**, n. 279, v. 12, p. 930-937, 1998.

MURPHY, K.; TRAVERS, P.; WALPORT, M. **Imunobiologia de Janeway**. Porto Alegre: ArtMed, 7ª edição. 2010.

NAKAMURA, K. J., HEATH, L., SOBRERA, E. R., WILKINSON, T. A., SEMRAU, K., KANKASA, C., ... & KUHN, L. Breast milk and in utero transmission of HIV-1 select for envelope variants with unique molecular signatures. **Retrovirology**, n. 14, v. 1, p. 6, 2017.

NASI M, DE BIASI S, GIBELLINI L, et al. Ageing and inflammation in patients with HIV infection. Weinberger B, Akbar A, eds. **Clinical and Experimental Immunology**, n. 187, v. 1, p. 44-52, 2017.

NDUNG'U T., WEISS R.A. On HIV diversity. **Aids**, v. 26, p. 1255–1260, 2012.
NEIL, S.J., ZANG, T., BIENIASZ, P.D. Tetherin inhibits retrovirus release and is antagonized by HIV-1 Vpu. **Nature**, v. 451, p. 425–430, 2008.

NEIL, S.J.; EASTMAN, S.W.; JOUVENET, N.; BIENIASZ, P.D. HIV-1 Vpu promotes release and prevents endocytosis of nascent retrovirus particles from the plasma membrane. **PLoS Pathog**, v. 2, p. 39, 2006.

NEUBERT J., ENCZMANN J., KRUX F., HOWER M., BORKHARDT A., LAWS H.J, Dizygotic twins discordant for HIV-1 despite vertical transmission prophylaxis: was human leukocyte antigen homozygosity of disadvantage to the infected twin? **AIDS**, v. 24, n. 14, p. 2295-2296, 2010.

NI J, WANG D, WANG S. The CCR5-Delta32 Genetic Polymorphism and HIV-1 Infection Susceptibility: a Meta-analysis. **Open Med (Wars),** n. 13, p. 467–474, 2018.

NICOL M.R, ADAMS J.L, KASHUBA A.D. HIV PrEP Trials: The Road to Success**. Clinical** investigation, v. 3, n.3, 2013.

PAHO and WHO, WHO validates elimination of mother-to-child transmission of HIV and syphilis in Cuba. **Washington DC**: PAHO; 2015.

PALELLA F.J, DELANEY K.M, MOORMAN A.C, LOVELESS M.O, FUHRER J, SATTEN G.A, ASCHMAN D.J., HOLMBERG S.D. Declining morbidity and mortality among patients with advanced human immunodeficiency virus infection. HIV Outpatient Study Investigators. **N Engl J Med**, n. 338, p. 853–860, 1998.

PALMA AC, ARAÚJO F, DUQUE V, BORGES F, PAIXÃO M.T, CAMACHO R. Molecular epidemiology and prevalence of drug resistance-associated mutations in newly diagnosed HIV-1 patients in Portugal. **Infect Genet Evol**, n. 7, p. 391–398, 2007.

PALMISANO L., VELLA S. A brief history of antiretroviral therapy of HIV infection: success and challenges. **Ann Ist Super** Sanità, n. 47, p. 44–48, 2011.

PARK, J. W., YANG, T. W., KIM, Y. K., CHOI, B. M., KIM, H. J., & PARK, D. W. Ten years of experience in the prevention of mother-to-child human immunodeficiency virus transmission in a university teaching hospital. **Korean journal of pediatrics**, v. 57, n.3, p. 117, 2014.

PATEL P, BORKOWF CB, BROOKS JT, LASRY A, LANSKY A AND MERMIN J. Estimating per-act HIV transmission risk. **AIDS**, n. 28, p. 1509–1519, 2014.

PEREIRA, N. Z., CARDOSO, E. C., DA SILVA OLIVEIRA, L. M., DE LIMA, J. F., BRANCO, A. C. C. C., RUOCCO, R. M. D. S. A., ... & SATO, M. N. Upregulation of innate antiviral restricting factor expression in the cord blood and decidual tissue of HIV-infected mothers. **PloS one**, v. 8, n. 12, 2013.

PERNAMBUCO, Secretaria Estadual de Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde (Org.). Perfil Socioeconômico, Demográfico e Epidemiológico. 2. ed. Recife, p. 82 – 89, 2006.

PERNAMBUCO. Secretaria Estadual de Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde (Org.). Boletim **HIV/AIDS**, Recife, p.1–24, 2017.

PERREIRA, J. M., CHIN, C. R., FEELEY, E. M., & BRASS, A. L. IFITMs restrict the replication of multiple pathogenic viruses. **Journal of molecular biology,** v. 425, n. 24, p. 4937-4955, 2013.

PITHA, P.M. Innate antiviral response: role in HIV-1 infection. **Viruses**, v. 3, p. 1179–203, 2011.

POLIS M.A., SIDOROV I.A, YODER C., JANKELEVICH S., METCALF J., MUELLER B.U., DIMITROV M.A., PIZZO P., YARCHOAN R., DIMITROV D.S. Correlation between reduction in plasma HIV-1 RNA concentration 1 week after start of antiretroviral treatment and longer-term efficacy. Lancet (London, England) 358:1760–5, 2001.

PRAKASH SS, KALRA R, LODHA R, KABRA SK AND LUTHRA K. Diversity of HIV type 1 envelope (V3-V5) sequence in HIV type 1-infected Indian children. **AIDS Res Hum Retroviruses**, n. 28, p. 505–509, 2012.

QIAN J, LE DUFF Y, WANG Y, PAN Q, DING S, ZHENG YM, LIU SL, LIANG C. Primate lentiviruses are differentially inhibited by interferon- induced transmembrane proteins. **Virology**, n. 474, p. 10–18, 2015.

ROMERO J DEL, BAZA MB, RÍO I, JERÓNIMO A, VERA M, HERNANDO V, RODRÍGUEZ C AND US CASTILLA J. Natural conception in HIV-serodiscordant couples with the infected partner in suppressive antiretroviral therapy A prospective cohort study. Medicine, v. 95, n. 30, 2016.

ROZENBAUM W, COULAD JP, SAIMOT AG AND KLATZMANN D. Multiple Opportunistic Infection In A Male Homosexual In France. **Lancet**, p. 572–573, 1982.

SAMSON, M., LIBERT, F., DORANZ, B. J., RUCKER, J., LIESNARD, C., FARBER, C. M., ... & MUYLDERMANS, G. Resistance to HIV-1 infection in caucasian individuals bearing mutant alleles of the CCR-5 chemokine receptor gene. **Nature**, [s. L.], p.722-725,1996.

SANTOS A.F., SOARES M.A. HIV genetic diversity and drug resistance. **Viruses**, n. 2, p. 503–531, 2010.

SAUTER D, SPECHT A, KIRCHHOFF F. Tetherin: holding on and letting go. **Cell**, n. 141, v. 3, p. 392–398, 2010.

SEERS T, VASSALLO P, POLLOCK K, THORNHILL JP, FIDLER S, FOSTER C. CD4:CD8 ratio in children with perinatally acquired HIV-1 infection. *HIV Med*, v. 19, n. 9, p. 668–672, 2018.

SEGAT, L., ZUPIN, L., KIM, H. Y., CATAMO, E., THEA, D. M., KANKASA, C., ... & CROVELLA, S. HLA-G 14 bp deletion/insertion polymorphism and mother-to-child transmission of HIV. **Tissue Antigens**, n. 83, v. 3, p. 161-167, 2014.

SHARP P.M., HAHN B.H. Origins of HIV and the AIDS pandemic. **Cold Spring Harb Perspect Med**, n. 1, p. 1–22, 2011.

Sharp P.M., Hahn B.H. The evolution of HIV-1 and the origin of AIDS. **Philos** Trans R Soc Lond B Biol Sci, n. 365, p. 2487–94, 2010.

SHAW G.M., HUNTER E. HIV transmission. Cold Spring Harb Perspect **Med,** v. 2, p. 1–23, 2012.
SHI G, SCHWARTZ O, COMPTON A.A. More than meets the I: the diverse antiviral and cellular functions of interferon-induced transmembrane proteins. **Retrovirology**, v. 14, n. 53, 2017.

SIEGRIST, F., EBELING, M., CERTA, U. The small interferon-induced transmembrane genes and proteins. **J Interferon Cytokine Res**, n. *31*, p. 183–197, 2011.

SILVA-CARVALHO W. H. V., DE MOURA R. R., COELHO A. V. C., CROVELLA S., GUIMARÃES R. L. Frequency of the *CCR5*-delta32 allele in Brazilian populations: a systematic literature review and meta-analysis. **Infection, Genetics and Evolution**, v. 43, p. 101–107, 2016.

SKELTON, M. M., KAMPIRA, E. E., WONKAM, A. A., MHANDIRE, K. K., KUMWENDA, J. J., DURI, K. K., & DANDARA, C. C. Frequency variation among sub-Saharan populations in virus restriction gene, BST-2 proximal promoter polymorphisms: Implications for HIV-1 prevalence differences among African countries. Omics: **a journal of integrative biology**, v. 18, n. 7, p. 461-471, 2014.

SMITH, S. E., WESTON, S., KELLAM, P., & MARSH, M. IFITM proteins—cellular inhibitors of viral entry. **Current opinion in virology**, n. 4, p. 71-77, 2014.

SMYTH, R.P, DAVENPORT M.P., MAK J.The origin of genetic diversity in HIV-1. **Virus Res**, n. 169, p. 415–429, 2012.

SRIPAN, P., LE COEUR, S., AMZAL, B., INGSRISAWANG, L., TRAISATHIT, P., NGO-GIANG-HUONG, N., ... & KANJANAVIKAI, P. Modeling of in-utero and intra-partum transmissions to evaluate the efficacy of interventions for the prevention of perinatal HIV. **PLoS One**, v.10, n. 5, 2015.

SUGDEN, S. M., BEGO, M. G., PHAM, T. N., & COHEN, É. A. Remodeling of the Host Cell Plasma Membrane by HIV-1 Nef and Vpu: A Strategy to Ensure Viral Fitness and Persistence. **Viruses**, n. 8, v. 3, p. 67, 2016.

TAYLOR, J. K., COLEMAN, C. M., POSTEL, S., SISK, J. M., BERNBAUM, J. G., VENKATARAMAN, T., ... & FRIEMAN, M. B. Severe acute respiratory syndrome coronavirus ORF7a inhibits bone marrow stromal antigen 2 virion tethering through a novel mechanism of glycosylation interference. **Journal of virology**, v. 89, n. 23, p. 11820-11833, 2015.

TESSEMA, B., YISMAW, G., KASSU, A., AMSALU, A., MULU, A., EMMRICH, F., & SACK, U. Seroprevalence of HIV, HBV, HCV and syphilis infections among blood donors at Gondar University Teaching Hospital, Northwest Ethiopia: declining trends over a period of five years. **BMC Infectious diseases**, n. 10, v. 1, p. 111, 2010.

TOKAREV A, SKASKO M, FITZPATRICK K, GUATELLI J. Antiviral activity of the interferon-induced cellular protein BST-2/tetherin. **AIDS Res Hum Retroviruses**, v. 25, n. 12, p. 1197–1210, 2009.

UNAIDS, E. AIDS: Progress towards the 90-90-90 targets, n. 1, p. 198, 2017a.

UNAIDS, E. HIV prevention in the spotlight - An analysis from the perspective of the health sector in Latin America and the Caribbean, n. 1, p. 88, 2017c

UNAIDS, E. Prevenção combinada do HIV, n. 1, p. 4, 2017d.

UNAIDS, E. UNAIDS, n. 1, p. 248, 2017b.

UNAIDS. Communities at the centre – Defending Rights, Breaking Barriers, Reaching People with HIV Services. **Global AIDS Update**, v. 1, n. 316, 2019.
UNAIDS. Miles to go – Closing gaps, breaking barriers, righting injustices. **Global AIDS Update**, v. 1, n. 268, 2018b.

UNAIDS. Relatória Informativo – Dia mundial contra a AIDS, v. 1, n. 6, 2018a.
UNAIDS. Uma meta ambiciosa de tratamento para contribuir para o fim da epidemia de AIDS, n. 1, p. 38, 2015.
VAN DAMME, N.; GOFF, D.; KATSURA, C.; JORGENSON, R.L.; MITCHELL, R.; JOHNSON, M.C.; STEPHENS, E.B.; GUATELLI, J. The interferon-induced protein BST-2 restricts HIV-1 release and is downregulated from the cell surface by the viral Vpu protein. **Cell Host Microbe**, n. 3, p. 245–252, 2008.

VARGAS, A. E., MARRERO, A. R., SALZANO, F. M., BORTOLINI, M. C., & CHIES, J. A. B. Frequency of CCR5delta32 in Brazilian populations. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 39, n. 3, p. 321-325, 2006.

VERNAZZA P, HIRSCHEL B, BERNASCONI E, FLEPP M. Les personnes séropositives ne souffrant d'aucune autre MST et suivant un traitment antirétroviral efficace ne transmettent pas le VIH par voie sexuelle. **Bulletin des médecins suisses**, v. 89, n. 5, p. 165-169, 2008.

VIDYA VIJAYAN K.K, KARTHIGEYAN K.P, TRIPATHI S.P., HANNA L.E. Pathophysiology of CD4+ T-Cell Depletion in HIV-1 and HIV-2 Infections. **Front Immunol**, n. 8, p. 580, 2017.

VILASECA J, ARNAU J.M, BACARDI R., MIERAS C. Kaposi's Sarcoma and Toxoplasma Gondii Brain Abscess In A Spanish Homosexual. **Lancet**, 1982.

WANG X, AO Z., CHEN L., KOBINGER G., PENG J., YAO X. The cellular antiviral protein APOBEC3G interacts with HIV-1 reverse transcriptase and inhibits its function during viral replication. **J Virol**, n. 86, p. 3777–86, 2012.

WANG, L., ZHAO, H., CAI, W., TAO, J., ZHAO, Q., SUN, L., ... & ZHANG, F. Risk factors associated with preterm delivery and low delivery weight among HIV-exposed neonates in China. **International Journal of Gynecology & Obstetrics**, n. 142, v. 3, p. 300-307, 2018.

WANG, Z., ZHANG, A., WAN, Y., LIU, X., QIU, C., XI, X., ... & LI, L. Early hypercytokinemia is associated with interferon-induced transmembrane protein-3

dysfunction and predictive of fatal H7N9 infection. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 111, n. 2, p. 769-774, 2014.

WATTS J.M, DANG K.K, GORELICK R.J, LEONARD C.W, BESS J.W, SWANSTROM R, BURCH CL AND WEEKS K.M. Architecture and secondary structure of an entire HIV 1 RNA genome. **Nature**, n. 460, p. 711–6, 2009.

WAWER, M. J., MAKUMBI, F., KIGOZI, G., SERWADDA, D., WATYA, S., NALUGODA, F., ... & SEWANKAMBO, N. K. Circumcision in HIV-infected men and its effect on HIV transmission to female partners in Rakai, Uganda: a randomised controlled trial. **The Lancet**, v. 374, n. 9685, p. 229-237, 2009.

WEI, X, NIELSEN, R. CCR5-Δ32 is deleterious in the homozygous state in humans. **Nature Medicine**, p. 1546-170X, 2019.

WEISS R.A. Special Anniversary Review: Twenty-five years of human immunodeficiency virus research: Successes and challenges. **Clin Exp Immunol,** n. 152, p. 201–210, 2008.

WILEN, C. B., TILTON, J. C., & DOMS, R. W. HIV: cell binding and entry. **Cold Spring Harbor perspectives in medicine**, v. 2, v. 8, 2012.

WINKLER C, AN P., O'BRIEN S.J. Patterns of ethnic diversity among the genes that influence AIDS. **Human molecular genetics** 13 Spec No, p. 9–19, 2004.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Global guidance on criteria and processes for validation. Elimination of mother-to-child transmission of HIV and syphilis, second edition. **Geneva:** World Health Organization, 2017.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Progress Report, prevent HIV, test and treat all. Prog Rep, **Prev HIV**, test treat all 64, 2016.

YAN N, CHEN Z.Z.J. Intrinsic antiviral immunity. **Nat Immunol,** v. 13, n. 3, p. 214–22, 2012.
YOUNT J.S, KARSSEMEIJER R.A, HANG H.C. S-palmitoylation and ubiquitination differentially regulate interferon-induced transmembrane protein 3 (IFITM3)-mediated resistance to influenza virus. **J Biol Chem**, n. 287, p. 19631–19641, 2012.

ZHANG, Y. H., ZHAO, Y., LI, N., PENG, Y. C., GIANNOULATOU, E., JIN, R. H., ... & WANG, D. Y. Interferon-induced transmembrane protein-3 genetic variant rs12252-C is associated with severe influenza in Chinese individuals. **Nature communications,** n. 4, p. 1418, 2013.

ZHANG, Y., MAKVANDI-NEJAD, S., QIN, L., ZHAO, Y., ZHANG, T., WANG, L., ... & DONG, T. Interferon-induced transmembrane protein-3 rs12252-C is associated with rapid progression of acute HIV-1 infection in Chinese MSM cohort. **AIDS** *(London, England)*, v. *29*, n. 8, p. 889, 2015.

ZHAO X, LI J, WINKLER C.A, AN P, GUO J.T. IFITM Genes, Variants, and Their Roles in the Control and Pathogenesis of Viral Infections. **Front Microbiol**, n. 9, p. 3228, 2019.

ANEXO A – PARECER DE APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA DO IMIP

Instituto de Medicina Integral
Prof. Fernando Figueira
Escola de Pós-graduação em Saúde Materno Infantil
Instituição Civil Filantrópica

IMIP

DECLARAÇÃO

Declaro que o projeto de pesquisa **nº 3629 - 13** intitulado **"Fatores Genéticos humanos envolvidos no curso da Infecção pelo HIV: Transmissão vertical, imunidade e resposta à terapia antirretroviral."** apresentado pelo (a) pesquisador (a) **Antonio Victor Campos Coelhos** foi APROVADO pelo Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos do Instituto de Medicina Integral Prof. Fernando Figueira – IMIP, em reunião ordinária de 13 de novembro de 2013

Recife, 18 de novembro de 2013

Dr. José Eulálio Cabral Filho
Coordenador do Comitê de Ética
em Pesquisa em Seres Humanos do
Instituto de Medicina Integral Prof. Fernando Figueira

UTILIDADE PÚBLICA MUNICIPAL - Lei. 9851 de 08/11/67
UTILIDADE PÚBLICA ESTADUAL - Lei. 5013 de 14/05/64
UTILIDADE PÚBLICA FEDERAL - Dec. 86238 de 30/07/81
INSCRIÇÃO MUNICIPAL: 05.897-1
INSCRIÇÃO ESTADUAL - Isento
CNPJ: 10.988.301/0001-29

Rua dos Coelhos, 300 Boa Vista
Recife - PE - Brasil - CEP: 50.070-550
PABX: (81) 2122.4100
Fax: (81) 2122.4722 Cx. Postal 1393
e-mail: imip@imip.org.br
www.imip.org.br

ANEXO B – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (MÃES)

Título da pesquisa: Fatores Genéticos Humanos Envolvidos no Curso da Infecção pelo HIV: Transmissão Vertical, Imunidade e Resposta à Terapia Antirretroviral

Pesquisador responsável	**Comitê de Ética em Pesquisa**
Antonio Victor Campos Coelho Local de trabalho: Laboratório de Imunopatologia Keizo Asami (LIKA) Av. Prof. Moraes Rego, 1235, Cidade Universitária, Recife, PE. CEP: 50670-901. Telefone: 2101-2542 antonio.victor@ufpe.br	Rua dos Coelhos, 300, Boa Vista, Recife, PE. Diretoria de Pesquisa, Prédio Orlando Onofre, 1º Andar. Funcionamento: 2ª a 6º feira, 7h às 11h30/13h30 às 16h. Telefone:2122-4756 comitedeetica@imip.org.br
Médico supervisor da pesquisa Luiz Cláudio Arraes de Alencar (IMIP) lularraes@hotmail.com	

Convidamos você a participar de uma pesquisa que estamos realizando sobre diferenças genéticas envolvidas no comportamento do HIV no organismo. Algumas pessoas combatem melhor o vírus que outras durante a infecção; outras respondem melhor
à terapia com os antirretrovirais. Além disso, algumas crianças adquirem o vírus durante o parto ou amamentação (transmissão vertical), enquanto outras não. Estamos fazendo essa pesquisa para tentar descobrir se diferenças genéticas expliquem essa diferença entre as pessoas convivendo com o HIV e pretendemos recrutar 400 voluntários ao todo. Essa pesquisa é importante porque poderá contribuir para que no futuro os médicos melhorem os tratamentos contra o HIV. Além disso, você poderá solicitar aos pesquisadores que comuniquem os resultados a você e a seu médico para que ele avalie se você obteria benefícios com as descobertas.

Com sua autorização, gostaríamos de realizarmos entre uma e cinco coletas de pequenas quantidades do seu sangue (no máximo 8 mL por coleta), colhidas durante os exames de rotina de acompanhamento da infecção pelo HIV. Caso sejam necessárias mais de uma coleta, elas serão feitas a cada três ou quatro meses, de acordo com a rotina de suas consultas. Solicitamos também a sua autorização para utilizar dados do prontuário, como idade que iniciou o acompanhamento médico e os resultados dos seus últimos exames de rotina para avaliar o controle do HIV. Como a Genética está em constante evolução, é possível que novas pesquisas além desta sejam realizadas com suas informações e material biológico armazenados. Caso isso ocorra, os pesquisadores entrarão em contato com o comitê de ética e com você para solicitar nova autorização.

Informamos que o material contribuído por você será armazenado no Laboratório de Imunopatologia Keizo Asami (LIKA), que fica na Universidade Federal de Pernambuco

(UFPE). Seu material não será enviado a outros pesquisadores brasileiros ou estrangeiros, permanecendo apenas no LIKA. O endereço do LIKA e as formas de contato com os pesquisadores estão no começo desse documento.

Informamos que os riscos que você corre ao participar da pesquisa são apenas sintomas provocados pela coleta do sangue como: vermelhidão e dor no braço no local da coleta e enjoo. Além disso, todas as suas informações pessoais estarão seguras. Nenhuma pessoa fora da pesquisa terá acesso a elas.

receberá nenhum pagamento ou benefício financeiro pela sua participação. Da mesma forma, não haverá nenhum prejuízo a você caso não queira participar ou desistir de participar desta pesquisa.

Caso você se sinta prejudicado(a) pelo andamento da pesquisa, asseguramos que você receberá todas as assistências cabíveis neste hospital, incluindo o direito de solicitar indenização aos pesquisadores por eventuais danos. Caso você possua alguma dúvida acerca dos objetivos do estudo, por favor, entre em contato com os responsáveis pela pesquisa. Além disso, se você tiver alguma consideração ou dúvida sobre esta pesquisa, também pode entrar em contato com o comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos do IMIP (CEP-IMIP), que objetiva defender os interesses dos participantes, respeitando seus direitos e contribuir para o desenvolvimento da pesquisa desde que atenda às condutas éticas.

Eu,_____

(nome completo) compreendi as informações repassadas e autorizo que seja realizada a avaliação genética da amostra de sangue coletada, e concordo que os dados obtidos sejam utilizados para pesquisa. Declaro que fui informado(a) pela equipe do pesquisador Sergio

Crovella sobre os objetivos da pesquisa e estou consciente de que:

1. Concordei em participar da pesquisa sem nenhum tipo de pressão;
2. Posso a qualquer momento entrar em contato por telefone com o pesquisador se tiver qualquer dúvida sobre os procedimentos, riscos e benefícios da pesquisa;
3. Posso a qualquer momento desistir de participar da pesquisa, sem que isso prejudique meu atendimento no hospital;
4. O pesquisador poderá ter acesso ao meu prontuário e que minhas informações pessoais serão mantidas em sigilo;
5. Recebi uma cópia deste documento.

Assinatura da Voluntária	
Assinatura da Testemunha	**Assinatura da Testemunha**
Assinatura do Pesquisador Responsável	

ANEXO C - TERMO DE ASSENTIMENTO (TRANSMISSÃO VERTICAL – BRAÇO C)

Título da pesquisa: Fatores Genéticos Humanos Envolvidos no Curso da Infecção pelo HIV: Transmissão Vertical, Imunidade e Resposta à Terapia Antirretroviral

Pesquisador responsável Antonio Victor Campos Coelho Local de trabalho: Laboratório de Imunopatologia Diretoria de Pesquisa, Keizo Asami (LIKA). Prédio Orlando Onofre, 1º Andar. Av. Prof.Moraes Rego, 1235, Cidade Universitária, Recife, PE. CEP: 50670-901. Telefone: 2101-2542 antonio.victor@ufpe.br
Comitê de Ética em Pesquisa Rua dos Coelhos, 300, Boa Vista, Recife, PE. Funcionamento: 2ª a 6º feira, 7h às 11h30/13h30 às 16h.Telefone:2122-4756 comitedeetica@imip.org.br
Médico supervisor da pesquisa: Luiz Cláudio Arraes de Alencar (IMIP) lularraes@hotmail.com

Estamos realizando uma pesquisa sobre como o vírus que causa a aids é passado de mãe para filho. Desta forma convidamos você e seu(sua) filho(a) a participar. O vírus da imunodeficiência humana (HIV) também pode ser passado da mãe para o filho durante ou após a gravidez, e esse tipo de passagem é conhecido como transmissão vertical. No entanto, nem todas as crianças filhas de mães infectadas pelo vírus, nascem com ele, ou seja, algumas podem nascer infectadas, enquanto outras não. Pouco se sabe sobre como isso acontece.

Nesse sentido, nossa pesquisa sobre transmissão vertical pretende recrutar 100 voluntários e vai tentar descobrir quais são os fatores genéticos que expliquem essa diferença. Com isso, futuramente poderemos fazer novas formas de impedir a entrada do vírus e também melhorar a forma do tratamento anti-HIV. Além disso, você poderá solicitar aos pesquisadores que comuniquem os resultados a você e a seu médico para que ele avalie se seu(sua) filho(a) obteria benefícios com as descobertas. Solicitamos a você a autorização para realizarmos uma coleta de pequena quantidade de sangue do seu(sua) filho(a) (4 mL de sangue), colhida durante os exames de rotina de acompanhamento da infecção pelo HIV.

Solicitamos também a sua autorização para utilizar dados do prontuário do(a) seu(sua) filho(a), como idade, tipo de parto, e os resultados dos últimos exames de rotina para avaliar o controle do HIV. Como a Genética está em constante evolução, é possível que novas pesquisas além desta sejam realizadas com suas informações e material biológico armazenados. Caso isso ocorra, os pesquisadores entrarão em contato com o comitê de ética e com você para solicitar nova autorização.

Informamos que o material contribuído por você será armazenado no Laboratório de Imunopatologia Keizo Asami (LIKA), que fica na Universidade Federal de Pernambuco (UFPE). Seu material não será enviado a outros pesquisadores brasileiros ou estrangeiros, permanecendo apenas no LIKA. O endereço do LIKA e as formas de contato com os pesquisadores estão no começo desse documento.

Informamos que os riscos que seu(sua) filho(a) corre ao participar da pesquisa são apenas sintomas provocados pela coleta do sangue como: vermelhidão e dor no

braço no local da coleta. Além disso, todas as suas informações pessoais e de seu(sua) filho(a) estarão seguras. Nenhuma pessoa fora da pesquisa terá acesso a elas.

A participação na pesquisa é totalmente voluntária. Não haverá nenhum gasto pela sua participação, não recebendo cobrança com o que será realizado. Você também não receberá nenhum pagamento ou benefício financeiro pela sua participação. Da mesma forma, não haverá nenhum prejuízo a você e a seu(sua) filho(a)caso não queira participar ou desistir de participar desta pesquisa. Caso você se sinta prejudicado(a) pelo andamento da pesquisa, asseguramos que você e seu(sua) filho(a) receberão todas as assistências cabíveis neste hospital, incluindo o direito de solicitar indenização aos pesquisadores por eventuais danos. Caso você possua alguma dúvida acerca dos objetivos do estudo, por favor, entre em contato com os responsáveis pela pesquisa. Além disso, se você tiver alguma consideração ou dúvida sobre esta pesquisa, também pode entrar em contato com o comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos do IMIP (CEP-IMIP), que objetiva defender os interesses dos participantes, respeitando seus direitos e contribuir para o desenvolvimento da pesquisa desde que atenda às condutas éticas.

Eu,_____**(nome completo)** compreendi as informações repassadas e autorizo que seja realizada a avaliação genética da amostra de sangue coletada do(a) meu(minha) filho(a),_____**(nome completo)** e concordo que os dados obtidos sejam utilizados para pesquisa. Declaro que fui informado(a) pela equipe do pesquisador Sergio Crovella sobre os objetivos da pesquisa e estou consciente de que:

1. Concordei em participar da pesquisa sem nenhum tipo de pressão;
2. Posso a qualquer momento entrar em contato por telefone com o pesquisador se tiver qualquer dúvida sobre os procedimentos, riscos e benefícios da pesquisa;
3. Posso a qualquer momento desistir de participar da pesquisa, juntamente com meu(minha) filho(a) sem que isso prejudique nosso atendimento no hospital;
4. O pesquisador poderá ter acesso ao meu prontuário e do(a) meu(minha) filho(a) e que nossas informações pessoais serão mantidas em sigilo;
5. Recebi uma cópia deste documento.

Assinatura da Mãe Voluntária	
Assinatura da Testemunha	**Assinatura da Testemunha**
Assinatura do Pesquisador Responsável	

CURRÍCULO LATTES – CNPq - CV: http://lattes.cnpq.br/4102855322842365

Identificação

Nome
Dalila Bernardes Leandro
Nome em citações bibliográficas
LEANDRO, D. B.

Resumo

Mestranda em Genética na Universidade Federal de Pernambuco - UFPE. Possui Especialização em Biologia Molecular pelo Instituto de Ciências Biológicas - Universidade de Pernambuco (UPE), 2015. Graduação em Odontologia pela Universidade Federal de Alfenas (2007). Trabalha principalmente com o tema: Fatores genéticos humanos envolvidos no curso da infecção pelo HIV-1 relacionados à transmissão vertical (enfoque em polimorfismos). Atualmente tem interesse nas áreas de Biologia Celular e Molecular; Imunologia; Virologia e Genética, principalmente no que tange ao estudo dos linfócitos TCD4, reservatórios do vírus da Imunodeficiência Humana e fatores relacionados. **(Texto informado pelo autor)**

Formação acadêmica/titulação

2016
Mestrado em andamento em Genética (Conceito CAPES 4). Universidade Federal de Pernambuco, UFPE, Brasil. Título: Polimorfismos no gene IFITM3 e sua possível associação com a susceptibilidade à transmissão vertical do HIV-1. Orientador: Prof. Dr. Rafael Lima Guimarães. Bolsista do(a): Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, CNPq, Brasil. Grande área: Ciências Biológicas

2015 - 2017
Especialização em Curso de Especialização em Biologia Molecular. (Carga Horária: 375h). Universidade de Pernambuco, UPE, Brasil. Título: O uso da ferramenta de edição do DNA, CRISPR, como estratégia no tratamento do HIV. Orientador: Prof. Dr. Paulo Roberto Eleutério de Souza.

2015 interrompida
Graduação interrompida em 2016 em Ciências Biológicas. Universidade de Pernambuco, UPE, Brasil. Ano de interrupção: 2016

2003 - 2007
Graduação em Odontologia. Universidade Federal de Alfenas, UNIFAL/MG, Brasil. Título: Clareamento Dental. Orientador: professor Dr. Paulo Antônio de Arantes Vieira.

Formação Complementar

2019 - 2019
XIV Curso Avançado de Patogênese do HIV. (Carga horária: 40h). Faculdade de Medicina de São Paulo, USP, Brasil.

2019 - 2019
Educação em saúde bucal. (Carga horária: 1h). Rede de Núcleos de Telessaúde de Pernambuco, UFPE, Brasil.

2019 - 2019
Doenças falciformes e Doenças Bucais. (Carga horária: 1h). Rede de Núcleos de Telessaúde de Pernambuco, NUTES-UFPE, Brasil.

2019 - 2019
Transmissão, vigilância, controle e prevenção da Febre Amarela (2018A). (Carga horária: 2h). Fundação Oswaldo Cruz (Brasília), FIOCRUZ, Brasil.

2019 - 2019
Periodontia: Como Prevenir. (Carga horária: 1h). Rede de Núcleos de Telessaúde de Pernambuco, UFPE, Brasil.

2019 - 2019
Higienização bucal: Saúde e Prevenção para Dentados. (Carga horária: 1h). Rede de Núcleos de Telessaúde de Pernambuco, UFPE, Brasil.

2019 - 2019
Uso de cariostático em odontopediatria. (Carga horária: 1h). Rede de Núcleos de Telessaúde de Pernambuco, UFPE, Brasil.

2019 - 2019
Vacinação contra Febre Amarela (2018A). (Carga horária: 2h). Fundação Oswaldo Cruz (Brasília), FIOCRUZ, Brasil.

2019 – 2019
Síndrome gripal Influenza. (Carga horária: 1h). Rede de Núcleos de Telessaúde de Pernambuco, UFPE, Brasil.

2019 - 2019
Infecção pelo vírus HIV. (Carga horária: 1h). Rede de Núcleos de Telessaúde de Pernambuco, UFPE, Brasil.

2019 - 2019
Traumatismo dentoalveolar em crianças. (Carga horária: 1h). Rede de Núcleos de Telessaúde de Pernambuco, UFPE, Brasil.

2019 - 2019
A importância da Imunização. (Carga horária: 1h). Rede de Núcleos de Telessaúde de Pernambuco, UFPE, Brasil.

2019 - 2019
Febre Amarela. (Carga horária: 1h). Rede de Núcleos de Telessaúde de Pernambuco, UFPE, Brasil.

2018 - 2018

Curso de Citometria de Fluxo. (Carga horária: 8h). Sociedade Brasileira de Genética, SBG, Brasil.

2018 - 2018
XIII Curso Avançado de Patogênese do HIV. (Carga horária: 40h). Faculdade de Medicina de São Paulo, USP, Brasil.

2017 - 2017
R para Geneticistas. (Carga horária: 8h). Universidade Federal de Pernambuco/ PPGG, UFPE, Brasil.

2017 - 2017
XIII CURSO DE BIOINFORMÁTICA: ANÁLISE DE DADOS MOLECULARES. (Carga horária: 90h). Faculdade de Boa Viagem / Devry/LABBE, FBV, Brasil.

2017 - 2017
Oficina de Citometria de Fluxo - Avançado. (Carga horária: 12h). Universidade de São Paulo, USP, Brasil.

2017 - 2017
XII Curso Avançado de Patogênese do HIV. (Carga horária: 40h). Faculdade de Medicina de São Paulo, USP, Brasil.

2015 - 2017
Curso Ingles - My English On-Line (MEO). (Carga horária: 120h). CAPES/MEC, CAPES, Brasil.

2016 - 2016
Extensão universitária em Ciclo de Seminários em Genética. (Carga horária: 5h). Universidade Federal de Pernambuco /PPGG, UFPE, Brasil.

2016 - 2016
XI Curso Avançado de Patogênese do HIV. (Carga horária: 40h). Universidade de São Paulo, USP, Brasil.

2016 - 2016
Oficina de Citometria - Básico. (Carga horária: 4h). Universidade de São Paulo, USP, Brasil.

2015 - 2015
Cultivo e ensaios celulares. (Carga horária: 4h). Universidade Federal de Pernambuco /PPGG, UFPE, Brasil.

2015 - 2015
Isolamento, Cultura e Identificação Enterobactérias. (Carga horária: 8h). Universidade de Pernambuco, UPE, Brasil.

2015 - 2015
Aspectos moleculares no desenvolvimento de vacinas. (Carga horária: 4h). Universidade Federal de Pernambuco /PPGG, UFPE, Brasil.

2015 - 2015
Estratégias Biologia Molecular análise Virulência. (Carga horária: 4h). Universidade de Pernambuco, UPE, Brasil.

2015 - 2015
Viagem ao Mundo Microscópico (viagem de estudo). (Carga horária: 8h). Centro de Pesquisa Aggeu Magalhães, CPQAM/FIOCRUZ, Brasil.

2015 - 2015
Avaliação atividade anticancerígena actinobactéria. (Carga horária: 2h). Universidade de Pernambuco, UPE, Brasil.

2005 - 2005
Curso de Atualização. (Carga horária: 48h). Associação Brasileira de Odontologia - Seção Minas Gerais, ABO/MG, Brasil.

2004 - 2004
Semana da Ciência e Tecnologia. (Carga horária: 12h). Universidade Federal de Alfenas, UNIFAL/MG, Brasil.

Atuação Profissional

Universidade Federal de Alfenas, UNIFAL/MG, Brasil.
Vínculo institucional
2006 - 2006
Vínculo: livre, Enquadramento Funcional: Monitora da disciplina de Cirurgia-módulo17, Carga horária: 40h
Foi monitora sob supervisão do prof. Dr. Carlos Eduardo Gomes do Couto Filho, atuando na orientação de acadêmicos em atividades laboratoriais e clínicas. perfazendo a carga horária de 40 horas.

Vínculo institucional
2006 - 2006
Vínculo: livre, Enquadramento Funcional: Monitora da disciplina de Cirurgia-módulo29, Carga horária: 50h
Foi monitora sob a supervisão do prof. Dr Carlos Eduardo Gomes do Couto Filho, atuando na orientação de acadêmicos em atendimento cirúrgico ambulatorial, documentação e apresentação de casos clínicos.

Atividades
08/2006 - 11/2006
Estágios, Creche Cosme e Damião. Estágio realizado atendimento odontológico às crianças matriculadas no local (48 horas).
03/2006 - 07/2006
Estágio Prefeitura Municipal de Alfenas. Estágio realizado. Atendimento de pacientes no CEO de Alfenas, MG (320 horas).
12/2003 - 02/2004
Estágios, Consultório Odontológico Dra. Ivone Jorge Diniz. Estágio realizado na modalidade Observação (518 horas).

Idiomas

Inglês
Compreende Bem, Fala Razoavelmente, Lê Bem, Escreve Razoavelmente.

Prêmios e títulos

2016
1º Lugar na apresentação do trabalho entitulado: "CRISPR/Cas9 - Uma promissora ferramenta de edição de DNA para terapia gênica e tratamento contra infecções". Categoria: Revisão de Literatura., V Congresso de Biomedicina e Farmácia da Faculdade ASCES.

Produções

Produção bibliográfica
Resumos publicados em anais de congressos
1. RODRIGUES, J. K. F. ; **LEANDRO, D. B.** ; SILVA, D. S. J. ; Leite, M. C. G. ; Bastos, J. L. F. ; CROVELLA, S. ; SILVA, R. C. . Aspectos hematológicos em crianças expostas à trasmissão vertical do HIV-1 em Pernambuco. In: 54º Congresso da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, 2018, Recife. 54º Congresso da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, 2018.

2. RODRIGUES, J. K. F. ; **LEANDRO, D. B.** ; SILVA, D. S. J. ; CROVELLA, S. ; SILVA, R. C. . POLIMORFISMO 14 PB INS/DEL NO HLA-G E A SUSCEPTIBILIDADE AO CÂNCER DE MAMA: META-ANÁLISE. In: Jornada de Pós Graduação de Genética, 2018, Recife. VIII Jornada de Pós Graduação de Genética, 2018.

3. **LEANDRO, D. B.**; RODRIGUES, J. K. F. ; SILVA, R. C. ; GUIMARAES, R. L. . CCR5Δ32 DELETION AND ITS ASSOCIATION WITH THE SUSCEPTIBILITY TO VERTICAL TRANSMISSION OF HIV-1. In: IX Internacional Symposium on Diagnostics and Therapeutics / XII LIKA Scientific Journey, 2018, Recife. IX Internacional Symposium on Diagnostics and Therapeutics / XII LIKA Scientific Journey, 2018.

4. RODRIGUES, J. K. F. ; SILVA, D. S. J. ; LIMA, K. O. ; **LEANDRO, D. B.** ; SILVA, E. N. ; SILVA, R. C. ; CROVELLA, S. . Interação de microRNAs regulatórios no gene HLA-G: Análise in silico. In: III Simpósio Norte e Noedeste de Bioinformática, 2018, Recife. ANAIS DO III SIMPÓSIO NORTE E NORDESTE DE BIOINFORMÁTICA, 2018. p. 126-126.

Apresentações de Trabalho
1. **LEANDRO, D. B.**; SILVA, R. C. ; GUIMARAES, R. L. . Polimorfismos no gene *IFITM3* e sua possível associação a susceptibilidade à transmissão vertical do HIV-1. 2018. (Apresentação de Trabalho/Congresso).

2. **LEANDRO, D. B.**; PINTO, A. R. S. ; REIS, C. R. S. . CRISPR/Cas9 - Uma promissora ferramenta de edição de DNA para terapia gênica e tratamento contra infecções. 2016. (Apresentação de Trabalho/Congresso).

Demais tipos de produção técnica
1. **LEANDRO, D. B.**; SILVA, I. I. F. G. ; GARCIA, P. S. ; SILVA, R. C. ; LIMA, S. C. Metanálise: da teoria a prática. 2018. (Curso de curta duração ministrado/Extensão).

Bancas

Participação em bancas de comissões julgadoras
Outras participações
1. **LEANDRO, D. B.**. Avaliador(a) Ad Hoc do Processo Seletivo do Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica em Desenvolvimento Tecnológico e Inovação PIBITI e de Iniciação Científica PIBIC (Edital n.04/2018) PRPI/IFAL. 2018. Instituto Federal de Alagoas.

2. **LEANDRO, D. B.**. Comissão avaliadora de trabalhos científicos na EXPOTEC (Exposição de Tecnologia e Ciência em Camaragibe/Pernambuco). 2018. Universidade Federal Rural de Pernambuco.

3. **LEANDRO, D. B.**. Comissão avaliadora de trabalhos científicos/acadêmicos na XVIII Jornada de Ensino Pesquisa e Extensão da UFRPE (JEPEX). 2018. Universidade Federal Rural de Pernambuco.

4. **LEANDRO, D. B.**. Comissão avaliadora de trabalhos científicos na EXPOTEC (Exposição de Tecnologia e Ciência em Camaragibe/Pernambuco). 2017. Universidade Federal Rural de Pernambuco.

5.LEANDRO, D. B.. Comissão avaliadora de trabalhos científicos/acadêmicos na XVII Jornada de Ensino Pesquisa e Extensão da UFRPE (JEPEX). 2017. Universidade Federal Rural de Pernambuco.

Eventos

Participação em eventos, congressos, exposições e feiras
1. IX Internacional Symposium on Diagnostics and Therapeutics / XII LIKA Scientific Journey.CCR5Δ32 DELETION AND ITS ASSOCIATION WITH THE SUSCEPTIBILITY TO VERTICAL TRANSMISSION OF HIV-1. 2018. (Simpósio).

2. VIII Jornada de Pós-Graduação em Genética. 2018. (Congresso).

3. VII Jornada de Pós-Graduação em Genética. 2017. (Exposição).

4. II Encontro de Estudantes de Biologia da Universidade de Pernambuco (II EEBUPE). 2015. (Encontro).

5. I Semana de Conscientização e Prevenção em Hiv/Aids da UPE. 2015. (Outra).

6. V Jornada do Programa de Pós-Graduação em Genética UFPE. 2015. (Outra).

7. XII Semana do Biólogo UPE-campus Garanhuns. 2015. (Congresso).

8. II Simpósio de DST/AIDS e da mesa de discussão. 2007. (Simpósio).

9. XXXVIII Semana Científica Odontológica da Efoa/Ceufe. 2005. (Congresso).

Organização de eventos, congressos, exposições e feiras
1. LEANDRO, D. B.; CALSA JUNIOR, T. ; SANTOS, N. . VIII Jornada de Pós-Graduação em Genética. 2018. (Outro).

Página gerada pelo Sistema Currículo Lattes em 09/08/2019 às 23:55:17