

Biologia molecular do HIV-1 e genética da resistência humana à AIDS

Molecular biology of the HIV-1 and genetics of human resistance to AIDS

Rejane M.T. Grotto¹; Maria I.M.C. Pardini¹

¹Laboratório de Biologia Molecular – Divisão Hemocentro – Faculdade de Medicina de Botucatu - UNESP – SP

Resumo A evolução da infecção pelo Vírus da Imunodeficiência Humana Tipo 1 (HIV-1) é influenciada por fatores virais e pelo hospedeiro. Os fatores virais estão relacionados ao subtipo circulante, tropismo, citopatogenicidade, antigenicidade e mutações no genótipo viral que induzem a resistência às drogas utilizadas na terapêutica atual. Neste contexto os padrões de variabilidade de seqüências genômicas do HIV-1 podem ser utilizados como marcadores genéticos para avaliar a tendência da evolução da infecção e a eficácia terapêutica. Por outro lado os fatores relacionados ao hospedeiro incluem genótipo HLA, produção de anticorpos neutralizantes e presença de mutações genéticas que dificultam a interação do vírus com a célula hospedeira. Análises genômicas podem ser úteis no sentido de avaliar presença de fenótipo que predisponha à progressão da infecção. Neste trabalho, apresenta-se uma revisão dos principais marcadores genéticos relacionados ao vírus e ao hospedeiro que podem ser utilizados para avaliar a evolução da infecção.

Palavras-chave Síndrome de Imunodeficiência Adquirida; HIV-1; Antígenos HIV; Imunidade Natural; Resistência a Drogas; Tropismo.

Abstract Host and viral factors may influence the course of human immunodeficiency virus-1 (HIV-1) infection. The viral factors are related to circulating subtype, tropism, cytopathogenicity, antigenicity, and viral genotype mutations that prompt the resistance against the drugs used in the current therapy. In this situation, the variability patterns of HIV-1 genomic sequences can be used as genetic markers to evaluate the trend of infection course and the effectiveness of the treatment. On the other hand, the determining factors related to the host include HLA genotype, manufacture of neutralizing antibodies, and the presence of genetic mutations that make difficult the interaction of virus with the host cell. Genomic analyses can be useful in the sense of assuring the phenotype presence, which predisposes to the development of the infection. In this study we present a review of the major genetic markers related to the virus and to the host that can be applied to evaluate the course of infection.

Keywords Acquired Immunodeficiency Syndrome; HIV-1; HIV Antigens; Natural Immunity; Drug Resistance; Tropism.

A AIDS, descrita como uma doença caracterizada por sinais e sintomas resultantes da debilitação do sistema imunológico, é consequência da infecção causada pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV)¹.

Com 100 nm de diâmetro, sua estrutura é formada por um núcleo protéico contendo duas cópias idênticas de RNA de 9,2 kb, que constituem seu genoma e enzimas virais (transcriptase reversa, integrase e protease), envolvidos por um envelope lipoprotéico,

no qual se inserem as proteínas gp120 e gp 41².

Foram identificados dois tipos de HIV: HIV-1 e HIV-2. O HIV-1 é dividido em dois grupos M (Major) e O (Outlier), sendo que um novo grupo já foi descrito e recebeu a denominação de N (New). O grupo M ainda se subdivide em subgrupos A, B, C, D, F, G, H e J, o que mostra uma grande diversidade genética viral³. Os subtipos anteriormente classificados como E e I são, na verdade, vírus recombinantes, denominados recombinantes circulatórios

(CRFs). A distribuição dos diferentes subtipos pelo mundo é variável, sendo o subtipo B o mais prevalente na América do Norte e do Sul, na Europa e na Austrália. Já foram também detectados em numerosos outros locais, incluindo Tailândia, Japão, África, China, Malásia e Índia. O alto grau de variabilidade também é resultado do fenômeno de recombinação genética entre vírus diferentes. A co-circulação de múltiplos subtipos num único local, favorece episódios de co-infecção, que por sua vez conduzem ao aparecimento de vírus recombinantes que podem ser viáveis e transmissíveis ⁴.

As células-alvo do HIV expressam marcador de superfície celular CD₄, e o passo inicial do ciclo replicativo viral ocorre com a ligação da proteína gp 120 do envelope viral com a molécula de CD₄ da célula-alvo. Após essa interação inicial, a alça V3 da gp 120 torna-se exposta e apta à ligação com co-receptores (receptores de citocinas), principalmente CCR5 e CXCR4⁵. Após estas interações, ocorre fusão das membranas celular e viral, processo mediado pela gp41⁶. O nucleocapsídeo viral penetra no citoplasma celular, liberando o RNA do vírus, que pela ação da transcriptase reversa é convertido em DNA⁷. Uma vez sintetizado, o DNA viral é integrado ao cromossomo celular pela ação da enzima integrase⁸.

A partir daí o vírus pode permanecer latente e o DNA viral não ser transcrito em RNAm viral, apenas permanecendo integrado ao DNA celular e ser replicado pela célula hospedeira. Quando a célula for ativada ocorrerá transcrição do DNA viral e a formação de novos vírus².

O ciclo replicativo encontra-se na dependência do genoma viral. O genoma do HIV-1 é constituído por três genes estruturais (gag, env, pol) e seis genes regulatórios (vif, vpr, tat, rev, vpu, nef) flanqueados por duas seqüências análogas denominadas LTR (long terminal repeat)⁸.

O gene gag codifica uma poliproteína, a qual após clivagem origina várias proteínas virais da matriz, do capsídeo e do nucleocapsídeo viral. As proteínas da matriz interagem com proteínas do envelope auxiliando na atração de proteínas para a formação de novos vírions; as proteínas do capsídeo são importantes na formação do nucleocapsídeo e estas se ligam inespecificamente ao RNA viral auxiliando sua compactação no interior do novo vírion².

O gene pol codifica uma poliproteína gag-pol de 160 KDa que após clivagem proteolítica origina as enzimas virais (protease, transcriptase reversa, e integrase)².

A transcriptase reversa é constituída por dois monômeros: p51 e p66. A p66 contém o sítio ativo e sítio de ligação ao DNA e sua estrutura tridimensional tem sido associada à figura da mão direita. Já a p51 não detém atividade enzimática, mas funciona como suporte para a atividade da p66⁹. A atividade da transcriptase reversa é fundamental ao ciclo replicativo do HIV, uma vez que é responsável pela síntese de DNA a partir do RNA viral, sendo uma DNA polimerase RNA-dependente. Em razão da ausência de atividades de reparo, a transcriptase reversa não é capaz de corrigir possíveis erros que possam ocorrer durante a síntese de DNA, o que conseqüentemente leva a uma alta taxa de mutações².

A protease é um homodímero simétrico, constituída por dois monômeros de 99 aminoácidos e está envolvida no processamento pós-traducional das poliproteínas gag e gag-pol atuando na estruturação de proteínas e enzimas virais¹⁰.

A integrase é essencial para incorporação do DNA viral ao DNA celular⁸.

O gene env codifica uma poliproteína de 160 KDa que sofre clivagem originando as glicoproteínas de superfície (SU ou gp120) e as glicoproteínas transmembranas (TM ou gp41)². Dos três genes estruturais, o gene env é o que revela maior variabilidade genética. Enquanto intensas variações nas seqüências gag e pol podem conduzir à formação de vírus invariáveis, as seqüências env aceitam grande número de variações, muitas das quais auxiliam no escape do sistema imunológico do hospedeiro¹¹.

A gp41 é uma proteína transmembrana com o domínio N-terminal externo e o domínio C-terminal interno ao vírion⁽¹²⁾. A gp41 tem papel fundamental no ciclo replicativo do vírus na medida em que gera uma orientação paralela da membrana celular e do envelope viral, permitindo a entrada de peptídeos fusogênicos na membrana celular⁶.

A gp120 é uma proteína que apresenta cinco regiões constantes (C1 a C5) e cinco regiões variáveis (V1 a V5)^{9,11}, sendo essencial ao ciclo replicativo viral, pois é responsável pela ligação com a molécula CD₄ na superfície da célula hospedeira¹³.

A terceira região variável (alça V3) é constituída de aproximadamente 35 aminoácidos¹⁴, cuja seqüência consenso é CTRPNNNTRKRSIHIGPGRAFYYTTGEEIGDIRQAHC¹⁵. No topo da alça encontra-se uma região conservada no subtipo B, o mais freqüente no Brasil: a seqüência Glicina-Prolina-Glicina-Arginina (GPGR)¹⁶. Tem sido demonstrado que alguns vírus B isolados no Brasil apresentam uma modificação na seqüência desta região, em que uma prolina é substituída por um triptofano, gerando a seqüência GWGR ao invés de GPGR e conduzindo a modificações na estrutura secundária da proteína, alterando provavelmente sua antigenicidade¹⁷.

A alça V3 é a principal região imunodominante do HIV, induzindo a formação de anticorpos neutralizantes e funcionando como alvo da resposta celular citotóxica¹⁸.

A alça V3 da gp120 está ainda envolvida com a citopatogenicidade do vírus. Experimentos realizados *in vitro* demonstram que células infectadas podem originar células gigantes multinucleadas que são capazes de produzir grande quantidade de vírus antes de morrerem. Tal efeito é denominado formação de sincício¹⁹. Dessa forma, quanto ao efeito citopático, o HIV pode ser classificado em indutor de sincício (SI) ou não indutor de sincício (NSI) e tal característica encontra-se na dependência da seqüência de aminoácidos da alça V3^{20,21}. O fenótipo NSI vem sendo associado à fase assintomática da doença²², na qual existe menor virulência. No entanto, em conseqüência da alta taxa de mutações do HIV, pode ocorrer alteração de fenótipo de NSI para SI, o que vem sendo correlacionado com progressão da doença e pior prognóstico²³. A formação de sincício conduz à morte celular e ao declínio de células T CD₄, associadas à imunodepressão²⁴. A mudança de fenótipo está associada à substituição de aminoácidos neutros ou ácidos por alcalinos na região da alça V3²⁵. Estudos vêm demonstrando que a introdução de aminoácidos alcalinos em algumas posições da seqüência da região V3 (11, 24, 25 e 32) são importantes na determinação do tropismo^{26,27,28}. A maioria dos vírus SI apresentam aminoácidos alcalinos em pelo menos uma dessas posições, enquanto que a maioria dos vírus NSI não apresenta aminoácidos alcalinos nessas posições. A posição 25 parece ser particularmente importante, pois a ausência de um aminoácido ácido nessa posição parece afetar substituições em outras posições²⁷.

O fenótipo NSI ou SI também se relaciona com a utilização de

co-receptores. Os vírus com fenótipo NSI utilizam geralmente CCR5, enquanto aqueles com fenótipo SI utilizam preferencialmente o CXCR4^{29,30}. A infecção em macrófagos parece ser menos eficiente pelos vírus que utilizam o CXCR4, assim as variantes que utilizam o CXCR4 são T-tropicas enquanto que àquelas que utilizam o CCR5 são M-tropicas³¹. Nesse sentido, alterações na seqüência de aminoácidos na alça V3 determinadas por mutações genéticas vêm sendo associadas a alterações no tropismo celular¹⁴, na antigenicidade proteica³² e na capacidade para induzir a formação de sincício²⁷.

O fenótipo viral é importante quando se considera o prognóstico da infecção. No entanto, o prognóstico da infecção pelo HIV se encontra na dependência de alguns fatores, entre eles o tratamento anti-retroviral. Atualmente o tratamento anti-retroviral vem sendo realizado por duas classes de drogas: os inibidores da transcriptase reversa e os inibidores da protease³³.

Os Inibidores da Transcriptase Reversa inibem a enzima transcriptase reversa dificultando assim, a síntese do DNA viral³³. Existem dois tipos de drogas pertencentes a essa classe: os análogos nucleosídeos, que atuam por mecanismo competitivo como finalizadores de cadeia de DNA, pois quando incorporados na cadeia de DNA em formação bloqueiam sua síntese, e os não análogos nucleosídeos, que agem induzindo modificações estruturais no sítio ativo enzimático pela ligação em um sítio diferente do sítio ativo^{33,34}.

Os Inibidores da Protease atuam inibindo a enzima protease, dificultando a formação de novos vírions por competir com o substrato pela ocupação do sítio ativo enzimático³³.

O esquema terapêutico instituído ao paciente pode se mostrar ineficaz e conduzir à falência terapêutica³⁴, a qual é caracterizada pela elevação da carga viral plasmática associada a vários fatores como adesão ao tratamento, fatores farmacológicos, condição imunológica do hospedeiro e resistência às drogas³⁵.

Quando se considera a resistência, a nomenclatura tipo selvagem (wild-type) é utilizada para a cepa viral não selecionada pela terapia utilizada. Uma mutação pode gerar alterações de aminoácidos, o que pode resultar em alteração da estrutura e função da proteína³⁴ e, em alguns casos, conferir suscetibilidade inferior àquela geralmente observada frente às drogas utilizadas, levando à resistência ao esquema anti-retroviral³⁶. Modificações nos nucleotídeos podem ocorrer tanto em pacientes em tratamento quanto naqueles que não se encontram em tratamento. No entanto, o aparecimento de uma quantidade superior à esperada de vírus mutantes deve-se a dois fatores: replicação viral persistente e pressão seletiva realizada pelo esquema anti-retroviral utilizado³⁷. Nesse contexto, os testes de resistência vêm se mostrando bastante úteis, sendo indicados nos casos de falência terapêutica de um determinado esquema anti-retroviral. Os testes de resistência às drogas como a genotipagem e a fenotipagem, tornaram-se parte integral do acompanhamento de um paciente infectado com o HIV³⁸.

No entanto, a evolução da infecção e a eficácia terapêutica não se encontram na dependência exclusiva de fatores relacionados ao vírus. Fatores relacionados ao hospedeiro também contribuem para o desenvolvimento da infecção.

Muitos fatores imunogenéticos do indivíduo infectado podem modular as variações clínicas da infecção pelo HIV-1 e o sistema HLA, em particular, mostra uma influência crítica no curso da infecção³⁹. O perfil HLA de indivíduos é relacionado com transmissão, proteção, suscetibilidade e progressão da infecção.

Muitos estudos associam os alelos HLA com a transmissão do HIV-1⁴⁰. Existem consideráveis evidências da presença de indivíduos expostos ao vírus (alguns em exposição contínua), mas que não soroconverteram ou não exibem nenhum sinal de infecção, o que sugere que, em alguns casos, a imunidade inata pode proteger indivíduos expostos e os linfócitos T CD8 podem ser responsáveis por essa proteção⁴¹.

Além do perfil HLA, outro fator relacionado ao hospedeiro para avaliar o risco de progressão da doença é a presença de anticorpos neutralizantes anti-HIV. Um painel de anticorpos anti-HIV já foi identificado, entre os principais estão b12, o qual é capaz de se ligar a gp120 no sítio de interação ao CD4, exercendo forte pressão seletiva⁴²; 17b e X5⁴³, anticorpos ricos em tirosinas sulfatadas característica fundamental à sua ligação na gp120 no sítio de interação com os co-receptores^{44,45}; 447-52D, o qual se liga ao motif do arco da alça V3 da gp120 de seqüência GPGR⁴⁶; 2G12, capaz de reconhecer os carboidratos do core da gp120⁴⁷; 2F5, 4E10 e Z13 e, os quais reconhecem uma região específica da gp41⁴⁸.

Mutações genéticas também podem exercer efeito protetor e retardar ou evitar o aparecimento da AIDS. Um exemplo bem documentado é a deleção de 32 nucleotídeos na seqüência genética que codifica o co-receptor CCR5 introduzindo um *stop codon* prematuro na seqüência proteica em formação⁴⁹. O CCR5 é um co-receptor utilizado pelo vírus para sua entrada nas células. É utilizado nas fases iniciais da infecção, sendo fundamental para o estabelecimento da infecção⁵⁰. A presença da deleção retarda o aparecimento da doença, constituindo um fator genético protetor à AIDS⁴⁹.

Dessa forma, análises de seqüências do vírus e do hospedeiro podem ser utilizadas para avaliar o risco de progressão da doença e o aparecimento da AIDS.

Referências bibliográficas

1. Abbas AK, Lichtman AH, Pober JS. Citocinas. In: _____. Imunologia: celular e molecular. Rio de Janeiro: Revinter; 1998. p.253-76.
2. Connor RI, Ho DD. Etiology of AIDS: biology of human retroviruses. In: Devita VT, editor. AIDS etiology, diagnosis, treatment and prevention. Philadelphia: J.B. Lippincott Company; 1992. p.13-85.
3. Carr JK, Foley BT, Leitner T, Salminen M, Korber B, McCutchan F. Reference sequences representing the principal genetic diversity of HIV-1 in the Pandemic. Analyses: HIV-1 Genetic Subtypes 1998;III:10-9.
4. Taveira N. Epidemiologia molecular da infecção pelo HIV em Portugal. [citado 2002 Mar 30]. Disponível em: URL: <http://www.aidscongress.net/congresso/comunntaveira.html>
5. Clapham PR, Weiss RA. Immunodeficiency viruses. Spoilt for choice of co-receptors. Nature 1997;388(6639):230-1.
6. Caffrey M, Cai M, Kaufman J, Stahl SJ, Wingfield PT, Covell DG et al. Three-dimensional solution structure of the 44 kDa ectodomain of HIV gp41. EMBO J 1998;17(16):4572-84.
7. Katz RA, Skalka AM. The retroviral enzymes. Ann Rev Biochem 1994;63:133-73.
8. Dewhurst S. HIV-1: molecular biology. Rochester: University of Rochester Medical Center; 1999. [cited 1999 Mar 08]. Available from: URL: <http://www.urmc.rochester.edu/smd/mbi/grad2/hiv99B.html>
9. Kohlstaedt LA, Wang J, Friedman JM, Rice PA, Steitz TA. Crystal structure at 3.5 Å resolution of HIV-1 reverse transcriptase complexed with an inhibitor. Science 1992;256(5065):1783-90.
10. Erickson JW, Gulnik SV, Markowitz M. Protease inhibitors: resistance, cross-resistance, fitness and the choice and salvage therapies. AIDS 1999;13 Suppl A:S189-204.
11. Starcich BR, Hahn BH, Shaw GM, McNeely PD, Modrow S, Wolf H et al. Identification and characterization of conserved and variable regions in the envelope gene of HTLV-III/LAV, the retrovirus of AIDS. Cell 1986;45(5):637-48.

12. Chan DC, Fass D, Berger JM, Kim PS. Core structure of gp41 from the HIV envelope glycoprotein. *Cell* 1997;89(2):263-73.
13. Dalgleish AG, Beverley PC, Clapham PR, Crawford DH, Greaves MF, Weiss RA. The CD4 (T4) antigen is an essential component of the receptor for the AIDS retrovirus. *Nature* 1984;312(5996):763-7.
14. Cann AJ, Churcher MJ, Boyd M, O'Brien W, Zhao JQ, Zack J et al. The region of the envelope gene of human immunodeficiency virus type 1 responsible for determination of cell tropism. *J Virol* 1992;66(1):305-9.
15. Stanfield R, Cabezas E, Satterthwait A, Stura E, Profy A, Wilson I. Dual conformations for the HIV-1 gp120 V3 loop in complexes with different neutralizing fabs. *Structure* 1999;7(2):131-42.
16. Foley B, Korber B. Global variation in the HIV-1 V3 region. In: Myers G, Korber B, Hahn BH, Jeang K-T, Mellors JW, McCutchan FE et al. *Human retroviruses and AIDS*. Los Alamos: National Laboratory;1995. p.77-108.
17. Galvão-Castro B, Couto-Fernandez JC, Mello MA, Linhares-de-Carvalho MI, Castello-Branco LR, Bongertz V et al. A nationwide effort to systematically monitor HIV-1 diversity in Brazil: preliminary results. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 1996;91(3):335-8.
18. Kenealy WR, Matthews TJ, Ganfield MC, Langlois AJ, Waselefsky DM, Petteway SR. Antibodies from human immunodeficiency virus-infected individuals bind to a short amino acid sequence that elicits neutralizing antibodies in animals. *AIDS Res Hum Retroviruses* 1989;5(2):173-82.
19. Wigdahl B, Guyton RA, Sarin PS. Human immunodeficiency virus infection of the developing human nervous system. *Virology* 1987;159(2):440-5.
20. Travis BM, Dykers TI, Hewgill D, Ledbetter J, Tsu TT, Hu SL et al. Functional roles of the V3 hypervariable region of HIV-1 gp160 in the processing of gp160 and in the formation of syncytia in CD4+ cells. *Virology* 1992;186(1):313-7.
21. Trujillo JR, Goletiani NV, Bosch I, Kendrick C, Rogers RA, Trujillo EB et al. T-tropic sequence of the V3 loop is critical for HIV-1 infection of CXCR4-positive colonic HT-29 epithelial cells. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2000;25(1):1-10.
22. Roos MT, Lange JM, de Goede RE, Coutinho RA, Schellekens PT, Miedema F et al. Viral phenotype and immune response in primary human immunodeficiency virus type-1 infection. *J Infect Dis* 1992;165(3):427-32.
23. Connor RI, Mohri H, Cao Y, Ho DD. Increased viral burden and cytopathicity correlate temporally with CD4+ T-lymphocyte decline and clinical progression in human immunodeficiency virus type 1 infected individuals. *J Virol* 1993;67(4):1772-7.
24. Jordan CA, Watkins BA, Kufta C, Dubois-Dalcq M. Infection of brain microglial cells by human immunodeficiency virus type 1 is CD4 dependent. *J Virol* 1991;65(2):736-42.
25. Fouchier RA, Groenink M, Kootstra NA, Tersmette M, Huisman HG, Miedema F et al. Phenotype-associated sequence variation in the third variable domain of the human immunodeficiency virus type 1 gp120 molecule. *J Virol* 1992;66(5):3183-7.
26. De Jong JJ, De Ronde A, Keulen W, Tersmette M, Goudsmit J. Minimal requirements for the human immunodeficiency virus type 1 V3 domain to support the syncytium-inducing phenotype: analysis by single amino acid substitution. *J Virol* 1992;66(11):6777-80.
27. Milich L, Margolin B, Swanstrom R. V3 loop of the human immunodeficiency virus type 1 Env protein: interpreting sequence variability. *J Virol* 1993;67(9):5623-34.
28. Chesebro B, Wehrly K, Nishio J, Perryman S. Mapping of independent V3 envelope determinants of human immunodeficiency virus type 1 macrophage tropism and syncytium formation in lymphocytes. *J Virol* 1996;70(12):9055-9.
29. Zhu T, Mo H, Wang N, Nam DS, Cao Y, Koup RA et al. Genotypic and phenotypic characterization of HIV-1 patients with primary infection. *Science* 1993;261(5125):1179-81.
30. Koot M, Keet IP, Vos AH, de Goede RE, Roos MT, Coutinho RA et al. Prognostic value of HIV-1 syncytium-inducing phenotype for rate of CD4+ cell depletion and progression to AIDS. *Ann Intern Med* 1993;118(9):681-8.
31. Kozak SL, Platt EJ, Madani N, Ferro Jr FE, Peden K, Kabat D. CD4, CXCR-4 and CCR5 dependencies for infections by primary patient and laboratory-adapted isolates of human immunodeficiency virus type 1. *J Virol* 1997;71(2):873-82.
32. Hwang SS, Boyle TJ, Lyerly HK, Cullen BR. Identification of the envelope V3 loop as the primary determinant of cell tropism in HIV-1. *Science* 1991;253(5015):71-4.
33. Weller IV, Willians IG. ABC of AIDS. Antiretroviral drugs. *BMJ* 2001;322(7299):1410-2.
34. Ballard AL, Cane PA, Pillay D. HIV drug resistance: genotypic assays and their possible applications. *Sex Transm Infect* 1998;74(4):243-8.
35. D'Aquila RT. Limits of resistance testing. *Antivir Ther* 2000;5(1):71-6.
36. Richman DD. Principles of HIV resistance testing and overview of assay performance characteristics. *Antivir Ther* 2000;5(1):27-31.
37. Little SJ. Transmission and prevalence of HIV resistance among treatment-naive subjects. *Antivir Ther* 2000;5(1):33-40.
38. Chaix-Couturier C, Holtzer C, Phillips KA, Durand-Zaleski I, Stansell J. HIV-1 drug resistance genotyping. A review of clinical and economic issues. *Pharmacoeconomics* 2000;18(5):425-33.
39. Trachtenberg EA, Erlich HE. A review of the role of the human leukocyte antigen (HLA) system as a host immunogenetic factor influencing HIV transmission and progression to AIDS. *Role of HLA: reviews* 2001;P.I43-60.
40. Just JJ. Genetic predisposition to HIV-1 infection and acquired immune deficiency virus syndrome. *Hum Immunol* 1995;44(3):156-69.
41. Shearer GM, Clerici M. Protective immunity against HIV infection: has nature done the experiment for us? *Immunol Today* 1996;17(1):21-4.
42. Barbas CF^{3rd}, Collet TA, Amberg W, Roben P, Binley JM, Hoekstra D et al. Molecular profile of an antibody response to HIV-1 as probed by combinatorial libraries. *J Mol Biol* 1993;230(3):812-23.
43. Kwong PD, Wyatt R, Robinson J, Sweet RW, Sodroski J, Hendrickson WA. Structure of an HIV gp120 envelope glycoprotein in complex with the CD4 receptor and a neutralizing human antibody. *Nature* 1998;393(6686):648-59.
44. Choe H, Martin KA, Farzan M, Sodroski J, Gerard NP, Gerard C. Structural interactions between chemokine receptors, gp120 Env and CD4. *Semin Immunol* 1998;10(3):249-57.
45. Burton DR, Stanfield RL, Wilson IA. Antibody vs. HIV in a clash of evolutionary titans. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2005;102(42):14943-8.
46. Stanfield RL, Gorny MK, Williams C, Zolla-Pazner S, Wilson IA. Structural rationale for the broad neutralization of HIV-1 by human monoclonal antibody 447-52D. *Structure* 2004;12(2):193-204.
47. Trkola A, Purtscher M, Muster T, Ballaun C, Buchacher A, Sullivan N et al. Human monoclonal antibody 2G12 defines a distinctive neutralization epitope on the gp120 glycoprotein of human immunodeficiency virus type 1. *J Virol* 1996;70(2):1100-8.
48. Zwick MB, Labrijn AF, Wang M, Spenlehauer C, Saphire EO, Binley JM et al. Broadly neutralizing antibodies targeted to the membrane-proximal external region of human immunodeficiency virus type 1 glycoprotein gp41. *J Virol* 2001;75(22):10892-905.
49. Dean M, Carrington M, Winkler C, Huttley GA, Smith MW, Allikmets R et al. Genetic restriction of HIV-1 infection and progression to AIDS by a deletion allele of the CCR5 structural gene. Hemophilia Growth and Development Study, Multicenter AIDS Cohort Study, Multicenter Hemophilia Cohort Study, San Francisco City Cohort, ALIVE Study. *Science* 1996;273(5283):1856-62.
50. O'Brien SJ, Moore JP. The effect of genetic variation in chemokines and their receptors on HIV transmission and progression to AIDS. *Immunol Rev* 2000;177:99-111.

Correspondência:

Regiane Maria Tommasini Grotto
 Rua Raposo Tavares, 4-45 ap. 44
 17013-450 – Bauru – SP
 Tel: (14)3227-1639/9798-2603
 e-mail: regrotto@uol.com.br
