

NÁTALLI ZANETE PEREIRA

**EXPRESSÃO EX VIVO DE FATORES ANTIVIRAIS EM
MÃES INFECTADAS POR HIV-1 E RECÉM-NATOS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Imunologia do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo, para obtenção do Título de Mestre em Ciências.

Área de concentração: Imunologia

Orientadora: Dra. Maria Notomi Sato

Versão original

São Paulo
2013

RESUMO

ZANETE PEREIRA, N. **Expressão *ex vivo* de fatores antivirais em mães infectadas por HIV-1 e recém-natos**. 2013.71 f. Dissertação (Mestrado em Imunologia) - Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2013.

A transmissão vertical mãe-recém-nato é a principal fonte de infecção pediátrica. O tratamento antirretroviral vem reduzindo a transmissão vertical, mas também tem elevado o número de infantes expostos não infectados, os quais vêm mostrando maior risco de morbidade e mortalidade. Este dado salienta a importância de avaliar as características imunológicas, relacionadas à resposta inata no binômio mãe e recém-nato. A proposta do trabalho foi avaliar a expressão de fatores antivirais em mães infectadas por HIV e cordão umbilical (RN), comparadas com mães-RN controle não infectadas. Os fatores antivirais incluem peptídeos antimicrobianos, como as α 1-defensinas, proteínas endógenas antivirais, APOBEC (Apolipoproteína B)3F e APOBEC3G, TRIM (Tripartite Motif)-5 α , TRIM22, STING (gene estimulador de interferon), fatores induzidos por IFN tipo I, como MxA (de resistência A ao mixovírus), e as teterinas, os quais foram avaliados em células mononucleares (CMN), tecido placentário e no colostro. Os resultados mostram que a expressão APOBEC3G, APOBEC3F, TRIM-5 α , TRIM22, MxA e IFN- β estão aumentados em CMN de mães infectadas e RN expostos em relação ao grupo controle. Além disto, os RNs de mães infectadas por HIV mostram perfil de expressão de APOBEC3G, TRIM22, MxA e teterina similar ao seu grupo de mães. No RN, a expressão de α 1-defensina, foi superior ao grupo adulto. No tecido placentário, foi observada menor expressão da proteína APOBEC3G nas decíduas e de TRIM5 α nas faces fetais de mães infectadas comparadas às mães controles. Este dado revela que a infecção por HIV altera a expressão destes fatores na fase pós-traducional, mas não altera os níveis transcricionais. Nas células do colostro de mães infectadas foi detectado aumento da expressão de RNAm de teterina e IFN- β e, níveis reduzidos de RANTES. Além disso, os níveis séricos de IP-10, MCP-1, IL-8 e RANTES estiveram elevados nos RN expostos em relação ao grupo controle. Os dados mostram que há uma ativa expressão dos fatores antivirais, sejam constitutivos ou induzíveis por IFN, nas mães infectadas por HIV e nos RN expostos. No sítio de interface materno-fetal, decídua e face fetal da placenta, foi detectado um perfil alterado de expressão dos fatores antivirais, especialmente da proteína APOBEC3G. Apesar da relativa imaturidade imunológica dos RNs, a infecção materna por HIV gerou um perfil semelhante de expressão dos fatores antivirais nos RN, por uma complexa interação de fatores relacionados a gestação e a infecção.

Palavras-chave: Imunidade Inata. Fatores antivirais. HIV.

ABSTRACT

ZANETE PEREIRA, N. **Ex vivo expression of antiviral factors in mothers infected by HIV-1 and newborn.** 2013. 71 p. Thesis (Masters in Immunology) - Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2013.

Vertical transmission mother-newborn is the main source of pediatric infection. The antiretroviral therapy has reduced vertical transmission, but also has increased the number of exposed uninfected infants, which have shown increased risk of morbidity and mortality. This finding emphasizes the importance of evaluating the immunological characteristics, related to innate response in both the mother and newborn. The purpose of this study was to evaluate the expression of antiviral factors in HIV-infected mothers and umbilical cord (RN), compared with control mothers-uninfected infants. The antiviral factors, including antimicrobial peptide such as α 1-defensins, endogenous proteins antiviral APOBEC (apolipoprotein B) APOBEC3G and 3F, TRIM (Tripartite Motif) -5 α , TRIM22, STING (stimulator of interferon gene), induced by factors IFN type I as MxA (resistance A to mixovirus), and teterinas were assessed in mononuclear cells (MNC), placental tissue and colostrum. The results show that the expression of APOBEC3G, APOBEC3F, TRIM-5 α , TRIM22, MxA and IFN- β CMN are increased in infected mothers and infants exposed in the control group. Moreover, the newborns of mothers infected with HIV show expression profile of APOBEC3G, TRIM22, MxA and teterina similar to its group of mothers. In RN, the expression of α 1-defensin, was higher than the adult group. The placental tissue showed a shorter protein expression for APOBEC3G and TRIM5 α on fetal infected mothers compared with control mothers. This data shows that HIV infection alters the expression of these factors in the post-translational, but does not change the transcriptional levels. Colostrum cells from infected mothers showed increased expression of mRNA and IFN- β teterina and reduced levels of RANTES. Moreover, serum levels of IP-10, MCP-1, IL-8 and RANTES were higher in NB exhibited in the control group,. The data show that the active expression of antiviral factors, are constitutive or inducible by IFN in HIV-infected mothers and newborns exposed. At the site of maternal-fetal interface, decidua and placental villi, a profile was detected altered expression of antiviral factors, especially the APOBEC3G protein. Despite the relative immunological immaturity of the newborn, maternal HIV infection generated a similar profile of expression of antiviral factors in RN, by a complex interaction of factors related to pregnancy and infection

Keywords: Innate Immune. Antiviral Factors. HIV

1 INTRODUÇÃO

1.1 Epidemiologia da infecção

A infecção pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV), que causa a síndrome da imunodeficiência adquirida (aids), constitui num grande problema de saúde pública, com elevada taxa de morbidade e mortalidade. Estima-se que cerca de 33,4 milhões de pessoas estão infectadas com o HIV, sendo 15,7 milhões de pessoas compostas por mulheres e 2,1 milhões por crianças menores de 15 anos (UNAIDS, 2009). Em 2008, o total global de óbito de adultos e crianças a causas relacionadas à aids foi de 2 milhões, sendo que 1,4 milhão de mortes ocorreram na África Subsaariana. Nesta região há uma estimativa de 22,4 milhões de pessoas infectadas pelo HIV, sendo que 60% dos adultos são mulheres. Na Europa Oriental e Ásia Central o número de infectados pelo HIV aumentou de 900 mil em 2001 para 1,5 milhão em 2008 (UNAIDS, 2009).

Atualmente, estima-se que 2 milhões de pessoas estejam infectadas pelo HIV nos países latino-americanos. Desde 1980, no Brasil, foram identificados cerca de 608 mil casos da doença sendo 65,4% do sexo masculino e 34,6% do sexo feminino (Ministério da Saúde, 2011). Com a introdução do tratamento antirretroviral, que combina drogas com diferentes formas de ação (terapia antirretroviral altamente potente, HAART), houve uma importante queda na mortalidade no país, estabilizada para 6,4 óbitos por 100 mil habitantes (Ministério da Saúde, 2008).

O perfil de transmissão da doença em 1986 era de 15 homens para 1 mulher, atualmente, a relação é de 1,7 para 1, indicando uma mudança nos padrões de disseminação da infecção pelo HIV. O crescimento de casos de infecção pelo HIV entre mulheres consequentemente aumentou a transmissão vertical. Na África e na Ásia, a transmissão materno-fetal do vírus é maior, principalmente, na África subsaariana, sendo que mais de 40% das gestantes são infectadas pelo HIV e a grande maioria não recebe o tratamento antirretroviral, comprometendo a sobrevivência do infante (UNAIDS, 2009).

A transmissão vertical do HIV ocorre através da passagem do vírus da mãe para o recém-nato durante a gestação em 35% dos casos, ou 65% no parto, pelo contato com as secreções cervico-vaginais e sangue materno. Há também um risco

adicional de 7 a 22% de transmissão pelo aleitamento materno (Ministério da Saúde, 2007). A ausência da terapia antirretroviral pode contribuir para a infecção em 20 a 45% das crianças, com um risco estimado de 5 a 10% de infecção na gravidez, de 10-20% durante o trabalho de parto e de 5-20% pela amamentação. A utilização do regime profilático antirretroviral, contendo zidovudina, pode reduzir significativamente a infecção intrauterina e intraparto para até 8,3%. Entretanto, no período pós-natal, durante amamentação, é diminuída a eficácia de prevenção da infecção pelo HIV (CDC, 2007). Desta forma, a suspensão do aleitamento materno e a manutenção da quimioprofilaxia do neonato até quatro semanas de vida são recomendadas pelo Ministério da Saúde. O conhecimento precoce do estado sorológico da gestante para início oportuno da terapêutica materna e profilaxia da transmissão vertical é consenso do Ministério da Saúde do Brasil. A partir do ano 2000, a vigilância epidemiológica foi implantada no país, para estimar o número de gestantes infectadas e a taxa de transmissão vertical do HIV. No Brasil, foram notificados 41.777 casos de gestantes infectadas desde o ano de 2000 (Ministério da Saúde, 2008).

Crianças expostas e não infectadas pelo HIV representam quase 30% dos infantes nascidos na África, além disso, tem maiores índices de mortalidade que crianças nascidas de mães saudáveis, mesmo com padrões alimentares semelhantes (SHAPIRO et al., 2007). A exposição vertical do HIV oferece uma oportunidade única de investigação dos mecanismos imunológicos, de característica inata ou adaptativa, e dos fatores genéticos do hospedeiro para a proteção do HIV. Este fato desperta a atenção para avaliar quais são os fatores antivirais que podem estar ativamente expressos no hospedeiro. No Brasil, há uma importante adesão das mães infectadas por HIV ao tratamento antirretroviral, o que reduz significativamente a transmissão vertical. Contudo, o tratamento pode não prevenir a exposição da criança ao vírus, evento que pode ocorrer nos estágios iniciais de desenvolvimento fetal.

A relação materno-infante na infecção por HIV oferece a possibilidade de avaliar marcadores de proteção ou de suscetibilidade à infecção, em face à imaturidade imunológica e à terapia antirretroviral. Entre os mecanismos de ação antiviral, os fatores relacionados ao sistema imunológico inato chamam atenção no estudo da relação materno-fetal na infecção pelo HIV. A compreensão dos correlatos de proteção dos infantes mesmo em face ao tratamento antirretroviral poderão fornecer subsídios para desenvolver novas formulações de vacinas anti-HIV.

1.2 Características da infecção pelo HIV

O HIV-1 e HIV-2 diferem quanto à estrutura genômica e distribuição geográfica. Ambos causam síndromes semelhantes, embora o HIV-2 possua menor potencial patogênico (WYATT; SODROSKI, 1998). Variantes genômicas (subtipos), tanto de HIV-1 como de HIV-2, têm sido descritas em pacientes infectados procedentes de diferentes regiões do mundo (KORBER et al., 1995). Os isolados de HIV-1 são classificados em três grupos M (*major*), O (*outlier*), N (não M/não O) com variabilidade genética de até 30%. No grupo M identificam-se nove subtipos (A, B, C, D, E, F, G, H e I) e no grupo O apenas um. Em relação ao HIV-2 descrevem-se cinco subtipos: A, B, C, D, e E.

O HIV é um retrovírus com 110 nm de diâmetro, que apresenta material genético constituído de duas fitas simples de RNA, envolto pelo nucleocapsídeo. Como outros *Lentivirus*, o nucleocapsídeo apresenta uma estrutura cônica, sendo a proteína p24 sua principal constituinte, além das proteínas p6 e p9 que estão ligadas ao material genético. A superfície viral é constituída por um envoltório glicoproteico originado da membrana das células hospedeiras e que recobre o capsídeo viral (OZEL et al., 1988). Na parte externa do envelope viral são encontradas espículas glicoproteicas, responsáveis pela ligação do vírus aos receptores celulares. Essas glicoproteínas são derivadas da gp160, que é clivada no Complexo de Golgi da célula hospedeira, originando a gp 41 (transmembrana) e gp 120 (glicoproteína de superfície) que compõem os 72 trímeros ou tetrâmeros que recobrem o envelope.

O material genético é composto por duas fitas simples de RNA com 9,8 Kb. Há nove genes distintos: três estruturais: *env*, *pol* e *gag*; dois regulatórios *tat* e *rev*; e os genes acessórios (*nef*, *vif*, *vpr* e *vpu/vpx*). Nas extremidades 5' e 3' encontram-se longas repetições terminais ou LTRs (*long terminal repeats*).

As quimiocinas CCL3 (MIP-1 α), CCL3L1 (MIP-1 α P), CCL4 (MIP-1 β) e CCL5 (RANTES), que são ligante do CCR5, e a CXCL-12 (SDF-1) , ligante exclusivo do CXCR4, podem bloquear a entrada do HIV na célula do hospedeiro, pois competem com o mesmo sítio de ligação que o vírus (BERGER et al., 1999). Variantes genéticas de quimiocinas e seus receptores, que naturalmente ocorrem no hospedeiro, in-

fluenciam a resposta imune ao HIV e conseqüentemente na progressão da infecção para a aids (REICHE et al., 2007).

Os mecanismos de entrada do HIV são diversos e algumas moléculas são relacionadas com a suscetibilidade para entrada do vírus, como a lecitina tipo C DC-SIGN, a Syndecan-3 e a DCIR. Estas moléculas são expressas em células dendríticas (DCs) que capturam o HIV-1 em decorrência da sua alta afinidade com as moléculas de gp120 presentes no envelope do vírus (DE WITTE et al., 2007; LAMBERT et al., 2008). Como as DCs estão presentes nos tecidos de mucosa, sítio de entrada do vírus, tem sido proposto que o HIV utiliza as DC da mucosa genital como primeiro alvo contribuindo para disseminação viral (DE WITTE et al., 2008). Além disto, no tecido linfoide associado ao intestino (GALT), ocorre a disseminação do HIV e intensa depleção das células T CD4+, contribuindo para a disfunção imunológica (MEHANDRU et al., 2004; JIANG et al., 2005). A gp120 do HIV pode ligar-se à integrina $\alpha 4\beta 7$ dos linfócitos, molécula que medeia a migração dos linfócitos para o GALT. O engajamento da integrina com o HIV induz a ativação da integrina LFA-1, envolvida na sinapse virológica, facilitando assim a disseminação do HIV-1 (ARTHOS et al., 2008). As lectinas ligadoras do HIV também podem influenciar na transmissão vertical do vírus, considerando que estas moléculas são expressas por macrófagos fetais (células de Hofbauer) e por macrófagos maternos da decídua (BARRÉ-SINOUSI et al., 1997).

Durante a infecção primária ou aguda do HIV-1 a replicação viral é intensa, levando a um importante aumento da carga viral seguido por um declínio relativo na viremia, devido a uma forte resposta de células T citotóxicas específicas para o HIV-1. Com a resolução da fase aguda, ocorre a estabilização da viremia em níveis variáveis (*set points*), definidos pela velocidade da replicação e *clearance* viral, iniciando deste modo a fase assintomática da síndrome (DAVEY et al., 1999). A infecção crônica pelo HIV é caracterizada por uma ativação imunológica persistente e pelo escape do vírus da resposta imunológica. A ativação crônica das células imunocompetentes pode levar à apoptose dessas células e evolução para a depressão do sistema imunitário, sendo que este processo diminui rapidamente com o início da terapia antirretroviral. Quando não ocorre o uso de antirretrovirais, pode ter início a fase sintomática da doença.

Os infectados crônicos pelo HIV-1 que possuem a capacidade de manter o número de células T CD4+ normal por um período prolongado (> 10 anos), são denominados de não progressores por longo tempo. Alguns dos não progressores podem ter viremia não detectável, mas a maioria possui carga viral detectável. Já um sub-grupo dos não progressores faz parte de uma reduzida população, denominado de controladores de elite, permanecem com viremia indetectável por ensaios padrões (< 50 cópias RNA/ml) por longo tempo, na ausência de antirretroviral (DEEKS; WALKER, 2007).

A infecção aguda pelo HIV em crianças caracteriza-se por elevada carga viral que pode permanecer acima de 100.000 cópias/mL no primeiro ano de idade e que diminui vagarosamente em 2 a 3 anos nas crianças sobreviventes (RICHARDSON et al., 2003). O *set-point* viral é mais elevado em crianças do que em adultos, consistente com progressão mais rápida da doença. Na ausência de uma terapia eficaz, aproximadamente 10-15% morrem no primeiro ano de vida (PLINER et al., 1998). Há dois tipos de perfis de progressão clínica na infecção vertical, algumas crianças progredem rapidamente desenvolvendo um curso rápido da doença nos primeiros meses de idade (BLANCHE et al., 1990), e a maioria desenvolve um curso crônico com vários padrões da doença (MAYAUX, 1996). Os progressores lentos podem desenvolver sinais clínicos e alterações imunológicas após 2-3 anos de idade, e incluem os que sobrevivem mais do que 8 anos após a transmissão vertical. Alterações estruturais e funcionais nos genes *nef* do HIV (GEFFIN et al., 2000), bem como defeito no alelo de CCR5 (CCR5 Δ 32) (ROUSSEAU et al., 1997), têm sido correlacionados com crianças não progressoras por longo tempo. Além disto, marcadores imunológicos, como presença de menos que 5 % de células T CD8+ HLA-DR+ em crianças com um ou dois meses de idade, têm sido descritos como fator preditivo para não progressores por longo tempo (PAUL et al., 2005).

Além dos mecanismos imunológicos, as características genéticas do hospedeiro, como os haplótipos de HLA, são importantes para o controle do vírus na infecção por HIV-1, por sua influência nas respostas citotóxicas mediadas por células T CD8+ e células NK. Os alelos de HLA B14, B27, B51, B57 e C8 estão associados com uma progressão mais lenta da doença, enquanto a presença de HLA A23, B37 e B49 com o desenvolvimento rápido da imunodeficiência (WINCHESTER et al., 2004).

1.3 Imunopatogênese na infecção pediátrica

Os mecanismos relacionados à imunopatogênese da infecção pediátrica por HIV não estão completamente esclarecidos, mas agravam-se em consequência da imaturidade imunológica encontrada no neonato. São várias as diferenças imunológicas dos recém-natos em relação aos adultos, sejam qualitativas ou quantitativas (DE BRITO et al., 2009; RIGATO et al., 2009). No período neonatal, a produção de anticorpos aos antígenos T dependentes é mais tardia, de curta duração e de menor afinidade do que o encontrado em adultos (ADKINS et al., 2004). A baixa produção de anticorpos nesta fase de vida pode ser atribuída às diferenças fenotípicas e funcionais das células B ou pela falta de um microambiente anatômico apropriado para a interação entre as células T e B, ou pela deficiente expressão do membro da família de TNFR, TACI (*transmembrane activator and calcium-modulator and cytophilin ligand interactor*) nas células B. A produção deficiente de anticorpos de IgG2 está relacionada com a baixa resposta aos antígenos T independentes, como os polissacarídeos da parede bacteriana, podendo resultar em infecções persistentes e recorrentes em infantes (NAHMIAS; KOURTIS, 1997).

As células T CD8+ de neonatos humanos e murinos, em circunstâncias seletivas, parecem ser capazes de desenvolver função citotóxica madura. Células de cordão umbilical são capazes de estabelecer resposta citotóxica quando transferidas em camundongos após uma semana do desafio com células alogênicas irradiadas (MARCUS et al., 2002). A resposta T citotóxica neonatal pode ser gerada na presença de agentes promotores de resposta Th1 ou por indutores potentes de ativação de células apresentadoras de antígeno (APC). As DCs são APCs profissionais que exercem um papel central na iniciação da resposta imune aos antígenos, estimulando tanto as células T CD4+ e T CD8+ *naive*. As DCs imaturas, após a estimulação com lipopolissacarídeos, citocinas ou outros estímulos, aumentam a expressão de moléculas de classe II do Complexo Principal de Histocompatibilidade (MHC) e de moléculas co-estimuladoras, tornam-se células maduras capazes de apresentar antígenos e ativar os linfócitos T com extraordinária eficiência.

Na ausência de terapia antirretroviral, crianças que são expostas ao vírus e que não são infectadas constituem a maioria dos casos. Em mais de 1/3 destas crianças pode-se detectar proliferação e produção de IL-2 pelas células do cordão um-

bilical e do sangue periférico em resposta a vários antígenos do HIV (KUHN et al., 2002). Algumas crianças expostas não infectadas podem gerar resposta T citotóxica aos epítomos de HIV, mas em baixa frequência. Estas crianças mostram elevação do número das populações de células T CD4+ ativadas (CD4+ CD38+ HLA DR+) e células de memória (CD4+ CD45RO+), produção reduzida de IL-2 (RICH et al., 1997) e elevada de IFN- γ e IL-10 (KUHN et al., 2001) induzidas por estímulo não específico. Em contraste, outro relato mostra que os neonatos expostos ao HIV e não infectados, cujas mães estiveram sob tratamento antirretroviral durante a gestação, podem mostrar ausência de reatividade aos antígenos de HIV, mas uma produção dominante de IL-4 e IL-10 a um estímulo policlonal quando proveniente de mães com carga viral indetectável (<80 cópias de HIV-1 RNA/mL), enquanto os neonatos de mães com carga viral detectável produzem mais IFN- γ e TNF- α (BENTO et al., 2009; HYGINO et al., 2008;).

Além disto, as crianças expostas não infectadas possuem elevado número de células com características reguladoras com fenótipo CD4+CD25+CD127+ e um baixo nível de ativação das células T CD4+ e T CD8+ do cordão umbilical (LEGRAND et al., 2006). Experimentos de depleção *in vitro* das células T reguladoras mostram potencialização da resposta celular Ag específica, o que sugere que estas células *in utero* podem reduzir a ativação das células T e contribuir para a proteção da transmissão vertical do vírus.

Em conjunto, estes dados mostram presença de resposta imune antígeno-específica em crianças expostas ao HIV que não apresentam infecção ativa, o que reforça a hipótese de que estas crianças podem ter sido infectadas, uma vez que a houve geração de resposta imunológica antígeno-específica.

1.4 A resposta inata: fatores antivirais

A relativa imaturidade imunológica na fase neonatal, somada a ausência de resposta de memória propicia um lento desenvolvimento e baixa magnitude da resposta imunológica, tornando os infantes suscetíveis a várias infecções bacterianas e virais. O período neonatal pode representar uma fase única de desenvolvimento em que as respostas apresentam importante plasticidade, mas que podem se restringir devido sua susceptibilidade a tolerância (ADKINS et al., 2004). Esta plasticidade i-

munológica no período precoce de vida desperta o interesse em estratégias para estimular as células envolvidas na resposta imune inata para influenciar no desenvolvimento da resposta adaptativa. Assim, até estabelecer uma resposta adaptativa adequada, é vital a atuação de componentes celulares ou excretados, sobretudo os que possuem atividade antiviral.

Entre os vários fatores naturais, é bem conhecido o papel do interferon tipo I nas infecções virais, considerado um potente inibidor da infecção pelo HIV-1 em macrófagos CCR5+CD4+ (MEYLAN et al., 1993). Outros fatores de resposta inata, em conjunto, podem ativamente atuar na prevenção de infecções virais. Entre os fatores que possuem atividade contra o HIV, incluem os peptídeos catiônicos, denominados alfa e beta defensinas (GANZ, 2003), as proteínas intracelulares, como a citidina desaminase, APOBEC, a proteína TRIM (*tripartite motif*) 5 α (LEHNER et al., 2008) e TRIM22, reconhecidas como fatores de restrição, e também uma proteína de membrana, a teterina. Além disto, apesar desses fatores atuarem em distintas fases do ciclo viral, a maioria é induzível pelo IFN-tipo I, que potencializa um conjunto de fatores durante a resposta antiviral. A função antiviral natural destes componentes, em associação aos fatores genéticos do hospedeiro, são elementos vitais a serem analisados na interação materno-fetal na infecção por HIV, para entender o perfil desses fatores no período neonatal. Além disto, no binômio mãe-filho e seus sítios, como tecido placentário e leite materno, há escassas evidências destes fatores endógenos antivirais.

1.4.1 Defensinas

As defensinas humanas são peptídeos catiônicos com peso molecular de 3 a 5 KDa que agem como antimicrobianos naturais, produzidas principalmente por leucócitos e células epiteliais, que atuam contra bactérias gram positivas e negativas, fungos e vírus (GANZ et al., 1985; NAKASHIMA et al., 1993). As defensinas são capazes de bloquear a infecção viral atuando diretamente no vírion ou afetando a célula alvo e, assim, interferindo indiretamente na infecção (KLOTMAN; CHANG, 2006). São expressas constitutivamente nas células da mucosa oral de indivíduos saudáveis e em baixas concentrações em indivíduos infectados por HIV (SUN et al., 2005).

As defensinas são divididas em três subgrupos: α , β e θ -defensinas dependendo do tamanho, distribuição e padrão de ligação das pontes intramoleculares de dissulfeto (GANZ et al., 1985). As α -defensinas são subdivididas em seis grupos, de 1-4 são chamadas de peptídeos de neutrófilos humanos (HNP), pois são, principalmente, expressas por neutrófilos. São sintetizadas por promielócitos, precursores dos neutrófilos na medula óssea, e são estocadas como peptídeos maduros em grânulos primários de neutrófilos (GANZ et al., 1985). Já as α -defensinas 5 e 6 são produzidas principalmente pelas células de *Paneth* do trato intestinal, mas também são secretadas por células do trato genital feminino, glândulas salivares e do intestino grosso inflamado (FELLERMANN; STANGE, 2001); (QUAYLE et al., 1998).

Além disto, tem sido descrito em indivíduos infectados por HIV não progressores por longo prazo (ZHANG et al., 2002) uma elevada produção de α -defensinas por linfócitos T CD8+, que possuem ação antiviral por estimular a CAF – fator solúvel liberado pelo T CD8+ que inibe a transcrição do HIV. Entretanto, esses dados foram contestados por Mackewicz e colaboradores em 2003, que mostraram que as células T CD8+ não produzem esse peptídeo.

As HNPs, *in vitro* e na ausência de soro, inativam o vírus diretamente causando um rompimento em sua membrana e, conseqüentemente, inviabilizando sua entrada na célula (CHANG et al., 2005). Já na presença de soro, agem em células infectadas bloqueando a etapa da transcrição reversa, vital para a replicação viral. Além disso, em macrófagos, as HNPs aumentam a expressão de quimiocinas, como MIP-1 α e MIP-1 β que irão competir com os mesmos receptores de entrada do HIV-1 (GUO et al., 2006).

Quanto às β defensinas (HBD), 28 formas foram descritas, sendo a HBD1 expressa constitutivamente pelas células epiteliais (KRISANAPRAKORNKIT et al., 1998), e a HBD2 expressa em monócitos, macrófagos e DCs (SØRENSEN et al., 2005). A HBD2 e HBD3 são produzidas em resposta a vírus, bactérias, produtos microbianos e citocinas pró-inflamatórias (HARDER; MCGOWAN, 2001).

A produção de α -defensinas por mDC está reduzida nos últimos estágios de gestação em 40% das mulheres, período em que os níveis de estrógeno estão bem elevados (ESCRIBESE et al., 2011). A presença de RNAm de HNP 1 e 3 é identificada no âmnion, fluidos amnióticos, córion e placenta (SVINARICH et al., 1997) e (AKINBI et al., 2004), de HBD1 na placenta (ZHAO et al., 1996) e de HBD1-3 no

sinciotrofoblasto (KING et al., 2007). A expressão constitutiva desses fatores tem função de proteger a cavidade uterina contra infecções e o recém-nato no momento do parto. A concentração de HNP em fluidos amnióticos e no plasma materno tem sido usada como biomarcador, sendo preditivo para o diagnóstico de inflamação intrauterina (BUHIMSCHI et al., 2005).

Além disso, níveis detectáveis de α 1-defensinas no leite de gestantes do Quênia infectadas pelo HIV-1 mostram correlação com carga viral, como também com mastite e aumento de quimiocinas (BOSIRE et al., 2007). Na placenta de mães infectadas por HIV há aumento de expressão de HBD-1 e diminuição de HBD-3 em relação às de mães controles não infectadas (AGUILAR-JIMÉNEZ et al., 2011). O promotor de HBD-3 possui um sítio funcional de ligação para a proteína ativadora 1 (AP-1) que pode ser inibida pela sinalização de outras vias, como a de TLR2 (MENZIES; KENOYER, 2006). Como todos os TLRs são expressos em placenta humana (PATNI et al., 2009), é possível que a regulação negativa de HBDs na infecção HIV-1 pode ser decorrente da ativação de outras vias de sinalização, tais como o AP-1.

1.4.2 Proteínas TRIMs

A proteína TRIM (Tripartite Motif) pertence a uma família com mais de 100 membros em humanos, e também é denominada como RBCC por possuir uma arquitetura tríplice conservada que consiste no domínio RING (*Really Interesting New Gene*) seguido por 1 ou 2 ligações de zinco nomeadas B-box e a região coiled coil (SAWYER et al., 2007; RAHM; TELENTI, 2012). A RBCC é geralmente seguida por um ou dois domínios C-terminais que são específicos para cada TRIM (NISOLE et al., 2005). Aproximadamente 60% das proteínas TRIM possuem o domínio SPRY, uma proteína transmembrana pertencente à superfamília das imunoglobulinas com cerca de 140-200 aminoácidos (PONTING et al., 1997).

As proteínas TRIM podem se localizar na região citoplasmática (TRIM5) ou nuclear da célula (TRIM19) agindo principalmente em processos constitutivos como apoptose, transcrição, diferenciação e regulação da progressão do ciclo celular (MERONI; DIEZ-ROUX, 2005). Um grupo dessas proteínas possui atividades antivirais, principalmente para os retrovírus. A TRIM19, por exemplo, é capaz de inibir ci-

tomegalovírus, herpes tipo I, ebola, HIV, entre outros (BJÖRNDAL et al., 2003) (EVERETT; CHELBI-ALIX, 2007). A TRIM5 α é uma proteína citoplasmática amplamente expressa em muitos tecidos e é codificada por um gene localizado no cromossomo 11 (REYMOND et al., 2001; SAWYER et al., 2007). Utiliza as vias de sinalização, NF κ B e AP-1 e é positivamente regulada pelo IFN tipo I (PERTEL et al., 2011). Localiza-se em vesículas citoplasmáticas, reconhece o capsídeo nuclear do vírus nas células recém-infectadas e bloqueia a replicação viral durante a fase pós-entrada, antes da transcrição reversa (HATZIOANNOU et al., 2004) (OZATO et al., 2008).

Níveis elevados de expressão de TRIM5 α têm sido descritos em indivíduos infectados por HIV em relação a controles (SEWRAM et al., 2009). O aumento da expressão de TRIM5 α foi detectado em mulheres, que não soro converteram mesmo após 2 anos de alto risco de infecção, em relação às mulheres de mesmo risco que adquiriram a infecção, sugerindo que a expressão está relacionada com a redução da susceptibilidade à infecção, mas que não contribuiu para o controle primário da viremia (SEWRAM et al., 2009). Além disso, estudos revelam que não há relação da expressão do fator com a progressão da doença (GOLDSCHMIDT et al., 2006).

O TRIM22 também tem mostrado importante efeito antiviral, incluindo contra o HIV, no qual atua bloqueando a liberação do vírus da célula hospedeira, ligando-se especificamente à partícula gag do HIV (BARR et al., 2008). A expressão de TRIM22 está aumentada em CMN de indivíduos infectados, sendo positivamente regulada por IFN tipo I, assim como para o TRIM5 α (BARR et al., 2008). Além disso, quando a expressão de TRIM22 é silenciada, na presença de IFN, há um aumento na infecção e maior saída de vírus da célula (SINGH et al., 2011).

1.4.3 APOBEC

Outra proteína que atua na defesa antiviral são as Apolipoproteína B – APOBEC – proteínas da família das citidinas desaminases que incluem 11 membros em humanos: APOBEC1, APOBEC2, APOBEC3A, APOBEC3B, APOBEC3C, APOBEC3DE, APOBEC3F, APOBEC3G, APOBEC3H, APOBEC4 e AID (ativação de desaminase induzida) (BISHOP et al., 2004). Estas proteínas são produzidas por linfócitos T, monócitos, macrófagos e DCs e fazem parte da resposta imunológica

inata na defesa antiviral, particularmente dos retrovírus. A APOBEC3G e APOBEC3F são consideradas as mais eficientes no controle antiviral (DANG et al., 2006).

A APOBEC, comumente presente no citoplasma, reconhece o RNA viral e promove em suas porções terminais, uma hipermutação, removendo um grupo amina das citosinas convertendo-as em uracilas (DANG et al., 2006). Esta alteração, impossibilita a integração do pró-vírus com o genoma do hospedeiro. Estas mutações também podem ocorrer de maneira inespecífica, inviabilizando uma nova infecção por este vírion (HOLMES et al., 2007) ou, podem ainda, beneficiar o HIV, como no caso da mutação H168R que proporciona uma melhora no *fitness* viral favorecendo a progressão da doença (AN et al., 2004).

Entretanto, os níveis de hipermutações não estão correlacionados com a carga viral de indivíduos infectados por HIV, sugerindo que APOBEC restringe a infecção por uma via independente (ULENGA et al., 2008). De fato, a APOBEC pode exercer atividade inibitória na transcrição reversa do vírus, interferindo no iniciador tRNA^{Lys-3} impedindo a polimerização da fita (GUO et al., 2006).

O escape do vírus ao fator antiviral, no caso do HIV, é mediado pela proteína acessória Vif - fator de infectividade viral –que utiliza proteínas celulares para promover a degradação da APOBEC por ubiquitinação. O vif atua como um adaptador de proteínas conectando a APOBEC ao complexo ubiquitina E3 ligase, que inclui EloginB, EloginC, Cullin5 e Rbx-1 favorecendo a degradação da APOBEC através do sistema ubiquitina-proteossoma (MEHLE et al., 2004). Na família de APOBEC, o vif possui maior atividade contra APOBEC3G (BINKA et al., 2012).

Em indivíduos expostos e não infectados por HIV há um aumento da expressão de APOBEC3G em CMN purificadas, principalmente CD14+, e em tecidos cervicais, quando comparados com um grupo saudável (BIASIN et al., 2007).

A relação de agentes antivirais endógenos na proteção da infecção vertical pelo HIV-1 mostra que a expressão de RNAm para APOBEC e TRIM5 α não difere entre os infantes nascidos de mães infectadas, com carga viral indetectável aos 18 meses de idade, em relação ao grupo controle, sugerindo que não há influência destes fatores na proteção da transmissão vertical (VIGANO et al., 2007). Na transmissão vertical, a exposição *in útero* do HIV-1 pode resultar em um *imprint* de longa duração no sistema imune, contudo é importante avaliar a expressão destes fatores

representativos do recém-nato (cordão umbilical) e da mãe. É possível que o tratamento antiviral possa alterar a expressão destes agentes antivirais endógenos, entretanto, são tópicos que exigem maiores avaliações.

1.4.4 Teterina

A teterina, também conhecida como BST-2, HMI.24 e CD317 é uma proteína transmembrana cuja expressão é induzida pelo IFN- α , e atua contra diversos vírus envelopados, como retrovírus (HIV-1, HIV-2, SIV, HTLV-I, MLV, EIAV, e XMRV), filovírus (Ebola e Marburg) (JOUVENET et al., 2009) entre outros (VAN DAMME et al., 2008). É codificada pelo gene *bst-2*, localizado no cromossomo 19 e é expressa constitutivamente por linfócitos B, linfócitos T, monócitos, macrófagos, pDCs e em diversas linhagens tumorais (BLASIUS et al., 2006; MIYAGI et al., 2009).

O mecanismo de ação da teterina é restringir os vírions de diversos vírus envelopados de células infectadas, impedindo sua liberação e propagação (NEIL et al., 2008). Os vírions retidos podem ser endocitados e degradados pela interação da porção citoplasmática com ubiquitinas ligases, ou permanecer na superfície celular tornando-se pouco infecciosos mesmo durante a transmissão célula a célula (NEIL et al., 2006). A expressão da teterina é prevalentemente nos sítios de brotamento, o que possibilita incorporar totalmente ao vírion, de maneira independente de outro co-fator celular (PEREZ-CABALLERO et al., 2009).

A *vpu*, uma proteína acessória do HIV, tem a função de degradar o receptor CD4 e de inibir a ativação de NF κ B (BOUR et al., 2001) , possui um papel essencial no escape à ação da teterina, antagonizando sua função e modulando negativamente sua expressão (DUBÉ et al., 2010). Também pode levar a degradação proteossomal, via β -TrCP (proteínas com repetições de beta transducina) (MANGEAT et al., 2009). A remoção adequada de teterina da membrana plasmática por *Vpu*, requer a proteína celular β -TrCP, um substrato adaptador para o complexo ubiquitina ligase (DOUGLAS et al., 2009).

Os níveis de teterina estão aumentados de 2 a 3 vezes na fase aguda da infecção por HIV e também em infectados crônicos comparados com indivíduos controle (HOMANN et al., 2011). Entretanto, em indivíduos tratados com antirretrovirais há diminuição da expressão de teterina a níveis similares de indivíduos não infecta-

dos (HOMANN et al., 2011). Esses achados revelam que a diminuição da viremia no plasma, pela terapia antirretroviral, diminui a resposta imune inata, a produção de IFN e conseqüentemente a expressão de teterina.

Além disto, estimulação, *in vitro*, de CMN de indivíduos saudáveis com agonistas de TLR 3 e 9 aumentam significativamente a expressão de teterina a níveis similares aos indivíduos na fase crônica da doença (HOMANN et al., 2011).

1.4.5 STING

STING (gene estimulador de interferon), também chamado de TMEM317, é uma molécula de sinalização da resposta imune inata frente a ácidos nucleicos citosólicos, principalmente dsDNA (fita dupla de DNA) e dinucleotídeos cíclicos (ISHIKAWA; BARBER, 2008). E foi primeiramente descrita por interagir com as moléculas de classe II do MHC (JIN et al., 2008). Entretanto, estudos subsequentes salientam o seu papel como indutor transcricional de interferon tipo I e identificam sua importância em resposta a patógenos virais e bacterianos e por desencadear doenças auto-imunes pelo reconhecimento do DNA próprio (ISHIKAWA et al., 2009). O STING é expresso principalmente no timo, coração, pulmão, baço, placenta e leucócitos periféricos com expressão localizada no retículo endoplasmático (ZHONG et al., 2008).

Após o reconhecimento dos ácidos nucleicos, STINGs diméricos expõem sua porção carboxi-terminal, que interage com TBK1, e são relocados em compartimentos ainda não conhecidos. O TBK1, por sua vez, interage e fosforila IFR3, o que induz sua dimerização e translocação para o núcleo, culminando na transcrição de interferon e outros genes correguladores (WATSON et al., 2012). O complexo STING-TBK1 também pode recrutar fatores autofágicos (SAITOH et al., 2009), ou ainda, ativar a via STAT6 induzindo a produção de CCL2 e CCL20 (CHEN et al., 2011). Não há referências relacionando o STING com a infecção pelo HIV, nem tampouco com a transmissão vertical do vírus, o que salienta a necessidade de se estudar os possíveis mecanismos envolvidos nesse processo.

1.4.6 IFN tipo I e MxA

A dosagem sérica de IFN- α e/ou expressão de IFN- α pode ser utilizada como marcador de progressão de doença ao HIV ou de falha terapêutica (BADOLATO et al., 2008). Níveis elevados são detectáveis na infecção aguda (VON SYDOW et al., 1991), e baixos na infecção crônica pelo HIV, devido a meia vida curta ou devido a rápida ligação no receptor. Em crianças infectadas por HIV são detectados baixos níveis séricos de IFN- α , mas elevados níveis de RNAm de IFN- α nas células do sangue periférico, o que sugere que as pDC estão em estado ativo e potencialmente capazes de secretar a citocina (BADOLATO et al., 2008). Um dos marcadores de resposta ao IFN- α é a proteína antiviral MxA, de resistência A ao mixovírus, que é induzível por IFN- α e IFN- β e pode inibir a replicação viral (CHING et al., 2010). Em crianças infectadas por HIV, há uma correlação direta da expressão de MxA e cópias de RNA ao HIV RNA sugerindo que a carga viral elevada pode influenciar a indução de RNAm para MxA (BADOLATO et al., 2008).

Em indivíduos infectados por HIV, há aumento na expressão de RNAm de IFN- β e MxA em CMN em comparação com indivíduos saudáveis (SINGH et al., 2011) . Esse resultado não corresponde com os achados para IFN- α que não tiveram diferença estatística entre os mesmos grupos, indicando um importante papel de IFN- β no controle da infecção (SINGH et al., 2011) .

O IFN tipo I influencia na regulação positiva de vários fatores antivirais, como APOBEC, TRIM, teterina e MxA. A expressão de IFN- tipo I e MxA, correlaciona positivamente com TRIM22 em uma coorte de mulheres africanas com alto risco para a infecção por HIV, mas não com a expressão de TRIM5 α em CMN, sugerindo que oTRIM22 atua como efetor antiviral *in vivo* (SINGH et al., 2011) .

6 CONCLUSÃO

Os resultados permitiram concluir que:

- as mães infectadas por HIV e os RN expostos possuem intensa expressão de fatores antivirais, em níveis similares entre eles. Esses dados evidenciam que houve exposição *in utero* aos fatores indutores da imunidade inata antiviral e que os RNs são potencialmente capazes de expressá-los;
- a placenta, órgão de interface materno-fetal e sítio de privilégio imunológico, expressa elevados níveis transcricionais dos fatores antivirais, seja na decídua ou face fetal. Entretanto, há um déficit na expressão proteica, para APOBEC 3G e TRIM5 α , o que indica um distúrbio pós-traducional neste compartimento;
- a alteração dos níveis das quimiocinas RANTES, MCP-1 e IL-8 séricas, nos RN expostos e no colostro de mães infectadas, pronunciam uma tentativa de escape viral;
- é possível que a expressão dos fatores antivirais constitutivos ou induzíveis nas mães infectadas por HIV seja correlato de proteção à infecção e, em face ao tratamento antirretroviral, a exposição viral induza precocemente a resposta inata antiviral do feto.

REFERÊNCIAS*

ADKINS, B. et al. Neonatal adaptive immunity comes of age. Nat Rev Immunol, v. 4, n. 7, p. 553-564. 2004.

AGUILAR-JIMÉNEZ, W. et al. Differential expression of human beta defensins in placenta and detection of allelic variants in the DEFB1 gene from HIV-1 positive mothers. Biomedica, v. 31, n. 1, p. 44-54. 2011.

AKINBI, H. T. et al. Host defense proteins in vernix caseosa and amniotic fluid. Am J Obstet Gynecol, v. 191, n. 6, p. 2090-2096. 2004.

AN, P. et al. APOBEC3G genetic variants and their influence on the progression to AIDS. J Virol, v. 78, n. 20, p. 11070-11076. 2004.

ARTHOS, J. et al. HIV-1 envelope protein binds to and signals through integrin alpha4beta7, the gut mucosal homing receptor for peripheral T cells. Nat Immunol, v. 9, n. 3, p. 301-309. 2008.

BADOLATO, R. et al. Type I interferon-dependent gene MxA in perinatal HIV-infected patients under antiretroviral therapy as marker for therapy failure and blood plasmacytoid dendritic cells depletion. J Transl Med, v. 6, p. 49. 2008.

BARR, S. D. et al. The interferon response inhibits HIV particle production by induction of TRIM22. PLoS Pathog, v. 4, n. 2, p. e1000007. 2008.

BARRÉ-SINOUSI, F. et al. Characterization and titration of an HIV type 1 subtype E chimpanzee challenge stock. AIDS Res Hum Retroviruses, v. 13, n. 7, p. 583-591. 1997.

BENTO, C. A. et al. IL-10-secreting T cells from HIV-infected pregnant women downregulate HIV-1 replication: effect enhanced by antiretroviral treatment. AIDS, v. 23, n. 1, p. 9-18. 2009.

BERGER, E. A. et al. Chemokine receptors as HIV-1 coreceptors: roles in viral entry, tropism, and disease. Annu Rev Immunol, v. 17, p. 657-700. 1999.

BIASIN, M. et al. Apolipoprotein B mRNA-editing enzyme, catalytic polypeptide-like 3G: a possible role in the resistance to HIV of HIV-exposed seronegative individuals. J Infect Dis, v. 195, n. 7, p. 960-964. 2007.

BINKA, M. et al. The activity spectrum of Vif from multiple HIV-1 subtypes against APOBEC3G, APOBEC3F, and APOBEC3H. J Virol, v. 86, n. 1, p. 49-59. 2012.

BISHOP, K. N. et al. Cytidine deamination of retroviral DNA by diverse APOBEC proteins. Curr Biol, v. 14, n. 15, p. 1392-1396. 2004.

BJÖRNDAL, A. S. et al. Ebola virus infection inversely correlates with the overall expression levels of promyelocytic leukaemia (PML) protein in cultured cells. BMC Microbiol, v. 3, p. 6. 2003.

BLANCHE, S. et al. Longitudinal study of 94 symptomatic infants with perinatally acquired human immunodeficiency virus infection. Evidence for a bimodal expression of clinical and biological symptoms. Am J Dis Child, v. 144, n. 11, p. 1210-1215. 1990.

*De acordo com:

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 6023**: informação e documentação: referências: elaboração. Rio de Janeiro, 2002

BOSIRE, R. et al. Longitudinal comparison of chemokines in breastmilk early postpartum among HIV-1-infected and uninfected Kenyan women. Breastfeed Med, v. 2, n. 3, p. 129-138. 2007.

BOUR, S. et al. The human immunodeficiency virus type 1 Vpu protein inhibits NF-kappa B activation by interfering with beta TrCP-mediated degradation of I kappa B. J Biol Chem, v. 276, n. 19, p. 15920-15928. 2001.

BUHIMSCHI, I. A. et al. Proteomic biomarker analysis of amniotic fluid for identification of intra-amniotic inflammation. BJOG, v. 112, n. 2, p. 173-181. 2005.

CAMPBELL, G. R. et al. Tat mutations in an African cohort that do not prevent transactivation but change its immunogenic properties. Vaccine, v. 25, n. 50, p. 8441-8447. 2007.

CHANG, T. L. et al. Dual role of alpha-defensin-1 in anti-HIV-1 innate immunity. J Clin Invest, v. 115, n. 3, p. 765-773. 2005.

CHEN, H. et al. Activation of STAT6 by STING is critical for antiviral innate immunity. Cell, v. 147, n. 2, p. 436-446. 2011.

CHING, J. C. et al. Significance of the myxovirus resistance A (MxA) gene -123C>a single-nucleotide polymorphism in suppressed interferon beta induction of severe acute respiratory syndrome coronavirus infection. J Infect Dis, v. 201, n. 12, p. 1899-1908. 2010.

CINQUE, P. et al. Elevated cerebrospinal fluid levels of monocyte chemotactic protein-1 correlate with HIV-1 encephalitis and local viral replication. AIDS, v. 12, n. 11, p. 1327-1332. 1998.

COCCHI, F. et al. Identification of RANTES, MIP-1 alpha, and MIP-1 beta as the major HIV-suppressive factors produced by CD8+ T cells. Science, v. 270, n. 5243, p. 1811-1815. 1995.

DANG, Y. et al. Identification of APOBEC3DE as another antiretroviral factor from the human APOBEC family. J Virol, v. 80, n. 21, p. 10522-10533. 2006.

DAVEY, R. T. et al. HIV-1 and T cell dynamics after interruption of highly active antiretroviral therapy (HAART) in patients with a history of sustained viral suppression. Proc Natl Acad Sci U S A, v. 96, n. 26, p. 15109-15114. 1999.

DE BRITO, C. A. et al. Immune adjuvants in early life: targeting the innate immune system to overcome impaired adaptive response. Immunotherapy, v. 1, n. 5, p. 883-895. 2009.

DE WITTE, L. et al. Syndecan-3 is a dendritic cell-specific attachment receptor for HIV-1. Proc Natl Acad Sci U S A, v. 104, n. 49, p. 19464-19469. 2007.

DE WITTE, L. et al. Distinct roles for DC-SIGN+-dendritic cells and Langerhans cells in HIV-1 transmission. Trends Mol Med, v. 14, n. 1, p. 12-19. 2008.

DEEKS, S. G.; WALKER, B. D. Human immunodeficiency virus controllers: mechanisms of durable virus control in the absence of antiretroviral therapy. Immunity, v. 27, n. 3, p. 406-416. 2007.

DOUGLAS, J. L. et al. Vpu directs the degradation of the human immunodeficiency virus restriction factor BST-2/Tetherin via a {beta}TrCP-dependent mechanism. J Virol, v. 83, n. 16, p. 7931-7947. 2009.

DUBÉ, M. et al. Antagonism of tetherin restriction of HIV-1 release by Vpu involves binding and sequestration of the restriction factor in a perinuclear compartment. PLoS Pathog, v. 6, n. 4, p. e1000856. 2010.

ESCRIBESE, M. M. et al. Alpha-defensins 1-3 release by dendritic cells is reduced by estrogen. Reprod Biol Endocrinol, v. 9, p. 118. 2011.

EVERETT, R. D.; CHELBI-ALIX, M. K. PML and PML nuclear bodies: implications in antiviral defence. Biochimie, v. 89, n. 6-7, p. 819-830. 2007.

FELLERMANN, K.; STANGE, E. F. Defensins -- innate immunity at the epithelial frontier. Eur J Gastroenterol Hepatol, v. 13, n. 7, p. 771-776. 2001.

GANZ, T. Defensins: antimicrobial peptides of innate immunity. Nat Rev Immunol, v. 3, n. 9, p. 710-720. 2003.

GANZ, T. et al. Defensins. Natural peptide antibiotics of human neutrophils. J Clin Invest, v. 76, n. 4, p. 1427-1435. 1985.

GARCÍA-CRESPO, K. et al. Restricted HIV-1 replication in placental macrophages is caused by inefficient viral transcription. J Leukoc Biol, v. 87, n. 4, p. 633-636. 2010.

GEFFIN, R. et al. Functional and structural defects in HIV type 1 nef genes derived from pediatric long-term survivors. AIDS Res Hum Retroviruses, v. 16, n. 17, p. 1855-1868. 2000.

GOLDSCHMIDT, V. et al. Role of common human TRIM5alpha variants in HIV-1 disease progression. Retrovirology, v. 3, p. 54. 2006.

GUO, F. et al. Inhibition of formula-primed reverse transcription by human APOBEC3G during human immunodeficiency virus type 1 replication. J Virol, v. 80, n. 23, p. 11710-11722. 2006.

HARDER, G.; MCGOWAN, R. Isolation and characterization of the muscle-specific isoform of creatine kinase from the zebrafish, *Danio rerio*. Biochem Cell Biol, v. 79, n. 6, p. 779-782. 2001.

HATZIOANNOU, T. et al. Retrovirus resistance factors Ref1 and Lv1 are species-specific variants of TRIM5alpha. Proc Natl Acad Sci U S A, v. 101, n. 29, p. 10774-10779. 2004.

HOLMES, R. K. et al. APOBEC3F can inhibit the accumulation of HIV-1 reverse transcription products in the absence of hypermutation. Comparisons with APOBEC3G. J Biol Chem, v. 282, n. 4, p. 2587-2595. 2007.

HOMANN, S. et al. Upregulation of BST-2/Tetherin by HIV infection in vivo. J Virol, v. 85, n. 20, p. 10659-10668. 2011.

HUANG, Y. C. et al. Isolation of mesenchymal stem cells from human placental decidua basalis and resistance to hypoxia and serum deprivation. Stem Cell Rev, v. 5, n. 3, p. 247-255. 2009.

HYGINO, J. et al. Altered immunological reactivity in HIV-1-exposed uninfected neonates. Clin Immunol, v. 127, n. 3, p. 340-347. 2008.

ISHIKAWA, H.; BARBER, G. N. STING is an endoplasmic reticulum adaptor that facilitates innate immune signalling. Nature, v. 455, n. 7213, p. 674-678. 2008.

ISHIKAWA, H. et al. STING regulates intracellular DNA-mediated, type I interferon-dependent innate immunity. Nature, v. 461, n. 7265, p. 788-792. 2009.

JIANG, J. Q. et al. CD8+ T-cell-mediated cross-clade protection in the genital tract following intranasal immunization with inactivated human immunodeficiency virus antigen plus CpG oligodeoxynucleotides. J Virol, v. 79, n. 1, p. 393-400. 2005.

JIAO, Y. et al. Plasma IP-10 is associated with rapid disease progression in early HIV-1 infection. Viral Immunol, v. 25, n. 4, p. 333-337. 2012.

JIN, L. et al. MHC class II structural requirements for the association with Igalpha/beta, and signaling of calcium mobilization and cell death. Immunol Lett, v. 116, n. 2, p. 184-194. 2008.

JOURDAN, P. et al. IL-4 induces functional cell-surface expression of CXCR4 on human T cells. J Immunol, v. 160, n. 9, p. 4153-4157. 1998.

JOUVENET, N. et al. Broad-spectrum inhibition of retroviral and filoviral particle release by tetherin. J Virol, v. 83, n. 4, p. 1837-1844. 2009.

KING, A. et al. Early human decidual cells exhibit NK activity against the K562 cell line but not against first trimester trophoblast. Cell Immunol, v. 118, n. 2, p. 337-344. 1989.

KING, A. E. et al. Expression of natural antimicrobials by human placenta and fetal membranes. Placenta, v. 28, n. 2-3, p. 161-169. 2007.

KLOTMAN, M. E.; CHANG, T. L. Defensins in innate antiviral immunity. Nat Rev Immunol, v. 6, n. 6, p. 447-456. 2006.

KORBER, B. T. et al. Heterogeneity of HIV-1 and HIV-2. AIDS, v. 9 Suppl A, p. S5-18. 1995.

KRISANAPRAKORNKIT, S. et al. Expression of the peptide antibiotic human beta-defensin 1 in cultured gingival epithelial cells and gingival tissue. Infect Immun, v. 66, n. 9, p. 4222-4228. 1998.

KUHN, L. et al. Interferon-gamma and interleukin-10 production among HIV-1-infected and uninfected infants of HIV-1-infected mothers. Pediatr Res, v. 50, n. 3, p. 412-416. 2001.

KUHN, L. et al. Human immunodeficiency virus (HIV)-specific cellular immune responses in newborns exposed to HIV in utero. Clin Infect Dis, v. 34, n. 2, p. 267-276. 2002.

KUHN, L. et al. Elevations in mortality associated with weaning persist into the second year of life among uninfected children born to HIV-infected mothers. Clin Infect Dis, v. 50, n. 3, p. 437-444. 2010.

LAMBERT, A. A. et al. The C-type lectin surface receptor DCIR acts as a new attachment factor for HIV-1 in dendritic cells and contributes to trans- and cis-infection pathways. Blood, v. 112, n. 4, p. 1299-1307. 2008.

LANE, B. R. et al. The C-X-C chemokine IP-10 stimulates HIV-1 replication. Virology, v. 307, n. 1, p. 122-134. 2003.

LANE, B. R. et al. Interleukin-8 stimulates human immunodeficiency virus type 1 replication and is a potential new target for antiretroviral therapy. J Virol, v. 75, n. 17, p. 8195-8202. 2001.

- LEGRAND, F. A. et al. Strong HIV-1-specific T cell responses in HIV-1-exposed uninfected infants and neonates revealed after regulatory T cell removal. PLoS One, v. 1, p. e102. 2006.
- LEHNER, T. et al. The emerging role of innate immunity in protection against HIV-1 infection. Vaccine, v. 26, n. 24, p. 2997-3001. 2008.
- MANGEAT, B. et al. HIV-1 Vpu neutralizes the antiviral factor Tetherin/BST-2 by binding it and directing its beta-TrCP2-dependent degradation. PLoS Pathog, v. 5, n. 9, p. e1000574. 2009.
- MARCUS, H. et al. T cells from newborn humans are fully capable of developing into cytotoxic T lymphocyte effector cells in adoptive hosts. Transplantation, v. 73, n. 5, p. 803-810. 2002.
- MAYAUX, M. J. [HIV transmission from mother to child: risk factors, period, prevention. Groupe Français d'études de l'infection VIH du nouveau-né]. Arch Pediatr, v. 3 Suppl 1, p. 17s-19s. 1996.
- MEHANDRU, S. et al. Primary HIV-1 infection is associated with preferential depletion of CD4+ T lymphocytes from effector sites in the gastrointestinal tract. J Exp Med, v. 200, n. 6, p. 761-770. 2004.
- MEHLE, A. et al. Vif overcomes the innate antiviral activity of APOBEC3G by promoting its degradation in the ubiquitin-proteasome pathway. J Biol Chem, v. 279, n. 9, p. 7792-7798. 2004.
- MENGOZZI, M. et al. Human immunodeficiency virus replication induces monocyte chemotactic protein-1 in human macrophages and U937 promonocytic cells. Blood, v. 93, n. 6, p. 1851-1857. 1999.
- MENZIES, B. E.; KENOYER, A. Signal transduction and nuclear responses in Staphylococcus aureus-induced expression of human beta-defensin 3 in skin keratinocytes. Infect Immun, v. 74, n. 12, p. 6847-6854. 2006.
- MERONI, G.; DIEZ-ROUX, G. TRIM/RBCC, a novel class of 'single protein RING finger' E3 ubiquitin ligases. Bioessays, v. 27, n. 11, p. 1147-1157. 2005.
- MEYLAN, P. R. et al. Mechanisms for the inhibition of HIV replication by interferons-alpha, -beta, and -gamma in primary human macrophages. Virology, v. 193, n. 1, p. 138-148. 1993.
- MIYAGI, E. et al. Vpu enhances HIV-1 virus release in the absence of Bst-2 cell surface down-modulation and intracellular depletion. Proc Natl Acad Sci U S A, v. 106, n. 8, p. 2868-2873. 2009.
- MOUS, K. et al. Expression analysis of LEDGF/p75, APOBEC3G, TRIM5alpha, and tetherin in a Senegalese cohort of HIV-1-exposed seronegative individuals. PLoS One, v. 7, n. 3, p. e33934. 2012.
- NAHMIAS, A. J.; KOURTIS, A. P. The great balancing acts. The pregnant woman, placenta, fetus, and infectious agents. Clin Perinatol, v. 24, n. 2, p. 497-521. 1997.
- NAKASHIMA, H. et al. Defensins inhibit HIV replication in vitro. AIDS, v. 7, n. 8, p. 1129. 1993.
- NEIL, S. J. et al. HIV-1 Vpu promotes release and prevents endocytosis of nascent retrovirus particles from the plasma membrane. PLoS Pathog, v. 2, n. 5, p. e39. 2006.

- NEIL, S. J. et al. Tetherin inhibits retrovirus release and is antagonized by HIV-1 Vpu. Nature, v. 451, n. 7177, p. 425-430. 2008.
- NISOLE, S. et al. TRIM family proteins: retroviral restriction and antiviral defence. Nat Rev Microbiol, v. 3, n. 10, p. 799-808. 2005.
- OZATO, K. et al. TRIM family proteins and their emerging roles in innate immunity. Nat Rev Immunol, v. 8, n. 11, p. 849-860. 2008.
- OZEL, M. et al. The organization of the envelope projections on the surface of HIV. Arch Virol, v. 100, n. 3-4, p. 255-266. 1988.
- PATNI, S. et al. Expression and activity of Toll-like receptors 1-9 in the human term placenta and changes associated with labor at term. Biol Reprod, v. 80, n. 2, p. 243-248. 2009.
- PAUL, M. E. et al. Predictors of immunologic long-term nonprogression in HIV-infected children: implications for initiating therapy. J Allergy Clin Immunol, v. 115, n. 4, p. 848-855. 2005.
- PEREZ-CABALLERO, D. et al. Tetherin inhibits HIV-1 release by directly tethering virions to cells. Cell, v. 139, n. 3, p. 499-511. 2009.
- PERTEL, T. et al. TRIM5 is an innate immune sensor for the retrovirus capsid lattice. Nature, v. 472, n. 7343, p. 361-365. 2011.
- PLINER, V. et al. Incubation period of HIV-1 in perinatally infected children. New York City Perinatal HIV Transmission Collaborative Study Group. AIDS, v. 12, n. 7, p. 759-766. 1998.
- PONTING, C. et al. SPRY domains in ryanodine receptors (Ca²⁺)-release channels). Trends Biochem Sci, v. 22, n. 6, p. 193-194. 1997.
- QUAYLE, A. J. et al. Gene expression, immunolocalization, and secretion of human defensin-5 in human female reproductive tract. Am J Pathol, v. 152, n. 5, p. 1247-1258. 1998.
- RAHM, N.; TELENTI, A. The role of tripartite motif family members in mediating susceptibility to HIV-1 infection. Curr Opin HIV AIDS, v. 7, n. 2, p. 180-186. 2012.
- REICHE, E. M. et al. Genetic polymorphisms in the chemokine and chemokine receptors: impact on clinical course and therapy of the human immunodeficiency virus type 1 infection (HIV-1). Curr Med Chem, v. 14, n. 12, p. 1325-1334. 2007.
- REYMOND, A. et al. The tripartite motif family identifies cell compartments. EMBO J, v. 20, n. 9, p. 2140-2151. 2001.
- RICHARDSON, B. A. et al. Comparison of human immunodeficiency virus type 1 viral loads in Kenyan women, men, and infants during primary and early infection. J Virol, v. 77, n. 12, p. 7120-7123. 2003.
- RIGATO, P. O. et al. Maternal immunization to modulate the development of allergic response and pathogen infections. Immunotherapy, v. 1, n. 1, p. 141-156. 2009.
- ROUSSEAU, C. M. et al. CCR5del32 in perinatal HIV-1 infection. J Acquir Immune Defic Syndr Hum Retrovirol, v. 16, n. 4, p. 239-242. 1997.

SAITOH, T. et al. Atg9a controls dsDNA-driven dynamic translocation of STING and the innate immune response. Proc Natl Acad Sci U S A, v. 106, n. 49, p. 20842-20846. 2009.

SAWYER, S. L. et al. Discordant evolution of the adjacent antiretroviral genes TRIM22 and TRIM5 in mammals. PLoS Pathog, v. 3, n. 12, p. e197. 2007.

SEWRAM, S. et al. Human TRIM5alpha expression levels and reduced susceptibility to HIV-1 infection. J Infect Dis, v. 199, n. 11, p. 1657-1663. 2009.

SHAPIRO, R. L. et al. Infant morbidity, mortality, and breast milk immunologic profiles among breast-feeding HIV-infected and HIV-uninfected women in Botswana. J Infect Dis, v. 196, n. 4, p. 562-569. 2007.

SINGH, R. et al. Association of TRIM22 with the type 1 interferon response and viral control during primary HIV-1 infection. J Virol, v. 85, n. 1, p. 208-216. 2011.

SØRENSEN, O. E. et al. Differential regulation of beta-defensin expression in human skin by microbial stimuli. J Immunol, v. 174, n. 8, p. 4870-4879. 2005.

SUN, C. M. et al. Upon TLR9 signaling, CD5+ B cells control the IL-12-dependent Th1-priming capacity of neonatal DCs. Immunity, v. 22, n. 4, p. 467-477. 2005.

SVINARICH, D. M. et al. Detection of human defensins in the placenta. Am J Reprod Immunol, v. 38, n. 4, p. 252-255. 1997.

TRABATTONI, D. et al. Human alpha defensin in HIV-exposed but uninfected individuals. J Acquir Immune Defic Syndr, v. 35, n. 5, p. 455-463. 2004.

ULENGA, N. K. et al. The level of APOBEC3G (hA3G)-related G-to-A mutations does not correlate with viral load in HIV type 1-infected individuals. AIDS Res Hum Retroviruses, v. 24, n. 10, p. 1285-1290. 2008.

VAN DAMME, N. et al. 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, v. 3, n. 4, p. 245-252. 2008.

VÁZQUEZ-PÉREZ, J. A. et al. APOBEC3G mRNA expression in exposed seronegative and early stage HIV infected individuals decreases with removal of exposure and with disease progression. Retrovirology, v. 6, p. 23. 2009.

VIGANO, A. et al. Immune activation and normal levels of endogenous antivirals are seen in healthy adolescents born of HIV-infected mothers. AIDS, v. 21, n. 2, p. 245-248. 2007.

VON SYDOW, M. et al. Interferon-alpha and tumor necrosis factor-alpha in serum of patients in various stages of HIV-1 infection. AIDS Res Hum Retroviruses, v. 7, n. 4, p. 375-380. 1991.

WASIK, T. J. et al. Protective role of beta-chemokines associated with HIV-specific Th responses against perinatal HIV transmission. J Immunol, v. 162, n. 7, p. 4355-4364. 1999.

WATSON, R. O. et al. Extracellular M. tuberculosis DNA targets bacteria for autophagy by activating the host DNA-sensing pathway. Cell, v. 150, n. 4, p. 803-815. 2012.

WICHROSKI, M. J. et al. Human retroviral host restriction factors APOBEC3G and APOBEC3F localize to mRNA processing bodies. PLoS Pathog, v. 2, n. 5, p. e41. 2006.

WINCHESTER, R. et al. Mother-to-child transmission of HIV-1: strong association with certain maternal HLA-B alleles independent of viral load implicates innate immune mechanisms. J Acquir Immune Defic Syndr, v. 36, n. 2, p. 659-670. 2004.

WYATT, R.; SODROSKI, J. The HIV-1 envelope glycoproteins: fusogens, antigens, and immunogens. Science, v. 280, n. 5371, p. 1884-1888. 1998.

ZHANG, L. et al. Contribution of human alpha-defensin 1, 2, and 3 to the anti-HIV-1 activity of CD8 antiviral factor. Science, v. 298, n. 5595, p. 995-1000. 2002.

ZHAO, C. et al. Widespread expression of beta-defensin hBD-1 in human secretory glands and epithelial cells. FEBS Lett, v. 396, n. 2-3, p. 319-322. 1996.

ZHONG, B. et al. The adaptor protein MITA links virus-sensing receptors to IRF3 transcription factor activation. Immunity, v. 29, n. 4, p. 538-550. 2008.