

NÁTALLI ZANETE PEREIRA

**Interação materno-fetal: fatores antivirais e
retrovírus endógenos na infecção por HIV-1**

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

Área de concentração: Imunologia

Orientadora: Dra. Maria Notomi Sato

Versão original

São Paulo
2018

RESUMO

ZANETE PEREIRA, N. **Interação materno-fetal: fatores antivirais e retrovírus endógenos na infecção por HIV-1.** 2018.74 f. Tese (Doutorado em Imunologia) Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2018.

A imunidade inata na interface materno-fetal é um dos mecanismos de proteção essenciais na resposta antiviral, sobretudo, na infecção por HIV-1. Neste trabalho, avaliamos a influência da infecção materna por HIV-1 na expressão de fatores antivirais, nas moléculas do complexo inflamassoma e de retrovírus endógenos (HERV), em células mononucleares (CMN) maternas, células do cordão umbilical (recém-natos, RN), colostro e no tecido placentário. Os resultados mostraram que no vilos das placentas de mães infectadas há um aumento na expressão de mRNA dos fatores antivirais, como IFN tipo I e III, DAMPs (*damage-associated molecular patterns*) e HERVs. Entretanto, na análise proteica, essas diferenças não se confirmam, indicando que o sistema imune inato é capaz de reconhecer o vírus, ou ainda, o dano causado pela infecção, mas controla a produção exacerbada da proteína. Sob estímulo de agonista de TLRs (*Toll-like receptor*), em CMNs a expressão de HERVs não se altera entre RNs. Além disto, avaliando os níveis de β -quimiocinas, CCL5 e CCL3, e de IFN- α nos sobrenadantes das culturas de CMNs, a ativação por LPS foi capaz de diminuir a produção de CCL3 e CCL5 nas CMNs de mães infectadas por HIV em relação às mães controles, contudo o CL097 promoveu níveis similares às mães do grupo controle.

Nos RNs, enquanto os níveis de CCL5 são inferiores aos de adultos, os níveis de CCL3 são semelhantes. Já o ligante TLR7/8 foi capaz de restaurar a secreção de IFN- α no grupo infectado por HIV-1.

Além disso, no vilos das placentas das mães infectadas por HIV, há intensa modificação na expressão de mRNA dos fatores analisados, sejam antivirais, como IFN tipo I (IFN- α), tipo III (IFN- λ), fatores relacionados ao dano celular (DAMPs e seus receptores).

Entre os DAMPs, um aumento da expressão de S100A9 e HMGB1 e seus receptores RAGE, TLR4 e TLR9 foi observado nos vilos de placentas de mães infectadas por HIV-1, contudo, os níveis séricos de HMGB1 estão diminuídos em mães infectadas e RN expostos.

Quanto aos níveis séricos de citocinas, foram observados níveis reduzidos de HMGB1, IL-6 e IL-1 β nos RNs expostos, o que evidencia um controle do estado inflamatório na exposição ao

HIV-1. Também observamos presença de níveis séricos de HERV-W, livre ou em exossomas, em ambos os grupos analisados. Já no colostro, não encontramos diferenças nas análises de fatores inflamatórios e HERVs indicando que, nesse compartimento, a infecção não altera os padrões de expressão desses alvos. A vigência do estado antiviral e a supressão do ambiente inflamatório podem equilibrar a resposta imune placentária, promovendo a homeostase para o desenvolvimento do feto e de proteção à infecção por HIV-1 nos neonatos.

Palavras-chaves: Imunidade natural. Placenta. Retrovírus endógenos humanos. HIV-1

ABSTRACT

ZANETE PEREIRA, N. **Maternal-fetal interaction: antiviral factors and endogenous retroviruses in HIV-1 infection.** 2018.74 f. Thesis (Ph.D. thesis in Immunology) Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2018.

Innate immunity at the maternal-fetal interface is one of the main protection mechanisms in the antiviral response, especially in HIV-1 infection. In this work, we present the influence of maternal HIV-1 infection on the expression of antiviral factors, inflammasome molecular complex and human endogenous retroviruses (HERV), in maternal mononuclear cells (MNCs), umbilical cord cells (newborns, NB), colostrum and placental tissue. The results show that in infected mothers cells has an increase in mRNA expression of antiviral factors, such as IFN type I and III, DAMPs (damage-associated molecular patterns) and HERVs. However, in protein analysis, these differences are not confirmed, indicating that the immune system is able to detect the virus, or even the damage caused by the infection, but controls the exacerbated protein production. Under stimulation of the TLR (Toll-like receptor) agonist, CMNs do not change among the RNs. In addition, by evaluating the levels of β -chemokines, CCL5 and CCL3, and of IFN- α in the supernatants of CMNs cultures, LPS activation was able to decrease the production of CCL3 and CCL5 in CMNs of HIV-infected mothers compared to control mothers, nevertheless CL097 promoted similar levels between HIV-infected mothers and control group. In RNs, while CCL5 levels are lower than in adults, CCL3 levels are similar. TLR7/8 agonist was able to restore IFN- α secretion in the HIV-infected group. In contrast, the TLR7/8 agonist was able to restore IFN- α secretion in HIV-infected group. In addition, in placental villi, there is intense modification in the mRNA expression of the analyzed factors, whether they are antiviral, such as IFN type I (IFN- α), type III (IFN- λ), related to cell damage (DAMPs and their receptors). Among DAMPs, increased expression of S100A9 and HMGB1 and their receptors RAGE, TLR4 and TLR9 was observed in placental villi of HIV-infected mothers, however, serum HMGB1 levels are decreased in infected-mothers and exposed-newborns. About the cytokines serum levels, reduced levels of HMGB1, IL-6 and IL-1 β were observed in the exposed-NBs, which evidences an inflammatory status control in HIV-1 exposure. We also observed the presence of free HERV-W or exosomes levels in serum in both groups analyzed. In colostrum, we did not find differences in inflammatory factors and HERVs analysis indicating that, in this compartment, the infection does not alter the expression patterns of these targets. The

effectiveness of antiviral status and suppression of the inflammatory environment can balance the placental immune response, promoting homeostasis for fetal development and protection of HIV-1 infection in neonates.

Keywords: Natural immunity. Placenta. Endogenous human retroviruses. HIV-1

1 INTRODUÇÃO

1.1 Epidemiologia da infecção

A infecção pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV), que causa a síndrome da imunodeficiência adquirida (aids), constitui um grande problema de saúde pública, com altas taxas de morbidade e mortalidade. Estima-se que cerca de 36,7 milhões de pessoas estão infectadas com o HIV, sendo 17,8 milhões de mulheres e 2,1 milhões de crianças menores de 15 anos (UNAIDS, 2016). Em 2016, o total global de óbito de adultos e crianças a causas relacionadas à aids foi de um milhão, sendo que grande parte dessas mortes ocorreram na África Subsaariana.

Desde 1980, no Brasil, foram identificados cerca de 842 mil casos da doença sendo 34,9% do sexo feminino. O perfil de transmissão da doença em 1986 era de 15 homens para 1 mulher, sendo que atualmente a relação é de 2,1 para 1, indicando uma mudança nos padrões de disseminação da infecção pelo HIV (Boletim Epidemiológico, AIDS e DST, 2016).

A transmissão vertical pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV) ocorre em 35% dos casos pela passagem do vírus da mãe para o feto durante a gestação e, em 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 (Protocolo para prevenção de transmissão vertical - Ministério da Saúde, 2007). A utilização do regime profilático antirretroviral, contendo zidovudina, pode reduzir significativamente a infecção intrauterina e intraparto para até 8,3% (CDC, 2007). No Brasil, há uma importante adesão das mães infectadas por HIV ao tratamento antirretroviral (ART), o que reduziu significativamente a transmissão vertical para níveis inferiores a 2% (PNDST/Aids, Ministério da Saúde, 2014). Contudo, o tratamento com ART não previne a exposição da criança ao vírus, aos efeitos colaterais dos ARTs, e aos efeitos da ativação imune materna. Com o tratamento, vem ocorrendo um aumento do número de crianças expostas ao HIV-1, capaz de causar uma alteração fenotípica e funcional no perfil imunológico da criança tornando-as mais susceptíveis a infecções e com riscos maiores de morbidade e mortalidade nos primeiros anos de vida (Afran, Garcia Knight et al. 2014).

Na ausência de uma terapia eficaz, aproximadamente 10-15% das crianças morrem no primeiro ano de vida (Pliner, Weedon et al. 1998). Há dois tipos de perfis de progressão clínica na infecção vertical, algumas crianças progridem rapidamente desenvolvendo um rápido curso da doença nos primeiros meses de idade (Blanche, Tardieu et al. 1990), e a maioria desenvolve um curso crônico com vários padrões da doença (Mayaux 1996). É

importante ressaltar que, na ausência de ARTs, há uma grande parcela dos infantes (65-80%) nascidos de mães infectadas por HIV que não adquire a infecção (CDC 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 a imunidade inata, com enfoque aos fatores de restrição viral e fatores relacionados à resposta de Interferon tipo I (IFN-I) que podem estar ativamente expressos no hospedeiro.

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 and Sodroski 1998).

O HIV é um retrovírus com 110 nm de diâmetro, que possui material genético constituído de duas fitas simples de RNA com 9,8 Kb, 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 que recobre o capsídeo viral (Ozel, Pauli 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.

Há nove genes sendo 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*).

O CCR5, receptor das quimiocinas CCL3 (MIP-1 α), CCL3L1 (MIP-1 α P), CCL4 (MIP-1 β), CCL5 (RANTES) e o SDF-1 (CXCL-12) ligante exclusivo do CXCR4 podem bloquear a entrada do HIV na célula do hospedeiro, pois competem com o mesmo sítio de ligação do vírus (Berger, Murphy et al. 1999). Variantes genéticas de quimiocinas e seus receptores que naturalmente ocorrem no hospedeiro, influenciam a resposta imune ao HIV e, conseqüentemente, na progressão da infecção para a aids (Reiche, Bonametti et al. 2007).

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 TCD8+ e células NK (*Natural Killer*). 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, Pitt et al. 2004).

Os mecanismos de entrada do HIV são diversos e nas primeiras horas ou dias após a infecção pela mucosa, o HIV-1 atravessa a barreira epitelial e infecta as células dendríticas (DCs) que expressam CCR5, macrófagos e células T nos tecidos de mucosa para iniciar a infecção. As DCs expressam CD4, CCR5, DC-SIGN e outro receptor lecitina tipo C que facilita a captura e disseminação do HIV-1 (de Witte, Bobardt et al. 2007). Além disso, no tecido linfóide associado ao intestino (GALT), ocorre a disseminação do HIV e intensa depleção das células T CD4+, contribuindo para a disfunção imunológica (Mehandru, Poles et al. 2004). 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-Sinoussi, Georges-Courbot et al. 1997).

Durante a infecção primária ou aguda do HIV-1 a replicação viral é intensa, levando a um aumento importante da carga viral seguido por um declínio relativo na viremia, devido a uma vigorosa 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 viral, iniciando a fase assintomática da síndrome (Davey, Bhat et al. 1999). A infecção crônica pelo HIV é caracterizada por uma persistente ativação imunológica e pelo escape viral. A ativação crônica das células imunocompetentes pode levar à exaustão clonal e apoptose das células, com consequente evolução para a depressão do sistema imune, sendo que este processo diminui rapidamente com o início do tratamento ART. Quando não ocorre o uso de ART, pode ter início a fase sintomática da doença. Os infectados crônicos pelo HIV-1 que possuem a habilidade de manter a contagem de T CD4+ normal por um período prolongado (> 10 anos), são denominados não progressores por longo tempo. Alguns dos não progressores podem ter viremia não detectável, mas a maioria possui carga viral detectável. Já um subgrupo 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 ART (Deeks and Walker 2007).

1.3 Imunopatogênese da infecção pediátrica

A infecção aguda pelo HIV em crianças caracteriza-se por uma carga viral elevada, 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, Mbori-Ngacha 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, Weedon et al. 1998). 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, Wolf et al. 2000), bem como defeito no alelo de CCR5 (CCR5 Δ 32) (Rousseau, Just et al. 1997), têm sido correlacionado 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, Mao et al. 2005).

Na ausência de ART, 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 umbilical e do sangue periférico em resposta a vários antígenos do HIV (Kuhn, Meddows-Taylor et al. 2002). Algumas crianças expostas não infectadas podem gerar resposta T citotóxica aos epítomos de HIV, mas em baixa frequência. Em contraste, outro relato mostra que os neonatos expostos ao HIV e não infectados, cujas mães estiveram sob tratamento ART durante a gestação, podem mostrar ausência de reatividade aos antígenos de HIV, mas uma dominante produção 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 (Hygino, Lima et al. 2008, Bento, Hygino et al. 2009). O início do tratamento antirretroviral antes da gestação reduz os riscos de hospitalização das crianças expostas e não infectadas (Goetghebuer, Smolen et al. 2018).

Além disto, as crianças expostas não infectadas possuem elevado número de células com características reguladoras com fenótipo TCD4⁺CD25⁺CD127⁺ e um baixo nível de ativação das células T CD4⁺ e T CD8⁺ do cordão umbilical (Kallas, Rosdahl et al. 2006).

A exposição precoce ao HIV-1 também causa aceleração na idade biológica. Crianças infectadas e expostas não-infectadas tem diminuição nos tamanhos dos telômeros comparadas às crianças não expostas (Shiau, Strehlau et al. 2018). Além disso, nas crianças infectadas, com carga viral detectável, foi observada uma frequência aumentada de células TCD8⁺

ativadas e de perfil senescente comparadas com crianças saudáveis (Díaz, Méndez-Lagares et al. 2012). Elevados sinais pró-inflamatórios ao nascimento, como aumento de IL-8, pode interferir nas respostas das células T perinatal e, posteriormente, influenciar na maturação imunológica e no risco de morbidade e mortalidade de crianças expostas e não infectadas por HIV-1 no Quênia (Lohman-Payne, Gabriel et al. 2018).

Há muitas diferenças na evolução da doença e na resposta imune entre crianças e adultos o que reflete em estratégias de tratamento distintas para cada idade. Uma estratégia terapêutica para a erradicação do vírus em crianças infectadas, *in utero*, foi descrita em um caso, onde logo após o nascimento a criança recebeu o ART, o tratamento foi suspenso posteriormente, a criança teve a carga viral indetectável por mais de 2 anos (Persaud, Gay et al. 2013, Luzuriaga, Gay et al. 2015). Até o momento, ainda não foi detectado casos de erradicação da infecção por HIV-1 em crianças infectadas. Contudo, o início precoce da ART perinatalmente e a melhor adesão das crianças infectadas pelo HIV minimizam tamanho reservatório viral (Tagarro, Chan et al. 2018).

1.4 Interface materno-fetal

A placenta é um órgão constituído pela parede interna vascularizada do útero (endométrio) e por estruturas derivadas do embrião. Com a função de promover o desenvolvimento do feto, a placenta possibilita a passagem de nutrientes, oxigênio, anticorpos e hormônios. Durante o estabelecimento da gravidez, na primeira semana de desenvolvimento embriológico, ocorre a clivagem do zigoto e a formação da mórula (3 dias após a fertilização) que é composta por duas camadas, a parte interna e a camada externa ou trofoblasto. Assim, há a formação do blastocisto, formado pela massa celular interna que dá origem ao embrião e aos trofoblastos, um conjunto de células que compõem a camada embrionária da placenta, essas células emitem projeções que se transformam nas vilosidades placentárias (Castellucci, Kosanke et al. 2000). Quando um blastocisto é implantado no endométrio uterino se inicia a formação de uma placenta funcional que requer a atividade de células especializadas como o EVT (trofoblasto extraviloso) que remodelam artérias uterinas criando uma ligação para o suprimento sanguíneo da placenta, garantindo a comunicação mãe-feto (Knöfler 2010).

O sincitiotrofoblasto (STB) e o EVT originam-se a partir de citotrofoblastos (CTB). Durante a implantação do blastocisto, os CTB fundem-se para formar uma camada externa de células multinucleadas que se multiplicam através da incorporação de novos CTB, denominados STB. O STB exerce um papel crucial no processo de troca de gases, nutrientes e produtos de excreção entre o feto e a mãe e possui atividade endócrina, liberando hormônios

envolvidos na gravidez como o HCG (gonadotrofina coriônica), além disso, expressam o receptor neonatal (FcRn) permitindo o transporte da IgG materna para o feto (Kristoffersen 1996).

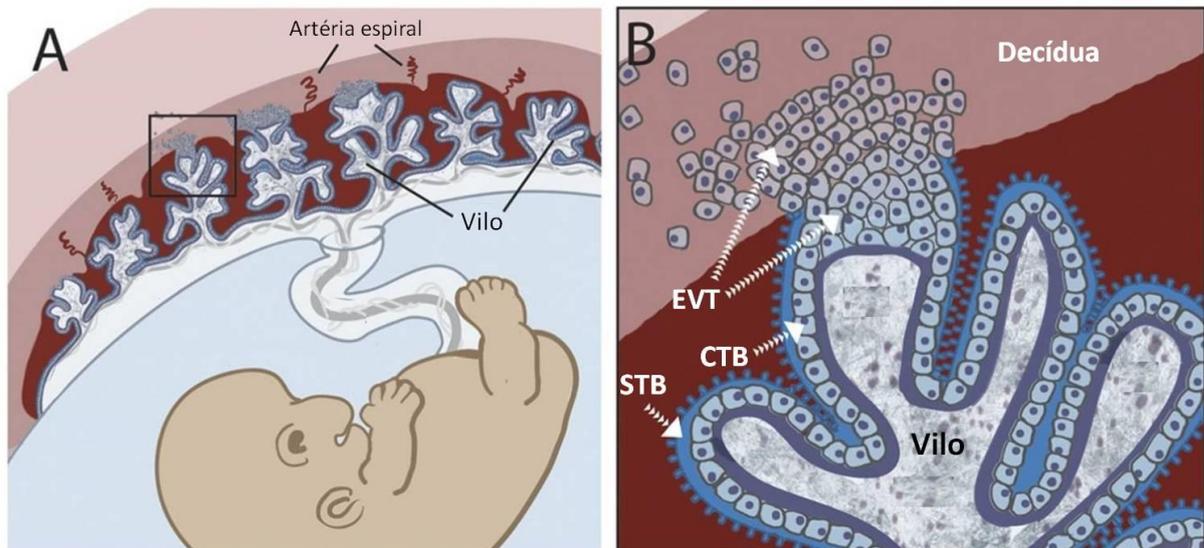


Figura 1 – Estruturas da placenta. A) Estrutura e localização do feto na placenta humana. B) Ampliação do quadro A onde, STB: = sinciotrofoblasto, CTB = citotrofoblasto, EVT= trofoblasto extraviloso. Figura adaptada (Zeldovich, Robbins et al. 2011)

A decidualização é o processo pelo qual o endométrio se transforma na decídua na preparação para o desenvolvimento da placenta (Brosens, Pijnenborg et al. 2002). Durante a decidualização, os leucócitos maternos migram para o útero onde a face da placenta derivada do feto foi implantada, e correspondem a aproximadamente 40% das células totais na decídua. No início da gravidez, 70% das células imunes deciduais consistem em células Natural Killer uterinas (uNK), classificadas como células inatas linfoides 1 e 3 (ILCs) (Doisne, Balmas et al. 2015, Montaldo, Vacca et al. 2015). As células NK deciduais podem diferenciar localmente a partir de células progenitoras residentes (Lysakova-Devine and O'Farrelly 2014). Em humanos, as células uNK podem exibir um papel protetor para algumas viroses, como HIV-1 através da secreção de CXCL12 (Mselle, Howell et al. 2009) e para o citomegalovírus humano (Siewiera, El Costa et al. 2013).

O mecanismo pelo qual as células imunes são recrutadas para o útero não é bem compreendido, mas, devem envolver as quimiocinas (Moser and Loetscher 2001). Os EVT expressam múltiplos receptores de quimioquinas, incluindo CXCR3 e CXCR4. A capacidade de atravessar a barreira placentária é um fator determinante para vírus invasivos e pouco se conhece sobre a capacidade da placenta em controlar essa transmissão.

Na infecção materna com o HIV, ocorre a passagem de células infectadas e virions através da placenta, livres ou associados a anticorpos neutralizantes, que interagem com os macrófagos placentários (células Hofbauer). Esses macrófagos expressam os receptores e coreceptores para a fusão do HIV, além de possuir os receptores Fc para internalização de anticorpos, tornando-os células alvo na infecção pelo HIV (Simister 1998). Entretanto, tem sido demonstrado, *in vitro*, que essas células tem baixa capacidade de replicação viral quando comparada à macrófagos derivados de monócitos do sangue periférico (Johnson and Chakraborty 2012).

Os trofoblastos além de produzirem altas concentrações de IFN I e genes reguladores de interferon (ISG) como STING, MxA e OAS, aumentam a expressão de diversos fatores de restrição viral, como APOBEC, TRIM, Teterina e SAMDH1 (Bai, Tian et al. 2015). As células de Hofbauer também produzem esses fatores inatos e expressam, constitutivamente, IL-10 e TGF- β , que inibem a replicação do HIV (Johnson and Chakraborty 2012).

1.5 Resposta inata: fatores de restrição viral

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 as crianças suscetíveis à várias infecções bacterianas e virais. O período neonatal pode representar uma fase única de desenvolvimento em que as respostas mostram importante plasticidade, mas, que podem se restringir devido aos mecanismos de regulação (Adkins, Leclerc et al. 2004). Esta plasticidade imunológica 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, para estabelecer uma resposta adaptativa adequada, é vital a atuação de componentes que possuem atividade antiviral.

Entre os vários fatores de imunidade inata, é bem conhecido o papel do interferon tipo I nas infecções virais, considerado como um potente inibidor da infecção pelo HIV-1 em macrófagos CCR5+CD4+ (Lin, Cheng et al. 2012). 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, Ghidini et al. 2008). O IFN tipo I influencia na regulação positiva de vários fatores antivirais, como APOBEC, TRIM e SAMHD1. Além disto, a administração sistêmica de IFN tipo I em indivíduos infectados por HIV, não tratados, induz aumento da expressão de marcadores de ativação como CD38 e HLA-DR em células T CD8+, mas não em TCD4+ de indivíduos infectados por HIV (Manion, Rodriguez et al. 2012). As evidências

mostram que o Interferon tipo I placentário é essencial para o sucesso da gestação, salientando a sinalização via TLR para manutenção deste processo (Kwon, Aldo et al. 2018).

O IFN tipo III (IFN- λ), possui três subtipos IFN- λ 1 (IL-29), IFN- λ 2 (IL-28A) e IFN- λ 3 (IL-28B) e pode ser produzido a partir do reconhecimento de antígenos virais (Kotenko, Gallagher et al. 2003). Na resposta ao HIV, há indução de quimiocinas competidoras com receptor de entrada e que induzem a expressão de fatores antivirais como a APOBEC, MxA via JAK-STAT (Hou, Wang et al. 2009, Liu, Zhou et al. 2012). Além disso, IFN- λ também é capaz de suprimir a replicação do HIV em macrófagos resistentes a drogas e potencializar a supressão causada pelos ARTs (Wang, Wang et al. 2017).

A proteína STING (gene estimulador de interferon) é uma molécula de sinalização da resposta inata para ácidos nucleicos citosólicos que agem de maneira independente de TLR. Em humanos, há aproximadamente 400 aminoácidos que ficam ancorados, em dímeros, nos retículos endoplasmáticos de células em repouso (Ishikawa and Barber 2008). São predominantemente expressos em macrófagos, linfócitos T, células dendríticas, endoteliais, epiteliais e fibroblastos (Sun, Li et al. 2009). A presença de DNA no citosol das células desencadeia a produção de IFN tipo I e outras citocinas pela produção de guanosina cíclica monofosfato-adenosina monofosfato (cGAMP), a qual interage e ativa a proteína adaptadora STING. A enzima sintase que ativa o cGAMP é considerada um sensor de resposta inata para o HIV e outros retrovírus (Gao, Wu et al. 2013). Previamente, detectamos aumento da expressão de mRNA para STING em placentas de mães infectadas por HIV, tanto no viló como na decídua (Pereira, Cardoso et al. 2013).

1.6 A resposta inata: receptores Toll-like na infecção pelo HIV

A resposta imune inata é constituída por células que expressam receptores sentinelas, denominados receptores de reconhecimento padrão (PRR), capazes de reconhecer motivos conservados de micróbios (PAMPs, Padrões Moleculares Associados à Patógenos), presentes em bactérias, fungos e vírus. Atualmente existem 13 receptores TLRs de mamíferos identificados, sendo 11 presentes em humanos (Jarrousse, Quereux et al. 2006). Os receptores são extracelulares ou endossomais e expressos por diferentes tipos celulares, incluindo queratinócitos, células dendríticas, neutrófilos, macrófagos, células endoteliais e células epiteliais de mucosas (Hasan, Chaffois et al. 2005, Jin, Kim et al. 2007). Os receptores TLR2, TLR4, TLR5, TLR6, TLR10 estão presentes na membrana plasmática e são essenciais para o reconhecimento de componentes da parede bacteriana e partículas virais (Hasan, Chaffois et al. 2005, Jin, Kim et al. 2007). Os receptores, TLR3, TLR7, TLR8 e TLR9 estão localizados

em compartimentos endossomais, reconhecem ácidos nucleicos virais e bacterianos (Bell, Botos et al. 2005, Haas, Metzger et al. 2008), e estão envolvidos na imunidade inata contra vírus por serem potentes indutores de interferon tipo I.

O ligante natural do TLR3 é a dupla fita de RNA viral (dsRNA), o TLR7 e 8 reconhecem a fita simples de RNA viral (ssRNA) e o TLR 9 reconhece o DNA não metilado, rico em motivos de citosinas e guanosinas, de bactérias e vírus (oligodeoxinucleotídeo CpG). Estes receptores são expressos principalmente nas APCs, sendo o TLR3 nas mDC, o TLR7 e o TLR 9 nas pDCs e o TLR8 nas mDC e monócitos (Hornung, Rothenfusser et al. 2002).

As vias de sinalização do TLR são reguladas por moléculas adaptadoras intracelulares, tais como MyD88, MAL, TRIF, TRAM e SARM (O'Neill 2007). A maioria dos TLRs, com exceção do TLR3, sinaliza via MyD88, iniciando a sinalização de uma série de quinases e outras proteínas que culmina na ativação de outros fatores de transcrição, NF- κ B e AP-1. Outros adaptadores, como os membros da família de fatores de transcrição IRF (fator regulador de IFN), particularmente o IRF 1, 3, 5 e 7 são ativados pela MyD88 ou TRIF e são cruciais para produção de IFN tipo I (Petry and Gaspari 2009).

Na placenta, o aumento da expressão de TLR 2, 7 e 7 está associado a abortos espontâneos (He, Zhou et al. 2017). Trofoblastos estimulados com agonista de TLR3 aumentam a produção de fatores antivirais como MxA, OAS e APOBEC, indicando que essas células são capazes de reconhecer e responder a produtos virais (Abrahams, Schaefer et al. 2006). Em contrapartida, a indução da via de TLR4 promove a produção de citocinas inflamatórias a apoptose em células decíduais, estas por sua vez, aumentam a expressão de TIM-3 que funciona como um regulador e protege as células decíduais da apoptose através de uma via dependente de ERK1/2 (Wang, Cao et al. 2015).

Em conjunto, a ativação via TLR, em especial os intracelulares, levam à sinalização e produção de IFN-tipo I, essencial para a resposta antiviral, e para modular positivamente fatores associados à resposta antiviral que pode ser uma interessante estratégia antiviral no período neonatal.

Os fatores antivirais, bem como os retrovírus endógenos, são geralmente modulados pela expressão de fatores como IFN-I e III. O próprio, HIV-1 possui componentes capazes de desencadear a via de TLR7-8, e culminar na produção de IFN-I. Por outro lado, a infecção pelo HIV-1 também pode influenciar na expressão de retrovírus endógeno, e ambos serem controlados pela ação do IFN-I.

1.7 A resposta inata: Inflamassomas e DAMPs na infecção pelo HIV

Os inflamassomas são um sistema de receptores e sensores da imunidade inata que podem ser estimulados por LPS, muramil dipeptídeo, RNA bacteriano em associação aos fatores associados à sensores de perigo (DAMPs) como a proteína β -amilóide, ATP (adenosina trifosfato), cristais de ácido úrico, alúmen ou ainda fatores de agressão externos como a exposição à radiação ultravioleta e sílica (Agostini, Martinon et al. 2004). Esse reconhecimento regula a ativação de caspase-1, cuja função é clivar os precursores das citocinas pró-IL-1 β e pró-IL-18 para suas formas bioativas, IL1- β e IL18. Essas citocinas, por sua vez, regem a resposta inflamatória, desencadeando uma cascata de eventos que culminam no recrutamento e ativação de diversos tipos celulares (Netea 2014). Além das formas convencionais de formação de inflamassomas, como os NLR (*Nod like Receptors*), a proteína AIM-2 (ausente em melanomas-2) também pode ativar a Caspase-1, entretanto, diferente dos NLR, AIM-2 pode se ligar diretamente aos estímulos, dsDNA citosólico, em um infecção patogênica (Hornung, Ablasser et al. 2009). Além disso, AIM-2 não reconhece uma estrutura ou sequência específica de dsDNA, para o reconhecimento é necessária uma sequência de ao menos 80 pares de bases (Jin, Perry et al. 2012).

Há envolvimento da caspase-1 e ativação de inflamassomas em condições fisiológicas e patológicas na gravidez humana (Gotsch, Romero et al. 2008). Contudo, na infecção por HIV-1, é importante definir o perfil de expressão de DAMPs e inflamassomas na interface materno-fetal, considerando o grau de imunoativação na infecção por HIV-1 materna.

Na infecção pelo HIV, após o reconhecimento de partículas virais pelo receptor TLR8 nas células CD4⁺ ativadas, o inflamassoma NLRP3 (NALP3) pode ser iniciado, levando a liberação de IL-1 β (Chattergoon, Latanich et al. 2014). Este inflamassoma também está relacionado ao aumento da produção de IL-1 β em trofoblastos, após a ativação com ácido úrico, que atuaria como DAMP (Mulla, Myrtolli et al. 2011). Em células não permissivas à infecção, não ativadas, o reconhecimento do HIV, através do sensor citosólico IFI16, gera um sinal para ativação direta de inflamassomas, que também culminará na liberação de citocinas pró-inflamatórias. Entretanto, no caso da ativação de inflamassomas em células em repouso, essa intensa ativação de Caspase-1 pode levar à piroptose, que inicia um processo de morte e depleção de TCD4⁺, marcador da fase sintomática da doença (Doitsh, Galloway et al. 2014).

As moléculas endógenas chamadas de alarminas ou DAMPs são responsáveis por sinalizar os danos causados nas células e nos tecidos (Bianchi 2007). Neste grupo, inclui a proteína nuclear HMGB1 (*high-mobility group proteins*) que pode ser secretada para o meio extracelular de maneira ativa, por uma célula intacta, após um estímulo pró-inflamatório, ou ainda, de maneira passiva, quando a célula sofre algum dano.

A HMGB1 é composta por uma sequência de 215 aminoácidos e codificada a partir do cromossomo 13q12 (Gougeon, Melki et al. 2012). Está presente na maioria das células nucleadas, conservada evolutivamente (Sessa and Bianchi 2007), e atua em diversos processos biológicos incluindo regulação do ciclo celular e expressão gênica através da condensação ou desenrolamento da cromatina (Agresti and Bianchi 2003). Além disso, esse DAMP age como um potente fator pró-inflamatório, estimulando a imunidade inata, promovendo a resposta adaptativa e a reconstrução dos tecidos lesionados (Yang, Antoine et al. 2013). Outro processo já descrito é o efeito pró-angiogênico, induzindo MAPK/ERK12, proliferação celular e quimiotaxia nas células endoteliais (Mitola, Belleri et al. 2006).

Os principais receptores descritos para HMGB1 são RAGE (*Receptor for Advanced Glycation End-products*), TLR2, TLR4 e TLR9 que promovem a sinalização através das vias Myd88 e NF- κ B (Tian, Avalos et al. 2007). Na sinapse entre células iDCs e NK, as iDCs liberam IL-18, que por sua vez, induzem a liberação de HMGB1 pelas NKs, que promove inflamação e induz a maturação da DC (Semino, Angelini et al. 2005).

Na placenta de mulheres com pré-eclâmpsia são encontrados níveis aumentados de mRNA e proteicos de HMGB1 e RAGE, além de uma alta expressão sérica dessa alarmina em comparação a mulheres saudáveis (Zhu, Zhang et al. 2015).

Além disso, há um efeito adjuvante quando a proteína HMGB1 está associada aos receptores TLR, capaz de promover a replicação *in vitro* do HIV. A elevação de LPS e HMGB1 está relacionada com o aumento da carga viral, mostrando a importância dessas moléculas na ativação imune na infecção pelo HIV (Trøseid, Nowak et al. 2010, Trinh, Pham et al. 2016)

Em contraste, o HMGB1 é capaz de inibir a replicação do HIV-1, trópico para o receptor CCR5, em macrófagos primários, de maneira dose-dependente, através da indução da liberação de quimiocinas ligantes desse receptor, como CCL3, CCL4 e CCL5 (Nowak, Barqasho et al. 2006). Além disso, ativa a replicação do HIV latente em linhagens de monócitos.

Há poucos relatos sobre os inflamassomas e o HMGB1 na interface materno-fetal na infecção por HIV-1.

1.8 Retrovírus endógenos humanos na infecção por HIV

Os retrovírus endógenos humanos (HERVs) estão inseridos no DNA humano há mais de 5 milhões de anos e representam cerca de 8% do genoma (Bannert and Kurth 2004). São constituídos por genes básicos de retrovírus (*gag*, *pro*, *pol* e *env*) que possuem múltiplas

mutações, deleções e códons de parada em um ou mais genes tornando-os em sua maioria, defectivos (Jern and Coffin 2008).

O tumor mamário de camundongo semelhante ao vírus 2 (HML-2) da subfamília dos HERVs, também chamado de HERV-K, é o mais estudado e sua expressão está relacionada com diversas doenças humanas (Mallet, Bouton et al. 2004). Expressam sequências de leituras abertas (ORFs) funcionais para diversas proteínas, como o gene *gag* que codifica proteínas do núcleo, gene *pol* que codifica a transcriptase reversa e medeia a integração no DNA, o gene *env* que codifica proteínas do envelope envolvidas no reconhecimento de receptores e fusão de membrana, assim como as proteínas acessórias Np9 e Rec (Löwer, Boller et al. 1993) que são expressas, respectivamente, pelo tipo 1 e tipo 2 do HERV-K.

Diversos estudos têm evidenciado que o HERV pode estar envolvido com diversas doenças, incluindo doenças autoimunes, neurológicas, câncer e doenças infecciosas (Young, Stoye et al. 2013).

Os níveis de RNAm para HERV-K em PBMC estão elevados nos indivíduos infectados por HIV-1 em comparação com os saudáveis (Contreras-Galindo, Kaplan et al. 2006). Além disto, células mononucleares do sangue periférico de indivíduos saudáveis infectadas *in vitro* por HIV-1, mostram aumento da expressão da proteína de HERV-K (Contreras-Galindo, López et al. 2007).

Em linfócitos humanos primários, a expressão de HERVK-18, KII e K102 representam 90% da expressão dos HERV-Ks, além disso, a proteína *env* de HERVK-18 é capaz de se incorporar à matriz proteica do HIV substituindo o envelope do vírus (Brinzevich, Young et al. 2014).

A expressão de HERV também está envolvida com diversos processos fisiológicos como o desenvolvimento embrionário e na promoção de mecanismos contra infecções causadas por retrovírus exógenos (Garrison, Jones et al. 2007). Os mecanismos que levam à expressão dos retrovírus endógenos ainda não foram determinados, entretanto, processos inflamatórios, agentes químicos, citocinas, hormônios e estresse podem desencadear sua ativação (Evans, Alamgir et al. 2009).

A placenta expressa diversos tipos de retrovírus endógenos que foram endogeneizados ao longo de milhões de anos, com ênfase no HERV-W, que codifica uma proteína conhecida como sincitina (*Syncytin*), cuja função é promover fusões celulares para a formação dos sinciciotrofoblastos – células multinucleadas que originam os trofoblastos fetais (Mi, Lee et al. 2000, Malassiné, Handschuh et al. 2005). Na neurodegeneração associada ao HIV (neuroaids), a proteína *tat* do HIV estimula HERV-W em astrócitos, que via interação com

TLR4, induz a produção de TNF- α (Uleri, Mei et al. 2014). Além disto, a sincitina possui um importante papel imunorregulador, em PBMCs essa proteína é capaz de inibir a expressão de IFN tipo I e III e aumentar a produção de IL-6 e IL10 (Tolosa, Parsons et al. 2015). A sincitina também está presente em exossomas liberados por explantes de tecidos placentários e tem papel imunossupressor em células sanguíneas (Tolosa, Schjenken et al. 2012). No soro de mulheres com pré-eclâmpsia foram encontrados níveis diminuídos de sincitina comparados com gestações normais (Vargas, Zhou et al. 2014).

A **hipótese de trabalho** é que há existência de um sistema ativo de imunidade antiviral expresso em ambos, mãe infectada por HIV-1 e recém-nato exposto. Todavia, um complexo sistema regulador, presente principalmente na placenta, pode conter a inflamação local e auxiliar nos mecanismos envolvidos na proteção do feto à infecção do HIV-1. De fato, grande parcela dos infantes não se infecta quando na ausência materna de tratamento antirretroviral.

6 CONCLUSÃO

O sistema imune na gestação é peculiar, há os trofoblastos que protegem o embrião da rejeição imunológica, e ao mesmo tempo inibem infecções. O aumento de mRNA de fatores inflamatórios e DAMPS revela que o sistema imune inato na placenta é capaz de reconhecer o vírus, ou ainda, o dano causado pela vigência da infecção. Entretanto, para diminuir o estado inflamatório local, essencial para a replicação viral, as células placentárias controlam a produção proteica dessas moléculas. O aumento de STING, IRF-7, IFN tipo I e III no vilão também corrobora para a resposta antiviral, outro mecanismo de defesa do RN. Não há evidência de RNA ou DNA de HIV na placenta, mas há um aumento na expressão constitutiva de HERVs e no colostro e em CMN, a infecção pelo HIV não alterou os níveis de expressão de HERVs. Além disso, a supressão sistêmica de citocinas pró-inflamatórias no soro dos RNs expostos, revela uma tentativa de controle do estado inflamatório. É possível que o controle do estado antiviral e a supressão do ambiente inflamatório sejam uma forma de balancear a resposta imune local, numa tentativa de manter a homeostase para a formação do feto e impedir a transmissão vertical.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abrahams, V. M., T. M. Schaefer, J. V. Fahey, I. Visintin, J. A. Wright, P. B. Aldo, R. Romero, C. R. Wira and G. Mor (2006). "Expression and secretion of antiviral factors by trophoblast cells following stimulation by the TLR-3 agonist, Poly(I : C)." *Hum Reprod* **21**(9): 2432-2439.
- Adkins, B., C. Leclerc and S. Marshall-Clarke (2004). "Neonatal adaptive immunity comes of age." *Nat Rev Immunol* **4**(7): 553-564.
- Afran, L., M. Garcia Knight, E. Nduati, B. C. Urban, R. S. Heyderman and S. L. Rowland-Jones (2014). "HIV-exposed uninfected children: a growing population with a vulnerable immune system?" *Clin Exp Immunol* **176**(1): 11-22.
- Agostini, L., F. Martinon, K. Burns, M. F. McDermott, P. N. Hawkins and J. Tschopp (2004). "NALP3 forms an IL-1beta-processing inflammasome with increased activity in Muckle-Wells autoinflammatory disorder." *Immunity* **20**(3): 319-325.
- Agresti, A. and M. E. Bianchi (2003). "HMGB proteins and gene expression." *Curr Opin Genet Dev* **13**(2): 170-178.
- Badolato, R., C. Ghidini, F. Facchetti, F. Serana, A. Sottini, M. Chiarini, E. Spinelli, S. Lonardi, A. Plebani, L. Caimi and L. Imberti (2008). "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* **6**: 49.
- Bai, X., T. Tian, P. Wang, X. Yang, Z. Wang and M. Dong (2015). "Potential roles of placental human beta-defensin-3 and apolipoprotein B mRNA-editing enzyme catalytic polypeptide 3G in prevention of intrauterine transmission of hepatitis B virus." *J Med Virol* **87**(3): 375-379.
- Bannert, N. and R. Kurth (2004). "Retroelements and the human genome: new perspectives on an old relation." *Proc Natl Acad Sci U S A* **101** Suppl 2: 14572-14579.
- Barré-Sinoussi, F., M. C. Georges-Courbot, P. N. Fultz, H. Nguyen Thi Tuyet, E. Muchmore, S. Saragosti, G. Dubreuil, A. Georges, E. van der Ryst and M. Girard (1997). "Characterization and titration of an HIV type 1 subtype E chimpanzee challenge stock." *AIDS Res Hum Retroviruses* **13**(7): 583-591.
- Bell, J. K., I. Botos, P. R. Hall, J. Askins, J. Shiloach, D. M. Segal and D. R. Davies (2005). "The molecular structure of the Toll-like receptor 3 ligand-binding domain." *Proc Natl Acad Sci U S A* **102**(31): 10976-10980.
- Bento, C. A., J. Hygino, R. M. Andrade, C. S. Saramago, R. G. Silva, A. A. Silva, U. C. Linhares, R. Brindeiro, A. Tanuri, M. Rosenzweig, D. Klatzmann and A. F. Andrade (2009). "IL-10-secreting T cells from HIV-infected pregnant women downregulate HIV-1 replication: effect enhanced by antiretroviral treatment." *AIDS* **23**(1): 9-18.
- Berger, E. A., P. M. Murphy and J. M. Farber (1999). "Chemokine receptors as HIV-1 coreceptors: roles in viral entry, tropism, and disease." *Annu Rev Immunol* **17**: 657-700.
- Bianchi, M. E. (2007). "DAMPs, PAMPs and alarmins: all we need to know about danger." *J Leukoc Biol* **81**(1): 1-5.
- Blanche, S., M. Tardieu, A. Duliege, C. Rouzioux, F. Le Deist, K. Fukunaga, M. Caniglia, C. Jacomet, A. Messiah and C. Griscelli (1990). "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* **144**(11): 1210-1215.
- Brnzevich, D., G. R. Young, R. Sebra, J. Ayllon, S. M. Maio, G. Deikus, B. K. Chen, A. Fernandez-Sesma, V. Simon and L. C. Mulder (2014). "HIV-1 interacts with human endogenous retrovirus K (HML-2) envelopes derived from human primary lymphocytes." *J Virol* **88**(11): 6213-6223.
- Brosens, J. J., R. Pijnenborg and I. A. Brosens (2002). "The myometrial junctional zone spiral arteries in normal and abnormal pregnancies: a review of the literature." *Am J Obstet Gynecol* **187**(5): 1416-1423.
- Castellucci, M., G. Kosanke, F. Verdenelli, B. Huppertz and P. Kaufmann (2000). "Villous sprouting: fundamental mechanisms of human placental development." *Hum Reprod Update* **6**(5): 485-494.

- Chattergoon, M. A., R. Latanich, J. Quinn, M. E. Winter, R. W. Buckheit, J. N. Blankson, D. Pardoll and A. L. Cox (2014). "HIV and HCV activate the inflammasome in monocytes and macrophages via endosomal Toll-like receptors without induction of type 1 interferon." *PLoS Pathog* **10**(5): e1004082.
- Contreras-Galindo, R., M. H. Kaplan, D. M. Markovitz, E. Lorenzo and Y. Yamamura (2006). "Detection of HERV-K(HML-2) viral RNA in plasma of HIV type 1-infected individuals." *AIDS Res Hum Retroviruses* **22**(10): 979-984.
- Contreras-Galindo, R., P. López, R. Vélez and Y. Yamamura (2007). "HIV-1 infection increases the expression of human endogenous retroviruses type K (HERV-K) in vitro." *AIDS Res Hum Retroviruses* **23**(1): 116-122.
- Davey, R. T., N. Bhat, C. Yoder, T. W. Chun, J. A. Metcalf, R. Dewar, V. Natarajan, R. A. Lempicki, J. W. Adelsberger, K. D. Miller, J. A. Kovacs, M. A. Polis, R. E. Walker, J. Falloon, H. Masur, D. Gee, M. Baseler, D. S. Dimitrov, A. S. Fauci and H. C. Lane (1999). "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* **96**(26): 15109-15114.
- de Witte, L., M. Bobardt, U. Chatterji, G. Degeest, G. David, T. B. Geijtenbeek and P. Gally (2007). "Syndecan-3 is a dendritic cell-specific attachment receptor for HIV-1." *Proc Natl Acad Sci U S A* **104**(49): 19464-19469.
- Deeks, S. G. and B. D. Walker (2007). "Human immunodeficiency virus controllers: mechanisms of durable virus control in the absence of antiretroviral therapy." *Immunity* **27**(3): 406-416.
- Doisne, J. M., E. Balmas, S. Boulenuar, L. M. Gaynor, J. Kieckbusch, L. Gardner, D. A. Hawkes, C. F. Barbara, A. M. Sharkey, H. J. Brady, J. J. Brosens, A. Moffett and F. Colucci (2015). "Composition, Development, and Function of Uterine Innate Lymphoid Cells." *J Immunol* **195**(8): 3937-3945.
- Doitsh, G., N. L. Galloway, X. Geng, Z. Yang, K. M. Monroe, O. Zepeda, P. W. Hunt, H. Hatano, S. Sowinski, I. Muñoz-Arias and W. C. Greene (2014). "Cell death by pyroptosis drives CD4 T-cell depletion in HIV-1 infection." *Nature* **505**(7484): 509-514.
- Díaz, L., G. Méndez-Lagares, R. Correa-Rocha, Y. M. Pacheco, S. Ferrando-Martínez, E. Ruiz-Mateos, M. del Mar del Pozo-Balado, J. A. León, M. D. Gurbindo, M. Isabel de José, M. Leal and M. Muñoz-Fernández (2012). "Detectable viral load aggravates immunosenescence features of CD8 T-cell subsets in vertically HIV-infected children." *J Acquir Immune Defic Syndr* **60**(5): 447-454.
- Evans, L. H., A. S. Alamgir, N. Owens, N. Weber, K. Virtaneva, K. Barbian, A. Babar, F. Malik and K. Rosenke (2009). "Mobilization of endogenous retroviruses in mice after infection with an exogenous retrovirus." *J Virol* **83**(6): 2429-2435.
- Gao, D., J. Wu, Y. T. Wu, F. Du, C. Aroh, N. Yan, L. Sun and Z. J. Chen (2013). "Cyclic GMP-AMP synthase is an innate immune sensor of HIV and other retroviruses." *Science* **341**(6148): 903-906.
- Garrison, K. E., R. B. Jones, D. A. Meiklejohn, N. Anwar, L. C. Ndhlovu, J. M. Chapman, A. L. Erickson, A. Agrawal, G. Spotts, F. M. Hecht, S. Rakoff-Nahoum, J. Lenz, M. A. Ostrowski and D. F. Nixon (2007). "T cell responses to human endogenous retroviruses in HIV-1 infection." *PLoS Pathog* **3**(11): e165.
- Geffin, R., D. Wolf, R. Müller, M. D. Hill, E. Stellwag, M. Freitag, G. Sass, G. B. Scott and A. S. Baur (2000). "Functional and structural defects in HIV type 1 nef genes derived from pediatric long-term survivors." *AIDS Res Hum Retroviruses* **16**(17): 1855-1868.
- Goetghebuer, T., K. K. Smolen, C. Adler, J. Das, T. McBride, G. Smits, S. Lecomte, E. Haelterman, P. Barlow, P. A. Piedra, F. van der Klis, T. R. Kollmann, D. A. Lauffenburger, G. Alter, J. Levy and A. Marchant (2018). "Initiation of anti-retroviral therapy before pregnancy reduces the risk of infection-related hospitalization in HIV-exposed uninfected infants born in a high-income country." *Clin Infect Dis*.
- Gotsch, F., R. Romero, T. Chaiworapongsa, O. Erez, E. Vaisbuch, J. Espinoza, J. P. Kusanovic, P. Mittal, S. Mazaki-Tovi, C. J. Kim, J. S. Kim, S. Edwin, C. L. Nhan-Chang, N. Hamill, L. Friel, N. G. Than, M. Mazor, B. H. Yoon and S. S. Hassan (2008). "Evidence of the involvement of caspase-1 under physiologic and pathologic cellular stress during human pregnancy: a link between the inflammasome and parturition." *J Matern Fetal Neonatal Med* **21**(9): 605-616.
- Gougeon, M. L., M. T. Melki and H. Saïdi (2012). "HMGB1, an alarmin promoting HIV dissemination and latency in dendritic cells." *Cell Death Differ* **19**(1): 96-106.

- Haas, T., J. Metzger, F. Schmitz, A. Heit, T. Muller, E. Latz and H. Wagner (2008). "The DNA sugar backbone 2' deoxyribose determines toll-like receptor 9 activation." *Immunity* **28**(3): 315-323.
- Hasan, U., C. Chaffois, C. Gaillard, V. Saulnier, E. Merck, S. Tancredi, C. Guiet, F. Briere, J. Vlach, S. Lebecque, G. Trinchieri and E. E. Bates (2005). "Human TLR10 is a functional receptor, expressed by B cells and plasmacytoid dendritic cells, which activates gene transcription through MyD88." *J Immunol* **174**(5): 2942-2950.
- He, M., Y. Zhou, M. Jiang, F. Li, M. Yang, Y. Fan and D. Deng (2017). "Increased Toll-Like Receptor-Myeloid Differentiation Factor 88 Expression at the Maternal-Fetal Interface Is Associated with Spontaneous Abortion." *Gynecol Obstet Invest* **82**(6): 553-562.
- Hornung, V., A. Ablasser, M. Charrel-Dennis, F. Bauernfeind, G. Horvath, D. R. Caffrey, E. Latz and K. A. Fitzgerald (2009). "AIM2 recognizes cytosolic dsDNA and forms a caspase-1-activating inflammasome with ASC." *Nature* **458**(7237): 514-518.
- Hornung, V., S. Rothenfusser, S. Britsch, A. Krug, B. Jahrsdörfer, T. Giese, S. Endres and G. Hartmann (2002). "Quantitative expression of toll-like receptor 1-10 mRNA in cellular subsets of human peripheral blood mononuclear cells and sensitivity to CpG oligodeoxynucleotides." *J Immunol* **168**(9): 4531-4537.
- Hou, W., X. Wang, L. Ye, L. Zhou, Z. Q. Yang, E. Riedel and W. Z. Ho (2009). "Lambda interferon inhibits human immunodeficiency virus type 1 infection of macrophages." *J Virol* **83**(8): 3834-3842.
- Hygino, J., P. G. Lima, R. G. Filho, A. A. Silva, C. S. Saramago, R. M. Andrade, D. M. Andrade, A. F. Andrade, R. Brindeiro, A. Tanuri and C. A. Bento (2008). "Altered immunological reactivity in HIV-1-exposed uninfected neonates." *Clin Immunol* **127**(3): 340-347.
- Ishikawa, H. and G. N. Barber (2008). "STING is an endoplasmic reticulum adaptor that facilitates innate immune signalling." *Nature* **455**(7213): 674-678.
- Jarrousse, V., G. Quereux, S. Marques-Briand, A. C. Knol, A. Khammari and B. Dreno (2006). "Toll-like receptors 2, 4 and 9 expression in cutaneous T-cell lymphoma (mycosis fungoides and Sézary syndrome)." *Eur J Dermatol* **16**(6): 636-641.
- Jern, P. and J. M. Coffin (2008). "Effects of retroviruses on host genome function." *Annu Rev Genet* **42**: 709-732.
- Jin, M. S., S. E. Kim, J. Y. Heo, M. E. Lee, H. M. Kim, S. G. Paik, H. Lee and J. O. Lee (2007). "Crystal structure of the TLR1-TLR2 heterodimer induced by binding of a tri-acylated lipopeptide." *Cell* **130**(6): 1071-1082.
- Jin, T., A. Perry, J. Jiang, P. Smith, J. A. Curry, L. Unterholzner, Z. Jiang, G. Horvath, V. A. Rathinam, R. W. Johnstone, V. Hornung, E. Latz, A. G. Bowie, K. A. Fitzgerald and T. S. Xiao (2012). "Structures of the HIN domain:DNA complexes reveal ligand binding and activation mechanisms of the AIM2 inflammasome and IFI16 receptor." *Immunity* **36**(4): 561-571.
- Johnson, E. L. and R. Chakraborty (2012). "Placental Hofbauer cells limit HIV-1 replication and potentially offset mother to child transmission (MTCT) by induction of immunoregulatory cytokines." *Retrovirology* **9**: 101.
- Kallas, M., I. Rosdahl, M. Fredriksson and I. Synnerstad (2006). "Frequency and distribution pattern of melanocytic naevi in Estonian children and the influence of atopic dermatitis." *J Eur Acad Dermatol Venereol* **20**(2): 143-148.
- Knöfler, M. (2010). "Critical growth factors and signalling pathways controlling human trophoblast invasion." *Int J Dev Biol* **54**(2-3): 269-280.
- Kotenko, S. V., G. Gallagher, V. V. Baurin, A. Lewis-Antes, M. Shen, N. K. Shah, J. A. Langer, F. Sheikh, H. Dickensheets and R. P. Donnelly (2003). "IFN-lambdas mediate antiviral protection through a distinct class II cytokine receptor complex." *Nat Immunol* **4**(1): 69-77.
- Kristoffersen, E. K. (1996). "Human placental Fc gamma-binding proteins in the maternofetal transfer of IgG." *APMIS Suppl* **64**: 5-36.
- Kuhn, L., S. Meddows-Taylor, G. Gray and C. Tiemessen (2002). "Human immunodeficiency virus (HIV)-specific cellular immune responses in newborns exposed to HIV in utero." *Clin Infect Dis* **34**(2): 267-276.

- Kwon, J. Y., P. Aldo, Y. You, J. Ding, K. Racicot, X. Dong, J. Murphy, G. Glukshtad, M. Silasi, J. Peng, L. Wen, V. M. Abrahams, R. Romero and G. Mor (2018). "Relevance of placental type I interferon beta regulation for pregnancy success." Cell Mol Immunol.
- Lin, S. J., P. J. Cheng, T. Y. Lin, P. T. Lee, H. S. Hsiao and M. L. Kuo (2012). "Effect of influenza A infection on umbilical cord blood natural killer function regulation with interleukin-15." J Infect Dis **205**(5): 745-756.
- Liu, M. Q., D. J. Zhou, X. Wang, W. Zhou, L. Ye, J. L. Li, Y. Z. Wang and W. Z. Ho (2012). "IFN- λ 3 inhibits HIV infection of macrophages through the JAK-STAT pathway." PLoS One **7**(4): e35902.
- Lohman-Payne, B., B. Gabriel, S. Park, D. Wamalwa, E. Maleche-Obimbo, C. Farquhar, R. K. Bosire and G. John-Stewart (2018). "HIV-exposed uninfected infants: elevated cord blood Interleukin 8 (IL-8) is significantly associated with maternal HIV infection and systemic IL-8 in a Kenyan cohort." Clin Transl Med **7**(1): 26.
- Luzuriaga, K., H. Gay, C. Ziemniak, K. B. Sanborn, M. Somasundaran, K. Rainwater-Lovett, J. W. Mellors, D. Rosenbloom and D. Persaud (2015). "Viremic relapse after HIV-1 remission in a perinatally infected child." N Engl J Med **372**(8): 786-788.
- Lysakova-Devine, T. and C. O'Farrelly (2014). "Tissue-specific NK cell populations and their origin." J Leukoc Biol **96**(6): 981-990.
- Löwer, R., K. Boller, B. Hasenmaier, C. Korbmacher, N. Müller-Lantzsch, J. Löwer and R. Kurth (1993). "Identification of human endogenous retroviruses with complex mRNA expression and particle formation." Proc Natl Acad Sci U S A **90**(10): 4480-4484.
- Malassiné, A., K. Handschuh, V. Tsatsaris, P. Gerbaud, V. Cheynet, G. Oriol, F. Mallet and D. Evain-Brion (2005). "Expression of HERV-W Env glycoprotein (syncytin) in the extravillous trophoblast of first trimester human placenta." Placenta **26**(7): 556-562.
- Mallet, F., O. Bouton, S. Prudhomme, V. Cheynet, G. Oriol, B. Bonnaud, G. Lucotte, L. Duret and B. Mandrand (2004). "The endogenous retroviral locus ERVWE1 is a bona fide gene involved in hominoid placental physiology." Proc Natl Acad Sci U S A **101**(6): 1731-1736.
- Manion, M., B. Rodriguez, K. Medvik, G. Hardy, C. V. Harding, R. T. Schooley, R. Pollard, D. Asmuth, R. Murphy, E. Barker, K. E. Brady, A. Landay, N. Funderburg, S. F. Sieg and M. M. Lederman (2012). "Interferon-alpha administration enhances CD8+ T cell activation in HIV infection." PLoS One **7**(1): e30306.
- Mayaux, M. J. (1996). "[HIV transmission from mother to child: risk factors, period, prevention. Groupe Français d'études de l'infection VIH du nouveau-né]." Arch Pediatr **3 Suppl 1**: 17s-19s.
- Mehandru, S., M. A. Poles, K. Tenner-Racz, A. Horowitz, A. Hurley, C. Hogan, D. Boden, P. Racz and M. Markowitz (2004). "Primary HIV-1 infection is associated with preferential depletion of CD4+ T lymphocytes from effector sites in the gastrointestinal tract." J Exp Med **200**(6): 761-770.
- Mi, S., X. Lee, X. Li, G. M. Veldman, H. Finnerty, L. Racie, E. LaVallie, X. Y. Tang, P. Edouard, S. Howes, J. C. Keith and J. M. McCoy (2000). "Syncytin is a captive retroviral envelope protein involved in human placental morphogenesis." Nature **403**(6771): 785-789.
- Mitola, S., M. Belleri, C. Urbinati, D. Coltrini, B. Sparatore, M. Pedrazzi, E. Melloni and M. Presta (2006). "Cutting edge: extracellular high mobility group box-1 protein is a proangiogenic cytokine." J Immunol **176**(1): 12-15.
- Montaldo, E., P. Vacca, L. Chiossone, D. Croxatto, F. Loiacono, S. Martini, S. Ferrero, T. Walzer, L. Moretta and M. C. Mingari (2015). "Unique Eomes(+) NK Cell Subsets Are Present in Uterus and Decidua During Early Pregnancy." Front Immunol **6**: 646.
- Moser, B. and P. Loetscher (2001). "Lymphocyte traffic control by chemokines." Nat Immunol **2**(2): 123-128.
- Mselle, T. F., A. L. Howell, M. Ghosh, C. R. Wira and C. L. Sentman (2009). "Human uterine natural killer cells but not blood natural killer cells inhibit human immunodeficiency virus type 1 infection by secretion of CXCL12." J Virol **83**(21): 11188-11195.
- Mulla, M. J., K. Myrtolli, J. Potter, C. Boeras, P. B. Kavathas, A. K. Sfakianaki, S. Tadesse, E. R. Norwitz, S. Guller and V. M. Abrahams (2011). "Uric acid induces trophoblast IL-1 β production via the

- inflammasome: implications for the pathogenesis of preeclampsia." *Am J Reprod Immunol* **65**(6): 542-548.
- Netea, M. G. (2014). "Immunological memory in innate immunity." *J Innate Immun* **6**(2): 117-118.
- Nowak, P., B. Barqasho, C. J. Treutiger, H. E. Harris, K. J. Tracey, J. Andersson and A. Sönnnerborg (2006). "HMGB1 activates replication of latent HIV-1 in a monocytic cell-line, but inhibits HIV-1 replication in primary macrophages." *Cytokine* **34**(1-2): 17-23.
- O'Neill, L. A. (2007). "TAMpering with toll-like receptor signaling." *Cell* **131**(6): 1039-1041.
- Ozel, M., G. Pauli and H. R. Gelderblom (1988). "The organization of the envelope projections on the surface of HIV." *Arch Virol* **100**(3-4): 255-266.
- Paul, M. E., C. Mao, M. Charurat, L. Serchuck, M. Foca, K. Hayani, E. L. Handelsman, C. Diaz, K. McIntosh, W. T. Shearer and W. a. I. T. Study (2005). "Predictors of immunologic long-term nonprogression in HIV-infected children: implications for initiating therapy." *J Allergy Clin Immunol* **115**(4): 848-855.
- Pereira, N. Z., E. C. Cardoso, L. M. Oliveira, J. F. de Lima, A. C. Branco, R. M. Ruocco, M. Zugaib, J. B. de Oliveira Filho, A. J. Duarte and M. N. Sato (2013). "Upregulation of innate antiviral restricting factor expression in the cord blood and decidual tissue of HIV-infected mothers." *PLoS One* **8**(12): e84917.
- Persaud, D., H. Gay, C. Ziemniak, Y. H. Chen, M. Piatak, T. W. Chun, M. Strain, D. Richman and K. Luzuriaga (2013). "Absence of detectable HIV-1 viremia after treatment cessation in an infant." *N Engl J Med* **369**(19): 1828-1835.
- Petry, V. and A. A. Gaspari (2009). "Toll-like receptors and dermatology." *Int J Dermatol* **48**(6): 558-570.
- Pliner, V., J. Weedon, P. A. Thomas, R. W. Steketee, E. J. Abrams, G. Lambert, B. Greenberg, M. Bamji, D. M. Thea and P. B. Matheson (1998). "Incubation period of HIV-1 in perinatally infected children. New York City Perinatal HIV Transmission Collaborative Study Group." *AIDS* **12**(7): 759-766.
- Reiche, E. M., A. M. Bonametti, J. C. Voltarelli, H. K. Morimoto and M. A. Watanabe (2007). "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* **14**(12): 1325-1334.
- Richardson, B. A., D. Mbori-Ngacha, L. Lavreys, G. C. John-Stewart, R. Nduati, D. D. Panteleeff, S. Emery, J. K. Kreiss and J. Overbaugh (2003). "Comparison of human immunodeficiency virus type 1 viral loads in Kenyan women, men, and infants during primary and early infection." *J Virol* **77**(12): 7120-7123.
- Rousseau, C. M., J. J. Just, E. J. Abrams, J. Casabona, Z. Stein and M. C. King (1997). "CCR5del32 in perinatal HIV-1 infection." *J Acquir Immune Defic Syndr Hum Retrovirol* **16**(4): 239-242.
- Semino, C., G. Angelini, A. Poggi and A. Rubartelli (2005). "NK/iDC interaction results in IL-18 secretion by DCs at the synaptic cleft followed by NK cell activation and release of the DC maturation factor HMGB1." *Blood* **106**(2): 609-616.
- Sessa, L. and M. E. Bianchi (2007). "The evolution of High Mobility Group Box (HMGB) chromatin proteins in multicellular animals." *Gene* **387**(1-2): 133-140.
- Shiau, S., R. Strehlau, J. Shen, A. Violari, F. Patel, A. Liberty, M. Foca, S. Wang, M. B. Terry, M. T. Yin, A. Coovadia, E. J. Abrams, S. M. Arpadi and L. Kuhn (2018). "Biomarkers of aging in HIV-infected children on suppressive antiretroviral therapy." *J Acquir Immune Defic Syndr*.
- Siewiera, J., H. El Costa, J. Tabiasco, A. Berrebi, G. Cartron, P. Le Bouteiller, P. Bouteiller and N. Jabrane-Ferrat (2013). "Human cytomegalovirus infection elicits new decidual natural killer cell effector functions." *PLoS Pathog* **9**(4): e1003257.
- Simister, N. E. (1998). "Human placental Fc receptors and the trapping of immune complexes." *Vaccine* **16**(14-15): 1451-1455.
- Sun, W., Y. Li, L. Chen, H. Chen, F. You, X. Zhou, Y. Zhou, Z. Zhai, D. Chen and Z. Jiang (2009). "ERIS, an endoplasmic reticulum IFN stimulator, activates innate immune signaling through dimerization." *Proc Natl Acad Sci U S A* **106**(21): 8653-8658.
- Tagarro, A., M. Chan, P. Zangari, B. Ferns, C. Foster, A. De Rossi, E. Nastouli, M. A. Muñoz-Fernández, D. Gibb, P. Rossi, C. Giaquinto, A. Babiker, C. Fortuny, R. Freguja, N. Cotugno, A. Judd, A. Noguera-

- Julian, M. L. Navarro, M. J. Mellado, N. Klein, P. Palma and P. Rojo (2018). "Early and Highly Suppressive Antiretroviral Therapy Are Main Factors Associated With Low Viral Reservoir in European Perinatally HIV-Infected Children." *J Acquir Immune Defic Syndr* **79**(2): 269-276.
- Tian, J., A. M. Avalos, S. Y. Mao, B. Chen, K. Senthil, H. Wu, P. Parroche, S. Drabic, D. Golenbock, C. Sirois, J. Hua, L. L. An, L. Audoly, G. La Rosa, A. Bierhaus, P. Naworth, A. Marshak-Rothstein, M. K. Crow, K. A. Fitzgerald, E. Latz, P. A. Kiener and A. J. Coyle (2007). "Toll-like receptor 9-dependent activation by DNA-containing immune complexes is mediated by HMGB1 and RAGE." *Nat Immunol* **8**(5): 487-496.
- Tolosa, J. M., K. S. Parsons, P. M. Hansbro, R. Smith and P. A. Wark (2015). "The placental protein syncytin-1 impairs antiviral responses and exaggerates inflammatory responses to influenza." *PLoS One* **10**(4): e0118629.
- Tolosa, J. M., J. E. Schjenken, V. L. Clifton, A. Vargas, B. Barbeau, P. Lowry, K. Maiti and R. Smith (2012). "The endogenous retroviral envelope protein syncytin-1 inhibits LPS/PHA-stimulated cytokine responses in human blood and is sorted into placental exosomes." *Placenta* **33**(11): 933-941.
- Trinh, Q. D., N. T. Pham, K. Fuwa, K. Takada, S. Komine-Aizawa, M. Honda, H. Ushijima and S. Hayakawa (2016). "High Mobility Group Box 1 Protein Enhances HIV Replication in Newly Infected Primary T Cells." *Clin Lab* **62**(12): 2305-2311.
- Trøseid, M., P. Nowak, J. Nyström, A. Lindkvist, S. Abdurahman and A. Sönnnerborg (2010). "Elevated plasma levels of lipopolysaccharide and high mobility group box-1 protein are associated with high viral load in HIV-1 infection: reduction by 2-year antiretroviral therapy." *AIDS* **24**(11): 1733-1737.
- Uleri, E., A. Mei, G. Mamei, L. Poddighe, C. Serra and A. Dolei (2014). "HIV Tat acts on endogenous retroviruses of the W family and this occurs via Toll-like receptor 4: inference for neuroAIDS." *AIDS* **28**(18): 2659-2670.
- Vargas, A., S. Zhou, M. Éthier-Chiasson, D. Flipo, J. Lafond, C. Gilbert and B. Barbeau (2014). "Syncytin proteins incorporated in placenta exosomes are important for cell uptake and show variation in abundance in serum exosomes from patients with preeclampsia." *FASEB J* **28**(8): 3703-3719.
- Wang, S., C. Cao, H. Piao, Y. Li, Y. Tao, X. Zhang, D. Zhang, C. Sun, R. Zhu, Y. Wang, M. Yuan, D. Li and M. Du (2015). "Tim-3 protects decidual stromal cells from toll-like receptor-mediated apoptosis and inflammatory reactions and promotes Th2 bias at the maternal-fetal interface." *Sci Rep* **5**: 9013.
- Wang, X., H. Wang, M. Q. Liu, J. L. Li, R. H. Zhou, Y. Zhou, Y. Z. Wang, W. Zhou and W. Z. Ho (2017). "IFN- λ Inhibits Drug-Resistant HIV Infection of Macrophages." *Front Immunol* **8**: 210.
- Winchester, R., J. Pitt, M. Charurat, L. S. Magder, H. H. Göring, A. Landay, J. S. Read, W. Shearer, E. Handelsman, K. Luzuriaga, G. V. Hillyer and W. Blattner (2004). "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* **36**(2): 659-670.
- Wyatt, R. and J. Sodroski (1998). "The HIV-1 envelope glycoproteins: fusogens, antigens, and immunogens." *Science* **280**(5371): 1884-1888.
- Yang, H., D. J. Antoine, U. Andersson and K. J. Tracey (2013). "The many faces of HMGB1: molecular structure-functional activity in inflammation, apoptosis, and chemotaxis." *J Leukoc Biol* **93**(6): 865-873.
- Young, G. R., J. P. Stoye and G. Kassiotis (2013). "Are human endogenous retroviruses pathogenic? An approach to testing the hypothesis." *Bioessays* **35**(9): 794-803.
- Zeldovich, V. B., J. R. Robbins, M. Kapidzic, P. Lauer and A. I. Bakardjiev (2011). "Invasive extravillous trophoblasts restrict intracellular growth and spread of *Listeria monocytogenes*." *PLoS Pathog* **7**(3): e1002005.
- Zhu, L., Z. Zhang, L. Zhang, Y. Shi, J. Qi, A. Chang, J. Gao, Y. Feng and X. Yang (2015). "HMGB1-RAGE signaling pathway in severe preeclampsia." *Placenta* **36**(10): 1148-1152.

