



UNIVERSIDAD DE JAÉN
Facultad de Ciencias Experimentales

Efecto de las mutaciones en el gen interferón lambda 4 (INFL4) frente a la resistencia innata contra la infección por VIH-1

Alumno: Sandra Vic Marfil

Julio, 2014

UNIVERSIDAD DE JAÉN
FACULTAD DE CIENCIAS EXPERIMENTALES

GRADO EN BIOLOGÍA

Trabajo Fin de Grado

Efecto de las mutaciones en el gen interferón lambda 4 (INFL4) frente a la resistencia innata contra la infección por VIH-1

Sandra Vic Marfil

Julio, 2014

ÍNDICE

1. Abstract
2. Resumen
3. *Key words*
4. Introducción
 - 4.1. Receptores de quimiocinas
 - 4.1.1. Beta-quimiocinas
 - 4.2. Defensinas
 - 4.3. Proteínas reguladoras de eventos post-entrada: cyclophilin A, TRIM5a, APOBEC3G, Cullin y TSG101
 - 4.4 Genes implicados en la respuesta inmune frente a la infección: IL1, IL2, IL4, IL6, IL10, IL18, VDR, CD32, Perforina, TLR y HLA.
 - 4.5. Interferón- λ 4 y su papel en resistencia a enfermedades virales
5. Objetivos
6. Materiales y metodología
 - 6.1 Pacientes y controles
 - 6.2 Aspectos éticos
 - 6.3 Selección del polimorfismo y genotipado
 - 6.4 Bioestadística y Bioinformática
7. Resultados
8. Conclusiones
9. Discusión
10. Bibliografía

1. ABSTRACT

A genetic polymorphism in interferon lambda 4 is associated with the spontaneous healing as well as with the response to interferon alpha in patients infected by hepatitis C virus (HCV). This polymorphism determines functional expression of the gene as well as a possible immune profile most favorable against possible viral infections. In this paper we propose the hypothesis that this polymorphism may also have a protective role against virus infection of Human Immunodeficiency Virus type 1 (HIV-1) in drug men infected by the Hepatitis C Virus. For this, we have optimized the diagnosis of this polymorphism as well as we have also determined genotypic frequencies in a population exposed to HIV-1 by parenteral via in two groups: HIV-1+/HCV+ (coinfected) and HIV-1-/HCV+ (exposed uninfected). We have identified that the genotype TT/TT has innate resistance to the infection by HIV-1 ($O.R. = 0,667$), while the heterozygous genotype and the homozygous genotype for the deletion increased the probability of infection ($O.R. = 1,653$) ($p = 0,01$). These data contrast with those previously published by other international teams who do not observe INFL3 genetic association of resistance to infection by HIV in serodiscordant couples as well as the progression to AIDS infection. Our data suggest that this polymorphism confers innate resistance to the infection by HIV-1 in our group of study.

2. RESUMEN

Un polimorfismo genético en interferón lambda 4, está asociado con la curación espontánea así como con la respuesta al interferón alfa en pacientes infectados por el Virus de la Hepatitis C (VHC). Este polimorfismo determina la expresión funcional del gen así como un posible perfil inmunológico más favorable frente a posibles infecciones virales. En este trabajo planteamos la hipótesis de que este polimorfismo pudiera tener también un papel protector frente a la infección por el Virus de la Inmunodeficiencia Humana Tipo 1 (VIH-1) en varones drogadictos infectados por el virus de la hepatitis C. Para ello hemos optimizado el diagnóstico de dicho polimorfismo así como determinado las frecuencias genotípicas en una población expuesta al VIH-1 por vía parenteral en dos subgrupos: VIH-1+/VHC+ (coinfectados) y otro VIH-1-/VHC+

(expuestos no infectados). Hemos identificamos que el genotipo TT/TT presenta resistencia innata a la infección por el VIH-1 ($O.R. = 0,667$), mientras que el genotipo heterocigoto y el homocigoto para la delección aumentaban la probabilidad de infección ($O.R. = 1,653$) ($p = 0,01$). Estos datos contrastan con los previamente publicados por otros dos equipos internacionales en los que no observan asociación genética de INFL3 con resistencia a la infección por VIH-1 en parejas serodiscordantes así como en la progresión a SIDA de la infección. Nuestros datos sugieren que este polimorfismo de INFL4 confiere resistencia innata a la infección por VIH-1 en nuestro grupo de estudio.

3. KEY WORDS

VIH-1, VHC, INFL4, SNP, Expuestos no infectados, drogadictos por vía parenteral.

4. INTRODUCCIÓN

De acuerdo con los datos de la ONU, viven en el mundo 40,3 millones de personas infectadas por el VIH, de las cuales 17,5 millones son mujeres y 2,3 millones son niños. La prevalencia notificada de infección por VIH-1 global fue de 1,1%, siendo el registro más alto en África subsahariana [Urban *et al.* 2010]. Además, casi el 90% de los casos de VIH-1 notificados en registros oficiales se han atribuido a las relaciones sexuales sin protección y alrededor de la mitad de ellas a las relaciones sexuales entre varones [Shirzi & Phita. 1993]. Sin embargo, la transmisión heterosexual representa el 44,5% de los casos y el número creciente de pacientes mujeres subraya la importancia de este grupo poblacional. Actualmente, el papel que juega esta vía de infección es cada vez más importante, particularmente en Estados Unidos [Magis-Rodríguez, 1997].

Se trata de una enfermedad con mecanismos subyacentes inmunopatogénicos extremadamente complejos; el proceso de la patología es multifactorial con múltiples fases que se solapan. Su carga viral es sustancial y la replicación viral se produce a lo largo de todo el curso de la infección por VIH-1 [Shirzi & Phita, 1993]. Además, este virus tiene una gran adaptación evolutiva, así, las cepas virales que circulan alrededor del mundo presentan gran heterogeneidad de genotipos distribuidos como agrupaciones genéticas naturales con

distribuciones geográficas características de infección y dispersión diferentes. El aumento de la capacidad de acción antiviral, facilitado por el desarrollo de nuevos fármacos, ha incrementado la frecuencia de mutantes virales resistentes, por esto, se dificulta la aplicación de una terapia antirretroviral exitosa [Ank & Paludan, 2009].

Aún así, la exposición al Virus de la Inmunodeficiencia Humana tipo 1 (VIH-1) no siempre está asociada con una infección productiva. Datos recopilados durante los últimos años ha permitido determinar la probabilidad de infección en función de las diversas prácticas de riesgo como contacto con sangre o relaciones sexuales no protegidas (Tabla 1).

Tipo de exposición	Número estimado de infecciones por cada 10.000 exposiciones a una fuente infectada
Transfusión de sangre	9,000
Parto	2,500
Inyección de droga	67
Coito anal receptivo	50
Aguja de laboratorio percutánea	30
Coito vaginal receptivo	10
Coito anal insertivo	6.5
Coito vaginal insertivo	5
Felación receptiva	1
Felación insertiva	0.5

Tabla 1: Probabilidad de infección en función de las diversas prácticas de riesgo de contagio. [Kaplan & Heimer, 1995], [Leynaert & Downs, 1997], [Varghese *et al.* 2002].

De esta información se desprende que la probabilidad de infección es elevada en algunos casos como transfusión de material contaminado (90%) o parto (25%). Sin embargo en otros casos la tasa de transmisión del virus es muy débil 0,67% para uso compartido de jeringuillas ó 0,1% para coito vaginal receptivo. Todo ello parece indicar que existe una inmunidad innata relativamente potente frente a la infección por VIH-1 independientemente de

otros factores que pueden condicionar la probabilidad de infección como la carga viral del individuo transmisor. Observaciones realizadas desde el principio de la epidemia de SIDA identificaron un grupo de individuos que permanecían seronegativos para VIH-1 después de múltiples eventos de exposición al virus fundamentalmente de derivados sanguíneos, uso compartido de jeringuillas y contactos sexuales de riesgo.

Estos individuos son los denominados *expuestos no-infectados* (ENIS) y constituyen un grupo muy importante para identificar factores genéticos relacionados con una resistencia natural a la infección por VIH-1. Existen varios tipos de cohortes de ENIS en función del tipo de riesgo de infección: drogadictos por vía parenteral, prostitutas, promiscuos sexuales, niños nacidos de madres seropositivas y trabajadores sanitarios expuestos accidentalmente al VIH-1 [Shacklett, 2006]. Muchos factores genéticos han sido identificados en los últimos años gracias a estudios de asociación de genes candidatos que influyen en la tasa de infección o en la velocidad del curso clínico de la infección. Estos genes pueden ser clasificados en tres tipos:

1. Polimorfismos en genes del virus que afectan a la capacidad replicativa o a su evasión del sistema inmunitario.
2. Polimorfismos humanos en genes codificantes para proteínas necesarias para la correcta entrada y replicación del virus en las células humanas.
3. Polimorfismos humanos en genes codificantes para proteínas que modulan la respuesta inmunitaria innata o adquirida frente a la infección.

Existen multitud de genes que están asociados a una resistencia parcial a la infección por VIH-1, a continuación revisaremos someramente los más importantes.

4.1. Receptores de quimiocinas

El primer correceptor descubierto fue CXCR4 [Feng *et al.* 1996] y poco después se descubrió el papel esencial de CCR5 en la infección por VIH-1 y la fuerte asociación entre la presencia en homocigosis del polimorfismo CCR5D32 y protección frente a la infección [Alkhatib *et al.* 1996], [Choe *et al.* 1996], [Deng

et al. 1996], [Dragic *et al.* 1996]. Estos experimentos constituyen la primera evidencia de la existencia de resistencia genética a la infección por VIH-1. CCR5D32 expresa un receptor truncado no funcional como correceptor viral. Aproximadamente el 1% de los individuos de origen europeo tienen este alelo en homocigosis y suelen estar sobrerrepresentados en las cohortes de ENIS [Dean *et al.* 1996], [Samson *et al.* 1996], [Salkowitz *et al.* 2001]. Infecciones de individuos CCR5D32 homocigotos por virus dependientes de CXCR4 son extremadamente raras [O'Brien *et al.* 1997], [Theodorou *et al.* 1997] por lo que generalmente se considera que este polimorfismo confiere una resistencia casi completa a la infección. Otras mutaciones en este receptor como C20S, C101X y T303A también aparecen en una mayor frecuencia en cohortes de ENIS aunque su papel en la protección de la infección no está completamente aclarado [Winkler *et al.* 1998], [Blanpain *et al.* 2000]. También existen polimorfismos del promotor de CCR5 que potencialmente cambian el nivel de expresión del ARNm. El haplotipo CCR5P1 está asociado con una progresión más rápida a SIDA en europeos pero no en africanos probablemente mediada por un nivel más elevado de transcripción génica [Hladik *et al.* 2005]. CCR5 representa el arquetipo del objetivo de los estudios de asociación génica, ya que no sólo predice la probabilidad de infección sino que constituye una nueva diana antiviral. Actualmente existen varias drogas en desarrollo clínico que funcionan como antagonistas de este receptor con capacidad de bloquear la entrada viral, por ejemplo aplaviroc, maraviroc y viviviroc [Kilby & Eron, 2003]. Otros receptores de quimiocinas han sido relacionados con resistencia a la progresión de la infección, como CCR2I64V o CX3CR1 aunque no influyen en la probabilidad de transmisión del virus [Smith *et al.* 1997], [Faure *et al.* 2000].

4.1.1. Beta quimiocinas.

MIP1a, MIP1b y RANTES son los ligandos naturales de CCR5 y presentan una actividad supresora de la entrada del VIH-1 en las células diana. Varios tipos de polimorfismos en estos genes han sido asociados a resistencia a la infección, como los SNPs -403G/A y -28 C/G del promotor de RANTES [Zagury

et al. 1998], [Gallo *et al.* 1999], polimorfismos de número de copias de MIP1a [González *et al.* 2005] o SNPs de zonas reguladoras de MIP1b [Colobran *et al.* 2005]. SDF1 es el ligando de CXCR4 y un polimorfismo en su región 3'UTR ha sido asociado a progresión [Winkler *et al.* 1998], sin embargo otros autores no han logrado replicar los datos en otras cohortes [Loannidis *et al.* 2001], así que actualmente no está claro su papel en la patogénesis del SIDA. Otras quimiocinas como MCP1, MCP3 y Eotaxina que se unen a CCR2 y CCR3 pero no a CCR5, también han sido relacionadas con la infección por VIH-1, probablemente mediante un efecto indirecto por reclutamiento de células inmunes y aumento de la propagación viral *in vivo* [Modi *et al.* 2006].

DC-SIGN es una lectina implicada en la transmisión del VIH-1 desde las células dendríticas a los linfocitos T, un fenómeno denominado *trans-infección*. DC-SIGN es expresada en células dendríticas inmaduras así como linfocitos B. DC-SIGN captura partículas virales a través de residuos polisacáridicos de la gp120 y las acumula en subcompartimentos celulares donde son almacenadas. Posteriormente estas partículas pueden ser transferidas a linfocitos T en los órganos linfoides primarios [Turville *et al.* 2003], [Ji *et al.* 2005]. Las células dendríticas son las primeras en contactar con el virus en la mucosa genital y una vez infectadas migran a los ganglios linfáticos donde transfieren virus a las células T. El papel desempeñado por las células dendríticas facilitando la infección sugiere un rol posible para variantes de DC-SIGN y otras lectinas similares en la transmisión del VIH-1. Un polimorfismo en la posición -336 del promotor de DC-SIGN ha sido descrito como implicada en la resistencia a la infección por vía parenteral pero no sexual en una cohorte americana [Liu *et al.* 2004], [Martín *et al.* 2004]. También un polimorfismo de repetición en la región codificante podría también tener un cierto papel en la infección [Liu *et al.* 2004].

4.2. Defensinas

Son péptidos pequeños que muestran actividad antiviral y antimicrobiana. Son producidos por leucocitos y células epiteliales en respuesta a bacterias, virus y hongos [Cole & Ganz, 2000], [Aldred *et al.* 2005], [Jenssen *et al.* 2006]. Las defensinas funcionales humanas se clasifican en las subfamilias alfa y beta, difiriendo en su talla y distribución tisular. Las defensinas alfa y beta cuentan

con 6 miembros cada una que muestran una actividad antiviral por inactivación del virión, bloqueo de CD4 y CXCR4 o bien como agonistas de CCR6 que influyen en la replicación del VIH-1. Por el momento sólo dos estudios han encontrado genotipos en estos genes asociados con probabilidad de transmisión del virus por vía materno-fetal [Braidá *et al.* 2004], [Segat *et al.* 2006]. Curiosamente, los genes de defensinas presentan polimorfismos de duplicación similares a los de MIP1a y podrían ser nuevos candidatos para encontrar nuevas interacciones con susceptibilidad a la infección [Aldred *et al.* 2005].

4.3. Proteínas reguladoras de eventos post-entrada: Cyclophilin A, TRIM5a, APOBEC3G, Cullin y TSG101

Son proteínas implicadas en procesos de inmunidad innata frente a virus y otros retrotransposones, aunque no se comprende completamente su mecanismo de acción, pertenecen a una familia génica muy antigua, pues se han encontrado genes ortólogos incluso en plantas como *Arabidopsis*. CypA es necesaria para la replicación viral, promoviendo un fuerte incremento en la infectividad del virus, aunque no se incorpora a las partículas virales. Varios SNPs de la CypA han sido asociados con la infección por VIH-1 y la progresión de la enfermedad. Un equipo de investigación ha fenotipado el efecto de los polimorfismos, observando una correlación entre la capacidad de replicación viral en un contexto celular y la presencia de haplotipos concretos de CypA.

TRIM5A es una proteína que interacciona con la cápsida viral, ortólogos de otras especies relacionadas con la nuestra como el mono Rhesus tienen actividad antiviral, sin embargo, la proteína de nuestra especie aparentemente tiene una menor capacidad inhibitoria de la replicación viral. Un haplotipo de este gen que contiene un cambio no sinónimo en la secuencia está asociado a individuos expuestos no infectados [Javanbakht *et al.* 2006]. Resulta muy interesante que existen mutaciones de escape en el gen de la cápsida viral que están asociadas con una resistencia a la acción de TRIM5a, lo cual indicaría que existe una presión selectiva para evitar la acción de TRIM5a.

Las células humanas cuentan con otro mecanismo que evita la infección por VIH-1 antes de que ocurra la integración. El enzima APOBEC3G funciona como un inhibidor endógeno de la replicación viral [Harris *et al.* 2003], [Mangeat *et al.* 2003]. En ausencia de la proteína viral Vif, el enzima APOBEC3G es incorporada a los viriones y durante la retrotranscripción produce la desaminación de las citosinas, transformándolas en uracilos, resultando en una hipermutación de G a A en la cadena de ADN viral. Esta hipermutación es letal para el virus. La importancia de la respuesta antiviral innata vía APOBEC3G queda de manifiesto por la presencia de variantes genéticas tanto de Vif como de APOBEC3G que están asociadas con la progresión de la enfermedad [Bleiber *et al.* 2005] aunque esta relación no ha sido confirmada posteriormente [Do *et al.* 2005]. El gen codificante para la Cullin ha sido asociado también con un efecto aditivo al de APOBEC3G en africanos [An *et al.* 2007], otros estudios son necesarios para confirmar esta asociación y su posible base molecular.

Los componentes de la maquinaria celular necesarios para el ensamblaje y liberación de viriones HIV-1 ha sido documentada extensamente en los últimos años, por ejemplo TSG101 implicado en el *sorting* de proteínas transmembrana interacciona con GAG promoviendo una correcta gemación del virus en la membrana plasmática. Varios estudios han identificado SNPs en este gen asociados con reducción de la tasa de replicación viral *in Vitro* [Bleiber *et al.* 2005] aunque su papel *in vivo* está discutido [Bashirova *et al.* 2006]. Otros genes relacionados con esta etapa no han sido estudiados hasta el momento.

4.4. Genes implicados en la respuesta inmune frente a la infección: IL1, IL2, IL4, IL6, IL10, IL16, IL18, VDR, CD32, Perforina, TLR y HLA

Entre los genes relacionados con la respuesta inmune más caracterizados por su relación con la infección por VIH están los HLA [Carrington & O'Brien, 2003], [O'Brien & Nelson, 2004], [Klaslow *et al.* 2005] que influyen tanto en la variación de la carga viral como en la esperanza de vida [Fellay *et al.* 2007] y el HCP5 fuertemente asociado con la carga viral en un estudio reciente [Fellay *et al.* 2007]. En los genes de citoquinas se han encontrado asociaciones con IL1 [Do *et al.* 2006], IL2 [Shrestha *et al.* 2006], IL4 [Modi *et al.* 2003], [Vailescu *et al.* 2003], [Soriano *et a.* 2005], IL16 [Macisek *et al.* 1997], [Scala *et al.* 1997], [Zhou

et al. 1997], [Komfeld & Cruikshank *et al.* 2001], IL18 [Segat *et al.* 2006] y el Interferón alfa [Diop *et al.* 2006]. Nuestro equipo de la Universidad de Jaén ha participado en colaboración con la Universidad de Lleida en la descripción de la asociación de haplotipos del receptor de la Vitamina D con resistencia a la infección por VIH-1 en drogadictos por vía parenteral y en la caracterización de su efecto sobre la maduración de células dendríticas así como sobre la activación de la LTR viral (Torres *et al. submitted*). Polimorfismos de este receptor están también asociados con resistencia a otras enfermedades virales como HTLV-I [Saito *et al.* 2005] y hepatitis B [Suneetha *et al.* 2006] lo cual sugiere que podría afectar a procesos de inmunidad general antiviral.

Los *Toll-Like Receptors* constituyen una familia de proteínas que participan en la inmunidad innata frente a agentes infecciosos. Reconocen motivos estructurales conservados en patógenos como lípidos, proteínas o polisacáridos. Hasta el momento sólo ha sido estudiado el papel de polimorfismos genéticos en el TLR9 y su relación con una rápida progresión a SIDA [Bochud *et al.* 2007].

Los receptores FC gamma IIa (CD32) se expresan en células B y monocitos, jugando un papel en la opsonización de patógenos recubiertos de anticuerpos, polimorfismos de este gen han sido descritos como importantes en la transmisión madre-hijo en una cohorte de Kenia [Brouwer *et al.* 2004]. También se han identificado ciertos polimorfismos en el promotor de la Perforina asociados con individuos LTNP en una cohorte francesa [McIlroy *et al.* 2006].

Finalmente en dos estudios recientes se han identificado polimorfismos de genes fuertemente asociados con carga viral o tasa de progresión y cuya relación con la replicación viral no está clara, por ejemplo el *ring finger protein 39* (RNF39), *zinc ribbon domain-containing 1* (ZNRD1) ⁽⁵²⁾ postulándose como posibles interactores con Rev o la maquinaria de transcripción celular que afecta al promotor viral [Fellay *et al.* 2007] y *glycosyl-phosphatidyl -inositol-anchored protein 1* [Loeuillet *et al.* 2008] de función desconocida en relación con la replicación viral.

4.5. Interferón λ -4 y su papel en resistencia a enfermedades virales

Recientemente, el equipo de Prokunina-Olsson [Prokunina-Olsson *et al.* 2013] descubrió que existe otro gen corriente arriba de INFL3 y que denominaron INFL4. Este mismo estudio demostró que la variante de INFL3 asociada a resistencia a la infección por VHC está ligada por desequilibrio de ligamiento con una variante de INFL4 que impide la correcta traducción del ARNm de este gen y esta variante se corresponde con la mutación por inserción (TT) que, además, está presente en la población asiática con una frecuencia de 93,3%, también se localiza en un 67,6% dentro de la población europea y, en menor porcentaje, dentro de la población africana con un 23,3% del total [Prokunina-Olsson *et al.* 2012]. Por el contrario, la variante de riesgo para la infección por VHC consiste curiosamente en la que permite la expresión de la proteína, que resulta ser la variante génica por delección (Δ G). La base molecular del fenómeno no está determinada pero posiblemente, la variante de riesgo produzca un cortocircuito en la ruta de señalización del interferón alfa o en los genes inducidos por el mismo. Por tanto, el INFL4 parece tener efectos funcionales en la expresión de IL28B (o INFL3); de hecho, ambos polimorfismos, el rs469415590 (del INFL4) y el rs1297860 (del INFL3) están localizados en el gen INFL4. Además, la forma TT del polimorfismo rs469415590 muestra una mayor expresión en IL28B en comparación con la forma Δ G, independientemente del genotipo del polimorfismo rs12979860 [Bibert *et al.* 2013]. Además, comparado con el SNP rs12979860, comprobaron que el polimorfismo rs469415590 estaba más fuertemente asociado con el descenso de niveles de carga viral en individuos con ancestros africanos ($p = 0,015$) tras suministrarles el tratamiento con interferón-alfa pegilado más ribavirina (INF- α peg/RBV), siendo también aplicable este hecho a poblaciones europeas y asiáticas (Figura 1).

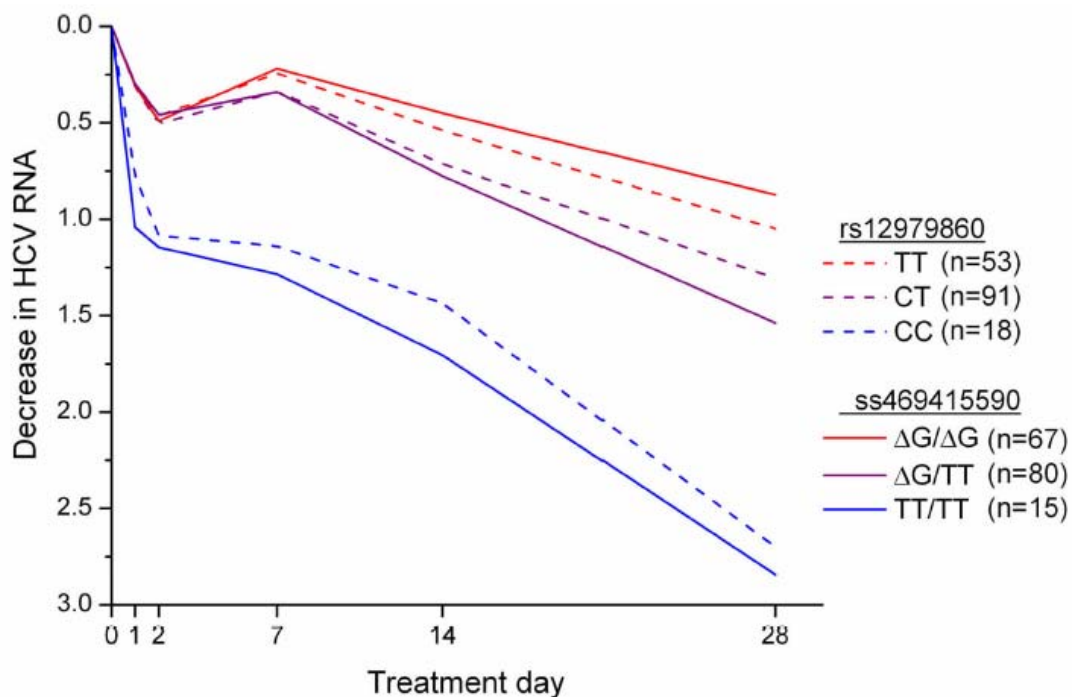


Figura 1: Gráfico sacado de un artículo científico [Prokunina-Olsson *et al.* 2013]: Bajada de los niveles de ARN del VHC en participantes afro-americanos durante 28 semanas de tratamiento con INF- α peg/RBV en comparación con el polimorfismo asociado a INFL3. $p = 0,015$.

Unos meses después, el investigador Yuko Nagaoki [Nagaoki *et al.* 2014] evaluó con su grupo de trabajo la eficacia y el factor predictivo para la respuesta viral sostenida (SVR) del polimorfismo del INFL4 en la triple terapia con telaprevir (TVR), interferón alta pegilado (PEG INF- α) y ribavirina (RBV) en pacientes infectados por el virus de la hepatitis C con alta carga viral durante 24 semanas ya que este nuevo fármaco (telaprevir) es un inhibidor selectivo de la actividad proteasa de la proteína no estructural 3/4A del VHC con el que se espera un incremento marcado de la respuesta viral sostenida (SVR); no obstante, efectos adversos de la terapia podrían ocasionar severas consecuencias [Hézode *et al.* 2009], [Mchutchison *et al.* 2009], [Jacobson *et al.* 2011], [Kumada *et al.* 2012]. Cabe especificar que se conoce como Respuesta Viral Sostenida (o Reducción Vírica Sostenida) a la reducción continua y prolongada de la carga viral (ARN del VIH) de una persona, por lo general, a concentraciones indetectables como resultado del tratamiento con medicamentos antirretrovirales (INF- α peg/RBV). Cimentaron el estudio sobre 283 pacientes de los cuales, 226 recibieron el tratamiento pegINF- α /RBV con

telaprevir (80%) y dentro de este subgrupo, los pacientes con tratamiento previo favorable de INF- α /RBV (85%) y los pacientes con recaídas tras suministrarles el mismo tratamiento (94%) mostraron mayores tasas de respuesta viral sostenida (SVR) en comparación con pacientes que no respondieron al tratamiento (61%), lo que sugirió que tanto los pacientes con el tratamiento previo como los que recibieron éste, y posteriormente recayeron, eran los mejores candidatos para la aplicación de la triple terapia. Así mismo, el genotipo de INFL4 es un importante factor predictivo de la probabilidad de eliminación del virus con la triple terapia; concretamente, los pacientes con favorable tratamiento previo y con el genotipo TT/TT poseen un 93% de probabilidad de erradicar el virus ($p = 0,002$), por lo que este tratamiento les resulta muy eficaz [Nagaoki *et al.* 2014].

Con estos antecedentes de estudio, el SNP rs469415590 sería más eficaz para predecir la respuesta viral sostenida (*Sustained Viral Response* o SVR) que la variante rs12979860 a pesar de compartir características funcionales y de estar ligados por desequilibrio de ligamiento.

5. OBJETIVOS

Determinar si las mutaciones en el gen interferón lambda 4 tienen un papel en la resistencia innata frente al VIH-1.

6. MATERIALES Y METODOLOGÍA

6.1. Pacientes y controles

La población de estudio consistió en 459 hombres blancos, todos de origen español, infectados por el VHC y usuarios de drogas por vía parenteral. Los pacientes proceden de los hospitales de Valme (Sevilla), Reina Sofía (Córdoba) y Arnau de Villanova (Lleida). La población se diferenció en dos cohortes: VIH-1+/VHC+: 303 El otro grupo compuesto por 156 sujetos controles en total eran “expuestos no infectados” (afectados VHC únicamente).

6.2. Aspectos éticos

Este estudio fue diseñado y realizado de acuerdo a la Declaración de Helsinki y fue aprobado por la Junta de Revisión Institucional de Sujetos Humanos del Comité de Bioética. Además, la Junta de Revisión Institucional para el Comité de Bioética de la Universidad de Jaén colaboró aprobando la transferencia y el uso de materiales para la investigación. Todos los pacientes y donantes dieron su consentimiento informado por escrito para participar en este estudio.

6.3. Selección del polimorfismo y genotipado

La separación de células mononucleares de sangre periférica de los pacientes se realizó a través del método de purificación mediante centrifugación por gradiente de densidad denominado *Ficoll-Hypaque*, de forma que se mezclaron las muestras de sangre periférica con solución PBS 1X y posteriormente, en un tubo Falcon con *Ficoll-Hypaque* se depositó tal mezcla; por último, se centrifugó el tubo y se formó un anillo de células mononucleares que se recogieron con pipeta Pasteur.

La extracción de ADN se realizó en los hospitales de procedencia de las muestras.

La identificación de los genotipos de cada uno de los pacientes fue realizada mediante la técnica de PCR en tiempo real utilizando los termocicladores *Eco Illumina* (Illumina, San Diego, California, USA) y *MxProQPCR*; ambos se basan en la detección y análisis de los productos amplificados en cada ciclo de la reacción, así que nos permite diagnosticar la posible mutación en el genoma, además de que resulta posible cuantificar la cantidad de ADN en la muestra (a diferencia de la PCR punto final en la cual no es posible detectar en tiempo real ni cuantificar la secuencia, lo que ahorra la manipulación en gen de agarosa) [Tamay de Dios *et al.* 2012].

Se hizo una mezcla con los distintos materiales necesarios para llevar a cabo la técnica de PCR (Tabla 2): el reactivo *Biotoools* contenía todos los componentes de la reacción de PCR a excepción del ADN genómico humano, los *primers*

sentido (5'-GCCTGCTGC AGA AGC GGT AGT G-3') y antisentido (5'-GCT CCA GCG AGC GGT AGT-3'), así como la sonda marcada con el fluorocromo *HEX* para ADN con mutación por inserción (5'-ATCGCAGAAGGCC-3') y la sonda *FAM* para alelo con la delección (5'- ATCGCAG CGGCC-3'). Por último, se añadió agua destilada.

Materiales	Volumen (μL)
<i>Biotools</i> 10x	6,25
Cadena sentido (200 pmol/μL)	0,5
Cadena antisentido (200 pmol/μL)	0,5
Sonda HEX (100 pmol/ μL)	0,2
Sonda FAM (100 pmol/ μL)	0,2
Agua destilada	2,95
ADN (10 ng/μL)	0,5

Tabla 2: Materiales necesarios para la preparación de la PCR a tiempo real junto al volumen requerido.

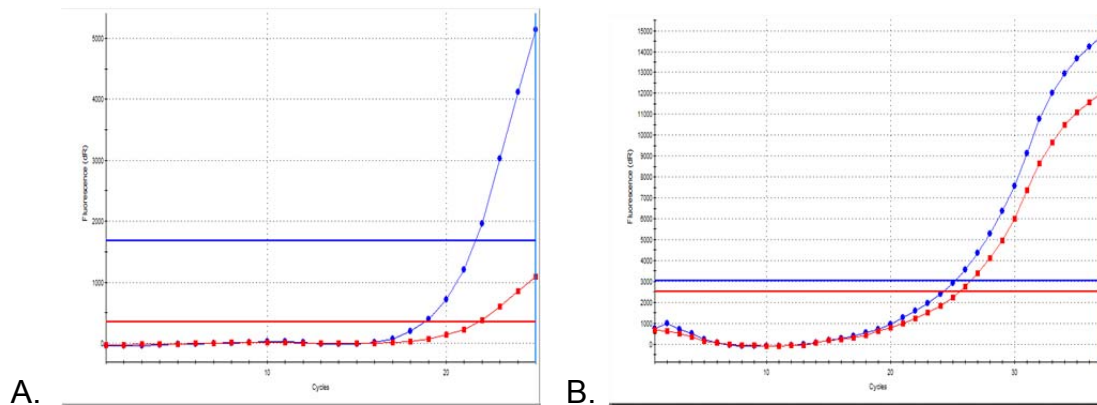
La metodología que se siguió para conseguir resultados fue la siguiente:

- Mezcla de los distintos componentes necesarios para el ensayo con PCR.
- Reparto de la mezcla total en pocillos independientes de PCR con un volumen de 10,5 μL más 0,5 μL de ADN genómico.
- Ensayo de 40 ciclos de PCR en tiempo real para detectar y cuantificar las secuencias específicas de ácidos nucleicos usando reporteros fluorescentes en la reacción (Tabla 3).
- Identificación y cuantificación de genotipos (TT/TT – TT/ ΔG – $\Delta\text{G}/\Delta\text{G}$) finalizado el ensayo de PCR (Figura 2).

- Análisis de resultados: cálculo del Equilibrio Hardy-Weinberg y Test de asociación.

Temperatura	Tiempo
Ciclos 1-15 SIN FLUORESCENCIA	
95 °C	5 minutos
95 °C	20 segundos
61 °C	1 minuto
Ciclos 16-40 CON FLUORESCENCIA	
95 °C	5 minutos
95 °C	20 segundos
61 °C	1 minuto

Tabla 3: Temperaturas y tiempo programado en la técnica de PCR en tiempo real.



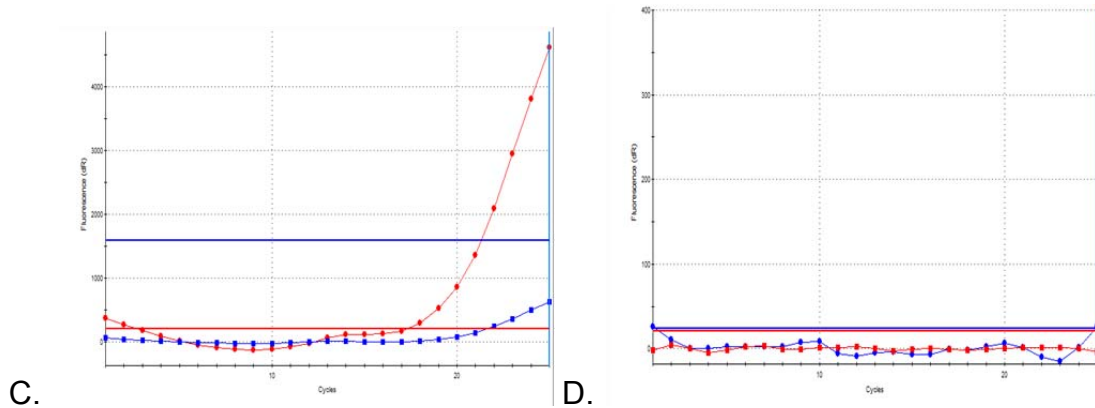


Figura 2: Resultados gráficos tras el análisis por PCR en tiempo real de la población de “expuestos no infectados” en Córdoba. A: individuo homocigoto para la inserción; B: individuo heterocigoto; C: individuo homocigoto para la delección; D: control negativo.

6.4. Bioestadística y Bioinformática

Todos los datos obtenidos con la técnica de PCR en tiempo real fueron analizados con el programa web <http://ihg.gsf.de/cgi-bin/hw/hwa1.pl> versión V4.1 el cual calcula el equilibrio Hardy-Weinberg mediante el test de χ^2 usando un grado de libertad, necesario para asegurar que los resultados que obtuvimos no contienen errores de genotipado. De forma paralela, se elaboró con el mismo programa un test de asociación con el fin de identificar el alelo de riesgo y el alelo de protección en base al cálculo de *odds ratio*, una opción estadística que representa un riesgo (cuando el valor obtenido es superior a 1), mientras que el alelo de protección se identificaría por un valor inferior a 1.

Este análisis estadístico se utiliza en los estudios de casos y controles permitiendo reconocer el valor propuesto como factor de riesgo o de protección de una exposición, así como identificar la magnitud o fuerza de la asociación, lo que permite hacer comparaciones ya que el valor que se obtiene es independiente según la condición de estudio. En cuanto al método para calcular el valor de *odds ratio* (O.R.), se establece la siguiente fórmula:

	Casos	Controles
Expuestos	a	b
No expuestos	c	d

$$\text{O.R.} = \frac{\text{Odds de enfermedad en expuestos (1)}}{\text{Odds de enfermar en no expuestos (2)}}$$

(1): Odds de enfermar en expuestos = casos en expuestos / no-casos en expuestos

(2): Odds de enfermar en no expuestos = casos en no expuestos / no-casos en no expuestos

De forma resumida, la fórmula se describe como:

$$\text{O.R.} = \frac{a/b}{c/d} = \frac{a \times d}{c \times b}$$

Este estudio de asociación también se realizó con el software *OpenEpi* versión 3.01 (desarrollo financiado parcialmente por una beca *Bill and Melinda Gates Foundation* a la *Rollins School of Public Health* de la Universidad de Emory) con el cual evaluamos la asociación de enfermos y no enfermos por el VIH-1 frente a la exposición y no exposición a la enfermedad tanto en el caso de la inserción como factor de riesgo como en el caso de la delección. Todos los valores de p fueron asegurados repitiendo los análisis en tres ocasiones y se consideraron como significativos sólo cuando dicho valor era menor a 0,05 ($p < 0,05$).

El test de Chi-cuadrado (χ^2) se incluye dentro de los denominados “test de ajuste estadístico” y es considerada una prueba que mide la discrepancia entre una distribución observada y otra teórica (bondad de ajuste), indicando en qué medida las diferencias existentes entre ambas, de haberlas, se deben al azar, y no por la hipótesis que se plantea. De este modo, cuanto mayor sea el valor de χ^2 , menos verosímil es que la hipótesis sea correcta, mientras que cuanto más se aproxime a cero el valor de chi-cuadrado, más ajustadas estarán ambas distribuciones.

$$\chi^2 = \sum \frac{(\text{observada} - \text{teórica})^2}{\text{teórica}}$$

La metodología establecida para obtener resultados se basó en elaborar dos hipótesis diferentes; con la primera hipótesis se asignó a la mutación por

inserción el papel de factor de riesgo; es decir, todos aquellos genotipos homocigotos para la inserción (*Inserción-Inserción*) y heterocigotos (*Inserción-Delección*), mientras que la segunda hipótesis planteada destinó tal papel de factor de riesgo al cambio por delección, de manera que en este caso, estarían involucrados los genotipos homocigotos para la delección (*Delección-Delección*) y los heterocigotos (*Delección-Inserción*). De este modo, comparamos ambos resultados para averiguar qué genotipo actuaba como alelo de protección frente a la infección por VIH-1 desarrollando pues una resistencia innata a la infección por el virus ($O.R.<1$). Por tanto, el otro genotipo se tendría como factor de riesgo de infección por el VIH-1.

7. RESULTADOS

Los pacientes participantes en este estudio experimental portaron las siguientes características (Tabla 4):

Expuestos a drogas inyectables

	ENIS	COINFECTADOS
Edad media (años)	43	44
Varones (%)	100%	100%
Mujeres (%)	0%	0%
Origen	Hispano	Hispano
Nº participantes	156	303
Genotipo 1 de VIH (%)		59,17%
Genotipo 2 de VIH (%)		0,30%
Genotipo 3 de VIH (%)		28,46%
Genotipo 4 de VIH (%)		11,98%

Tabla 4: Características de ambas poblaciones.

Antes de comenzar a analizar los datos, se calculó el equilibrio Hardy-Weinberg en ambas cohortes para descartar errores en el genotipado (Tabla 5).

ENIS	Coinfectedos
n11 = 89 (85,51)	n11 = 135 (131,35)
n12 = 53 (59,97)	n12 = 129 (136,29)
n22 = 14 (10,51)	n22 = 39 (35,35)
F = 0,11624	F = 0,05350
p = 0,146541 (Pearson)	p = 0,351685 (Pearson)
p = 0,154282 (Llr)	p = 0,353376 (Llr)
p = 0,147339 (Exact)	p = 0,371413 (Exact)

Tabla 5: Equilibrio Hardy-Weinberg para el SNP rs469415590 de ambas cohortes. n11: TT/TT ; n12: TT/ Δ G ; n22: Δ G/ Δ G.

El reparto de genotipos en ambas poblaciones, una vez realizados los análisis por PCR en tiempo real, se refleja en la siguiente ilustración (Figura 3).

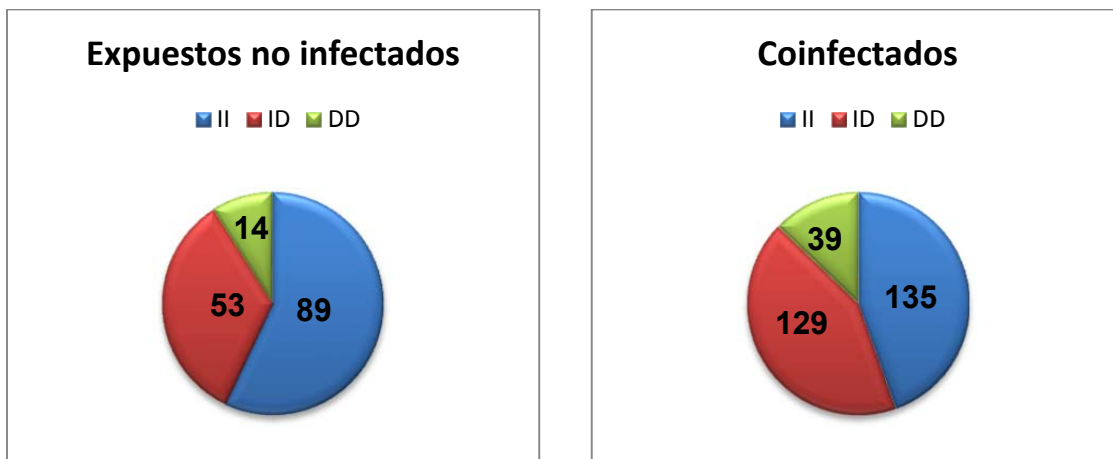


Figura 3: Distribución de ambas cohortes según los genotipos tras los estudios con PCR cuantitativa.

Una vez comprobado que las dos poblaciones se encontraban en equilibrio, estimamos las frecuencias tanto genotípicas (Figura 4) como alélicas (Figura 5) de las dos cohortes con el fin de identificar el genotipo y el alelo, respectivamente, más abundante en cada grupo.

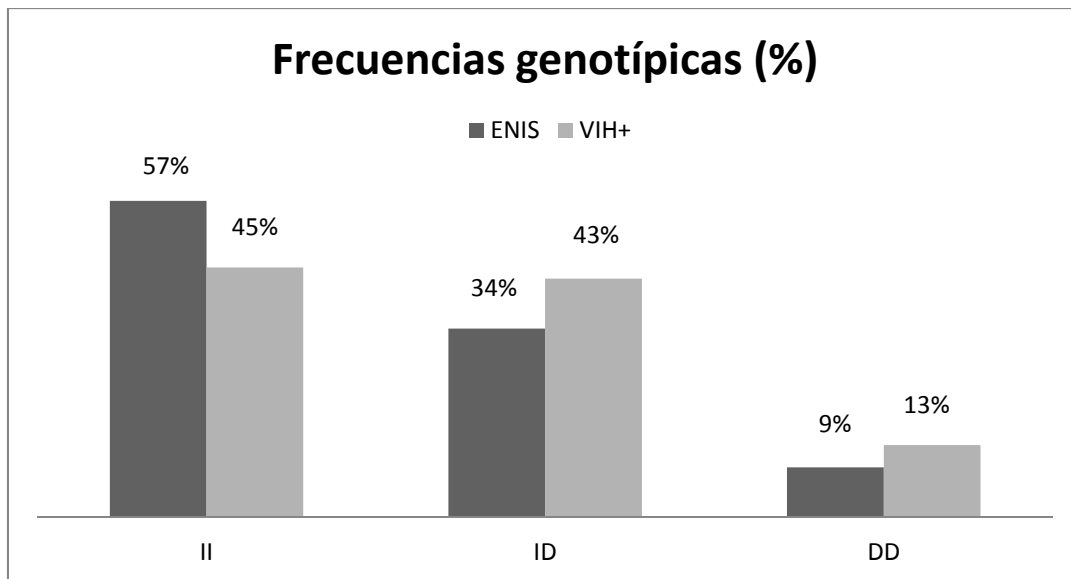


Figura 4: Frecuencias genotípicas (%) de ambas cohortes.

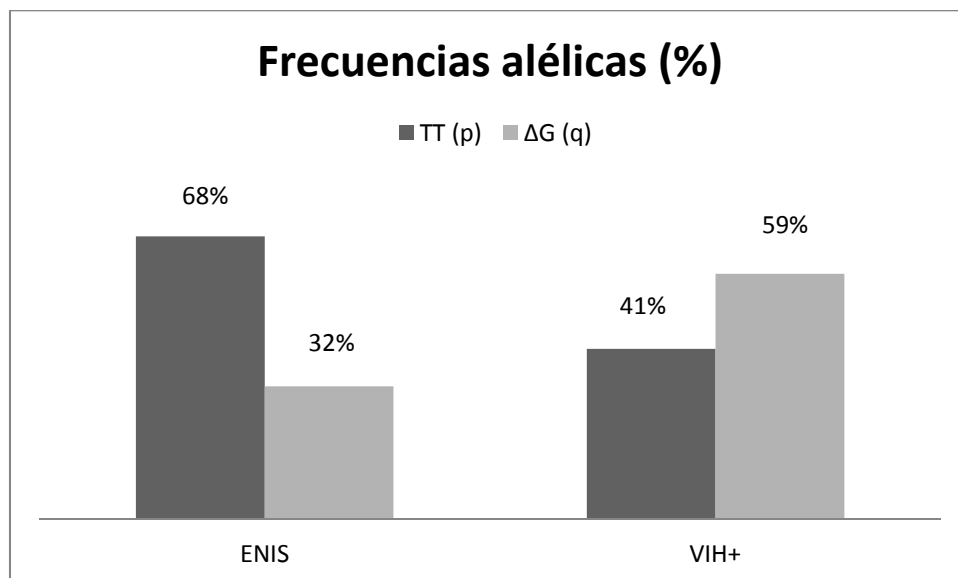


Figura 5: Frecuencias alélicas (%) de ambas cohortes.

Mientras que el genotipo TT/TT (identificado en el gráfico como “II”) es un 12% más frecuente en la población de expuestos no infectados (ENIS) respecto a la de coinfectados (VIH+), tanto el genotipo heterocigoto TT/ΔG (representado como “ID”) como el genotipo homocigoto ΔG/ΔG (“DD” en el gráfico) son algo más abundantes en la cohorte de coinfectados en comparación con la de ENIS. Por ello, se representó un modelo dominante para la forma de la delección (TT/ΔG + ΔG/ΔG) (Figura 6) y otro modelo similar para la forma de la inserción (TT/TT + TT/ΔG) (Figura 7) para determinar cuál de las dos posibilidades resultaba significativa.

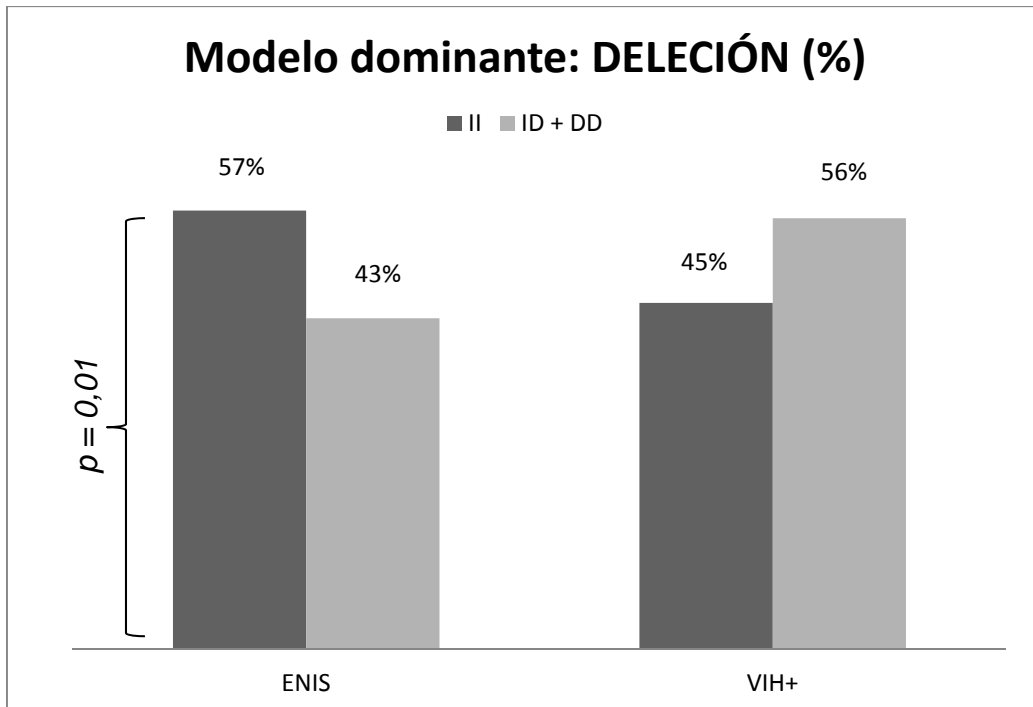


Figura 6: Frecuencias genóticas estableciendo un modelo dominante para la delección. Valor significativo de p ($p = 0,01$).

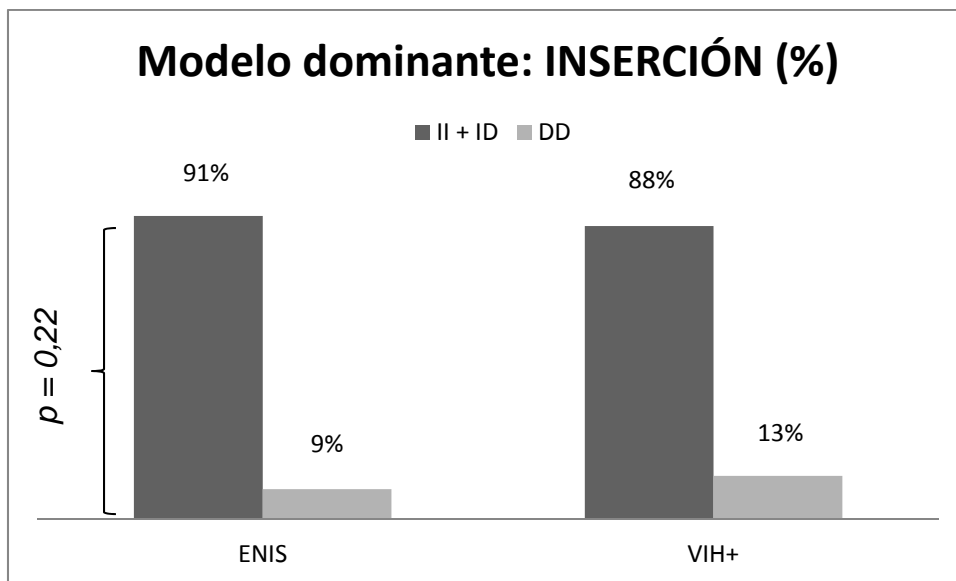


Figura 7: Frecuencias genóticas estableciendo un modelo dominante para la inserción. Valor no significativo de p ($p = 0,22$).

A continuación se hizo el test de asociación para cada población de forma independiente, interpretando por una parte, la forma de la delección como factor de riesgo y, posteriormente, proporcionándole el mismo papel a la inserción (Tabla 6).

	Factor de riesgo: INSERCIÓN	Factor de riesgo: DELECIÓN
Positividad del alelo	II + ID << >> DD	DD + ID << >> II
Odds ratio	0,667	1,653
Valor de p	0,21594	0,01118

Tabla 6: Test de asociación para el alelo de riesgo del SNP rs469615590 en la población de expuestos no infectados y de coinfectados.

Por último, con el fin de comprobar que no existían errores de cálculo, se realizaron los mismos tests con tablas de asociación 2x2 a través del software *OpenEpi* versión 3.01 (desarrollo financiado parcialmente por una beca *Bill and Melinda Gates Foundation* a la *Rollins School of Public Health* de la Universidad de Emory) (Tabla 7).

1.

	Enfermedad +	Enfermedad -
Exposición +	168	67
Exposición -	135	89

Valor de p	0,01150
OR	1,651

2.

	Enfermedad +	Enfermedad -
Exposición +	264	142
Exposición -	39	14

Valor de p	0,2186
OR	0,6679

Tabla 7: test de asociación con tablas 2x2. 1: tabla 2x2 para la delección como factor de riesgo. 2: tabla 2x2 para la inserción como factor de riesgo.

8. CONCLUSIONES

Tanto la cohorte de expuestos no infectados como la de coinfectados cumplieron el equilibrio Hardy-Weinberg ya que tanto la suma de las frecuencias alélicas ($p + q$) como la de las frecuencias genotípicas ($p^2 + 2pq + q^2$) de los datos observados no eran estadísticamente diferentes de los esperados.

En cuanto a las frecuencias genotípicas, se observó que el genotipo homocigoto para la inserción (TT/TT) era un 12% más frecuente en la

población de ENIS (57%) respecto a la población de VIH+ o coinfectados, que se encontraba en un 45% del total de la población. Por el contrario, tanto el genotipo heterocigoto (TT/ Δ G) como el homocigoto para la delección (Δ G/ Δ G) estaban presentes en mayor cantidad dentro de la cohorte de coinfectados (43% y 13% respectivamente). Esto nos llevó a pensar que hubiera un caso de modelo dominante para la forma de la delección, de modo que se representó gráficamente estas mismas frecuencias genotípicas, pero aplicando el modelo dominante a la delección por un lado, y para la variante de la inserción por otro con el fin de observar en cuál de los casos aparecían cambios significativos que nos corroborara la existencia del modelo.

Cuando el modelo dominante lo planteamos para la inserción (TT/TT + TT/ Δ G), el valor de p no resultó significativo ($p = 0,21$). Por tanto, descartamos la hipótesis de que la inserción fuera la protagonista de este modelo. Sin embargo, cuando establecimos el modelo dominante para la delección (TT/ Δ G + Δ G/ Δ G), obtuvimos un valor significativo de p ($p = 0,01$) de modo que afirmamos la presencia de modelo dominante, en este caso, para la variante de la delección.

Además, tras calcular las frecuencias alélicas a partir de las genotípicas con el equilibrio Hardy-Weinberg, representamos gráficamente los valores, con lo que observamos que en la población de expuestos no infectados el alelo abundante (68%) era el de la inserción (TT), a diferencia del grupo de coinfectados en el cual el alelo más frecuente fue el de la delección (Δ G) con un porcentaje del 59% en total de la población.

En cuanto al test de asociación, establecimos dos hipótesis diferentes donde asignábamos a la variante por inserción por un lado, y a la forma delecionada por otro, el papel de factor de riesgo para determinar cuál de los dos polimorfismos posibles del gen INFL4 se asociaba de manera significativa ($p = 0,01$) con la alta probabilidad de infectarse con el VIH-1, evidenciando que el modelo dominante de la delección (TT/ Δ G + Δ G/ Δ G) era el factor de riesgo con un valor de *odds ratio* de 1,65 (O.R. > 1) y, por ende, la variante por inserción del gen recibía el papel protector (O.R. = 0,667), asociándose pues con la

resistencia natural a la infección por el Virus de la Inmunodeficiencia Humana tipo 1.

Por último, dentro del INFL4, conocemos que la variante de este gen que se asocia con el descenso de carga viral del Virus de la Hepatitis C se corresponde con la mutación por inserción (TT), mientras que el factor de riesgo se relaciona con el polimorfismo de la delección (ΔG) asociándose pues con la probabilidad de infección por este virus. Por tanto, encontramos similitud entre estos antecedentes y nuestros resultados ya que, como ocurre con el VHC, de forma significativa la mutación por delección se asocia con el alto riesgo de infección por VHC, a diferencia con la forma de la inserción que se relacionaría con el incremento de respuesta viral sostenida (SVR) para el VHC.

9. DISCUSIÓN

En 2010, un estudio dirigido por Martín Maureen [Maureen *et al.* 2010] no encontró asociación entre el polimorfismo localizado en el interferón lambda 3 (IL28B) y el descenso de la carga viral del virus de la hepatitis B (*O.R.* = 0,99) en individuos procedentes de EE.UU. Establecieron esta hipótesis a raíz del efecto positivo de esta misma variante génica (rs12979860) sobre curación espontánea o tras el tratamiento con interferón alfa pegilado más ribavirina. Trabajaron con un total de 5622 hombres los cuales mantuvieron relaciones sexuales con otros hombres, 2921 individuos que usaron drogas inyectables, 333 niños y adolescentes hemofílicos y con una cohorte de pacientes con desórdenes en el proceso de coagulación procedentes de 16 centros de tratamiento para la hemofilia. Además, introdujeron un grupo control compuesto por 226 individuos con persistencia a la infección por el VHB y 384 individuos con recuperación tras la infección por este virus. En sus resultados no encontraron diferencias significativas entre el grupo control y los pacientes con prevalencia crónica del Virus de la Hepatitis B (21,5% vs. 16.9%) a pesar de que tanto los individuos enfermos como los sanos portaban las mismas características (Tabla 8).

EDAD MEDIA	37
RAZA BLANCA (%)	80%
RAZA NEGRA (%)	20%
VARONES	98%
MUJERES	2%
HIV+	69%
HIV-	31%

Tabla 8: Características fisiológicas de los diferentes grupos del estudio.

Tampoco hallaron diferencias significativas en la frecuencia del alelo C entre individuos con persistencia al Virus de la Hepatitis B (64,6%) y los individuos con recuperación tras infectarse por el virus (63,7%) ($p = 0,76$).

En cuanto a las frecuencias genotípicas, como el genotipo homocigoto C/C era el asociado con la protección frente al VHC, este equipo comparó en los individuos resistentes al virus y en los recuperados tras la infección tanto la frecuencia de C/C con la de C/T + T/T (modelo dominante para el alelo T) como la frecuencia de T/T con la de C/C + C/T (modelo dominante para el alelo C) sin determinar cambios significativos en ninguno de los casos (Tabla 9).

HBV genotype	HBV recovery (n = 384)	Persistent HBV infection (n = 226)	Comparison	OR (95% CI) ^a	P
C ^b	489 (63.7)	292 (64.6)	C vs T	1.04 (0.82–1.33)	.75
T/T	52 (13.5)	33 (14.6)	C/C vs T/T	0.90 (0.44–1.85)	.77
C/T	175 (45.6)	94 (41.6)	C/C vs C/T + T/T	0.99 (0.67–1.46)	.95
C/C	157 (40.9)	99 (43.8)	T/T vs C/C + C/T	1.20 (0.69–2.08)	.52

Tabla 9 [Maureen *et al.* 2010]: Frecuencias genotípicas del polimorfismo rs12979860 en individuos persistentes a la infección por VHB y de individuos con recuperación tras la infección por VHB.

Por todo esto, concluyeron que la hipótesis de partida en la cual asignaban el mismo papel del genotipo C/C como el asociado con el aclaramiento del Virus de la Hepatitis C a la curación del Virus de la Hepatitis B sin determinar resultados significativos en este caso, a pesar de cimentarse el trabajo sobre el mismo polimorfismo del gen INFL3.

Un año después, el equipo de trabajo español dirigido por Norma I. Rallón [Rallón *et al.* 2011] intentó asociar el polimorfismo de IL28B con la susceptibilidad o resistencia de infección por el VIH-1, y para ello, estableció una metodología similar a la llevada a cabo por Maureen y su equipo [Maureen

et al. 2010] anteriormente, aunque fuera planteado con un muy menor número de individuos; concretamente, un total de 29 parejas serodiscordantes en las cuales los varones estaban infectados y las mujeres eran VIH- aunque poseían un alto riesgo de infección, y en 68 individuos HIV+ crónicos con y sin una progresión rápida de la inmunodeficiencia. Una vez realizados los análisis, los resultados concluyeron que la prevalencia de los genotipos en el grupo de infectados crónicos con progresión de la enfermedad fue de un 50% para el genotipo C/C, un 40% para C/T y un restante 10% para el genotipo homocigoto T/T. De igual manera, en la cohorte de individuos HIV- los porcentajes fueron aproximados (C/C 62%, C/T 35% y T/T 3%), de forma que este equipo de trabajo tampoco obtuvo resultados significativos entre ambas poblaciones, a pesar de que en los dos casos, el genotipo más frecuente fue el C/C (Tabla 10).

	N	O.R. (95% C.I*) (CC vs. CT/TT)	Valor de p
Progresión de VIH (n=68)			
CC	34 (50%)	1,27 (0,49-3,31)	0,63
CT	27 (40%)		
TT	7 (10%)		
Protección de VIH (n=29)			
CC	18 (62%)	2,01 (0,71-5,74)	0,19
CT	10 (35%)		
TT	1 (3%)		

Tabla 10: Distribución de los genotipos de IL28B en las poblaciones de estudio. C.I.*: Intervalo de confianza.

En comparación con el trabajo para el Virus de la Hepatitis B [Maureen *et al.* 2010] éste último [Rallón *et al.* 2011] no estableció un modelo dominante alternativo C/T + C/C, por lo que no fue posible comprobar si aplicando esta modificación pudieran existir cambios significativos asociables a una resistencia innata por parte del genotipo T/T frente a la infección por VIH-1 en la cohorte de individuos VIH serodiscordantes.

Conocemos que el SNP rs12979860 de la interleuquina 28B es uno de los más importantes descubrimientos genéticos asociados con el control frente a la infección vírica crónica por el Virus de la Hepatitis C, así como con la curación de la enfermedad ya sea de forma espontánea o tras tratamiento inducido de interferón alfa pegilado más ribavirina, de manera que este SNP

aparentemente tiene un efecto sobre la respuesta inmune frente al VHC. Pero este hecho no es aplicable a otras enfermedades víricas tan actuales en la población mundial, como la Hepatitis B y el Virus de la Inmunodeficiencia Humana, ya que así lo han demostrado con sus respectivos estudios Martín Maureen [Maureen *et al.* 2010] y Norma Rallón [Rallón *et al.* 2011].

Sin embargo, este proyecto sí ha encontrado una asociación entre el SNP rs469415590 localizado en el gen INFL4 y la resistencia innata frente a la infección por VIH-1 (*O.R.* = 0,667) cuando se porta la mutación por inserción (TT), a la vez que identificamos un caso de modelo dominante con el genotipo homocigoto para la delección (TT/ Δ G + Δ G/ Δ G) más frecuente en la cohorte de coinfectados que en la de expuestos no infectados, lo que nos conduce a pensar que pudiera estar asociado de forma significativa al aumento probabilidad de infección por el VIH-1 ($p = 0,01$).

No obstante, este estudio es un punto de apoyo, pero no suficiente para confirmar que exista tal asociación entre el polimorfismo del INFL4 y la resistencia natural frente a la infección por el VIH-1, de manera que son necesarios posteriores trabajos con un mayor número de participantes por cohorte, así como poblaciones con pacientes infectados que presenten distintas cargas virales y fases de la infección ya que, seguramente, no tengan una misma respuesta viral inducida.

Para finalizar, de corroborar en un futuro que este SNP está asociado a la disminución de la carga viral de VIH-1, podrían establecerse similares investigaciones para estudiar su papel en el Virus de la Hepatitis B, otra patología vírica frecuente en la actualidad.

10. BIBLIOGRAFÍAS

Aldred, P.M; Hollox, E.J. & Armour, J.A. 2005. *Copy number polymorphism and expression level variation of the human alpha-defensin genes DEFA1 and DEFA3*. Hum Genet **14** (14): 2045-2052.

Alkhatib, G; Combadiere, C; Broder, C.C; Feng, Y; Kennedy, P.E; Murphy, P.M. & Berger, E.A. 1996. *CC CKR5: a RANTES, MIP-1alpha, MIP-1beta receptor as a fusión cofactor for macrophage-tropic HIV-1*. Science **272** (5270): 1955-1958.

An, P; Duggal, P; Wang, L.H; O'Brien, S.J; Donfield, S; Goedert, J.J; Phair, J; Buchbinder, S; Kirk, G.D. & Winkler, C.A. 2007. *Polymorphisms of CUL5 are associated with CD4+ T cell loss in HIV-1 infected individuals..* PIS Genet **3** (1): 19.

Ank, N. & Paludan, S.R. 2009. *Type III IFNs: new layers of complexity in innate antiviral immunity.* Biofactors **35** (1): 82-87.

Bashirova, A.A; Bleiber, G; Qi, Y; Hutchseson, H; Yamashita, T; Johnson, R.C; Cheng, J; Alter, G; Goedert, J.J; Buchbinder, S; Hoots, K; Vlahov, D; May, M; Maldarelli, F; Jacobson, L; O'Brien, S.J; Telenti, A. & Carrington, M. 2006. *Consistent effects of TSG101 genetic variability on multiple outcomes of exposure to human immunodeficiency virus type 1.* J Virol **80** (14): 6757-6763.

Bell, D.M. 1997. *Occupational risk of human immunodeficiency virus infection in healthcare workers: an overview.* Am J Med **102** (59): 9-15.

Bibert, S; Roger, T; Calandra, T; Bochud, M; Cerny, A; Semmo, N; Duong, F.H; Gerlach, T; Malinverni, R; Moradpour, D; Negro, F; Müllhaupt, B; Bochud, P.Y. & Swiss Hepatitis C Cohort Study. 2013. *IL28B expression depends on a novel TT/dG polymorphism which improves HCV clearance prediction.* J Exp Med **210** (6): 1109-1116.

Blanpain, C; Lee, B; Tackoen, M; Puffer, B; Boom, A; Libert, F; Sharron, M; Wittamer, V; Vassart, G; Doms, R.W. & Parmentier, M. 2000. *Multiple nonfunctional alleles of CCR5 are frequent in various human populations.* Blood **96** (5): 1638-1645.

Bleiber, G; May, M; Martínez, R; Meylan, P; Ott, J; Beckmann, J.S; Telenti, A. & Swiss HIV Cohort Study. 2005. *Use of a combined ex vivo/in vivo population approach for screening of human genes involved in the human immunodeficiency virus type 1 life cycle for variants influencing disease progression.* J Virol **79** (20): 1674-12680.

Bochud, P.Y; Hersberger, M; Taffé, P; Bochud, M; Stein, C.M; Rodrigues, S.D; Calandra, T; Francioli, P; Telenti, A; Speck, R.F; Aderem, A. & Swiss HIV Cohort

Study. 2007. *Polymorphisms in Toll-like receptor 9 influence the clinical course of HIV-1 infection.* AIDS **21** (4): 441-446.

Braida, L; Boniotto, M; Pontillo, A; Tovo, P.A; Amoroso, A. & Crovella, S. 2004. *A single-nucleotide polymorphism in the human beta-defensin 1 gene is associated with HIV-1 infection in Italian children.* AIDS **18** (11): 1598-1600.

Brand, N; Tarway, M; Liu, L; Sheikn, F; Astemborski, J; Bonkovsky, H; Edlin, B; Howell, C; Morgan, T; Thomas, D; Reherrmann B; Donnelly, R. & O'Brien, T. 2012. *A variant upstream of IFNL3 (IL28B) creating a new interferón gene IFNL4 is associated with impaired clearance of hepatitis C virus.* Nature Genetic **10** (2): 1-8.

Brouwer, K.C; Lal, R.B; Yang, C; VanEijk, A.M; Ayisi, J; Otieno, J; Nahlen, B.L; Steketee, R; Lal, A.A. & Shi, y.p. 2004. *Polymorphism of Fc receptor IIa for IgG in infants is associated with susceptibility to perinatal HIV-1 infection.* AIDS **18** (8): 1187-1194.

Capoulade-Métay, C; Ma, L; Truong, L.X; Duoit, Y; Versmisse, P; Nguyen, N.V; Nguyen, M; Scott-Algara, D; Barré-Sinoussi, F; Debré, P; Bismuth, G; Pancino, G. & Theodorou, I. 2004. *New CCR5 variants associated with reduced HIV coreceptor function in southeast Asia.* AIDS **19** (17): 2243-2252.

Carrington, M. & O'Brien, S.J. 2003. *The influence of HLA genotype on AIDS.* Annu Rev Med **54** (2): 535-551.

Choe, H; Farzan, M; Sun, Y; Sullivan, N; Rollins, P.D; Wu, L; Mackay, C.R; LaRosa, G; Newman, W; Gerard, C. & Sodroski, J. 1996. *The beta-chemokine receptors CCR3 and CCR5 facilitate infection by primary HIV-1 isolates.* Cell **85** (7): 1135-1148

Colobran, R; Adreani, P; Ashhab, Y; Llano, A; Esté, J.A; Domínguez, O; Pujol-Borrell, R. & Juan, M. 2005. *Multiple products derived from two CCL4 loci: high incidence of a new polymorphism in HIV+ patients.* J Immunolo **174** (9): 5655-5664.

Cole, A.M. & Ganz, T. 2000. *Human antimicrobial peptides: analysis and application.* Biotechniques **29** (4): 822-831.

Cole, A.M. & Lehrer, R.I. 2003. *Minidefensins: antimicrobial peptides with activity against HIV-1*. *Curr Pharm Des* **9** (18): 1463-1473.

Dean, M; Carrington, M; Winkler, C; Huttley, G.A; Smith, G.A; Smith, M.W; Allikmets, R; Goedert, J.J; Buchbinder, S.P; Vittingoff, E; Gomperts, E; Donfield, S; Vlahov, D; Kaslow, R; Saah, A; Rinaldo, C; Detels, R. & O'Brien, S.J. 1996. *Genetic restriction of HIV-1 infection and progression to AIDS by a deletion allele of the CKR5 structural gene. Hemophilia Growth and Development Study, Multicenter AIDS Cohort Study, Multicenter Hemophilia Cohort Study, San Francisco City Cohort, ALIVE Study*. *Science* **27** (5283): 1856-1862.

Deng, H; Liu, R; Ellmeier, W; Choe, S; Unutmaz, D; Burkhart, M; Di Marzio, P; Marmon, S; Sutton, R.E; Hill, C.M; Davis, C.B; Peiper, S.C; Schall, T.J; Littman, D.R & Landau, N.R. 1996. *Identification of a major co-receptor for primary isolates of HIV.1*. *Nature* **381** (6584): 661-666.

Diop, G; Hirtzig, T; Do, H; Coulonges, C; Vasilescu, A; Labib, T; Spadoni, J.L; Therwath, A.; Lathrop, M.; Matsuda, F. & Zagury, J.F. 2006. *Exhaustive genotyping of the interferon alpha receptor 1 (IFNAR1) gene and association of an IFNAR1 protein variant with AIDS progression or susceptibility to HIV-1 infection in a French AIDS cohort..* *Biomed Pharmacother* **60** (9): 569-577.

Dragic, T; Litwin, V; Allaway, G.P; Martin, S.R; Huang, Y; Nagashima, K.A; Cayanan, K.A; Cayanan, C; Maddon, P.J; Koup, R.A; Moore, J.P. & Paxton, W.A. 1996. *HIV-1 entry into CD4+ cells is mediated by the chemokine receptor CC-CKR-5*. *Nature* **381** (6584): 667-673.

Do, H; Vasilescu, A; Carpentier, W; Meyer, L; Diop, G; Hirtzig, T; Coulonges, C; Labib, T; Spadoni, J-L; Therwath, A; Lathrop, M; Matsuda, F. & Zagury, J.F. 2006. *Exhaustive genotyping of the interleukin-1 family genes and associations with AIDS progression in a French cohort*. *J Infect Dis* **194** (11): 1492-1504.

Do, H; Vasilescu, A; Diop, G; Hirtzig, T; Heath, S.C; Coulonges, C; Eappaport, J; Therwath, A; Lathrop, M; Matsuda, F. & Zagury, J.F. 2005. *Exhaustive genotyping of the CEM15 (APOBEC3G) gene and absence of association with AIDS progression in a French cohort..* *J Infect Dis* **191** (2): 159-163.

Faure, S; Meyer, L; Costagliola, D; Vaneensberghe, C; Genin, C; Austran, B; Delfraissy, J.F; McDermott, D.H; Murphy, P.M; Debré, P; Théodorou, I. & Combadière, C. 2000. *Rapid progression to AIDS in HIV+ individuals with a structural variant of the chemokine receptor CX3CR1*. *Science* **24** (5461): 2274-2277.

Fellay, J; Shianna, KV; Ge, D; Colombo, S; Ledergerber, B; Weale, M; Zhang, K; Gumbs, C; Castagna, A; Cossarizza, A; Cozzi-Lepri, A; De Luca, A; Easterbrook, P; Francioli, P; Mallal, S; Martinez-Picado, J; Miro, J.M; Obel, N; Smith, J.P; Wyniger, J; Descombes, P; Antonarakis, S.E; Letvin, N.L; McMichael, A.J; Haynes, B.F; Telenti, A. & Goldstein, D.B. 2007. *A whole-geome association study of major determinants for host control of HIV-1*. *Science* **317** (5840): 944-947.

Feng, Y; Broder, C.C, Kennedy, P.E. & Berger, E.A. 1996. *HIV-1 entry cofactor: functional cDNA cloning of a seven-transmembrane, G protein-coupled receptor*. *Science* **272** (1): 872-877.

Gallo, R.C; Garzino-Demo, A. & DeVico, A.L. 1999. *HIV infection and pathogenesis: what about chemokines?* *J Clin Immunol* **19** (5): 293-299.

González, E; Kulkarni, H; Bolivar, H; Mangano, A; Sánchez, R; Catano, G; Nibbs, R.J; Freedman B.I; Quinones, M.P; Bamshad, M.J; Murthy, K.K; Rovin, B.H; Bradley, W; Clark, R.A; Anderson, S.A; O'Connell, R.J; Agan, B.K; Ahuja, S.S; Bologna, R; Sen, L; Dolan, M.J. & Ahuja, S.K. 2005. *The influence of CCL3L1 gene-containing segmental duplications on HIV-1/AIDS susceptibility*. *Science* **307** (5714): 1434-1440.

Harris, R.S; Bishop, K.N; Sheehy, A.M; Petersen-Mahrt, S.K; Watt, I.N; Neuberger, M.S. & Malim, M.H. 2003. *DNA deamination mediates innate immunity to retroviral infection..* *Cell* **13** (6): 803-809.

Hayashi, N.; Okanouse, T. & Tsubouchi, H. 2012. *Efficacy and safety of telaprevir, a new protease inhibitor, for difficult-to-treat patients with genotype 1 chronic hepatitis C*. *J Viral Hepat* **19** (4): 134-142.

Hladik, F; Liu, H; Speelmon, E; Livingston-Rosanoff, D; Wilson, S; Sakchalathorn, P; Hwangbo, Y; Greene, B; Zhu, T. & McElrath, M.J. 2005. *Combined effect of CCR5-Delta32 heterozygosity and the CCR5 promoter polymorphism -2459 A/G on CCR5 expression and resistance to human immunodeficiency virus type 1 transmission.* J Virol **79** (18): 11677-11684.

Hézode, C.; Forestier, N. & Dusheiko, G. 2009. *Telaprevir and peg-interferon with or without ribavirin for chronic HCV infection.* N Engl J Med **360** (1): 1839-1850.

Jacobson, I.M.; Mchutchison, J.G. & Dusheiko, G. 2011. *Telaprevir for previously untreated chronic hepatitis C virus infection.* N Engl J Med **364** (1): 2405-2415.

Javanbakht, H; An, P; Gold, B; Petersen, D.C; O’Huigin, C; Nelson, G.W; O’Brien, S.J; Kirk, G.D; Detels, R; Buchbinder, S; Donfield, S; Shulenin, S; Song, B; Perron, M-J; Stremlau, M; Sodroski, J; Dean, M. & Winkler, c. 2006. *Effects of human TRIM5alpha polymorphisms on antiretroviral function and susceptibility to human immunodeficiency virus infection.* Virology **354** (1): 15-27.

Jenssen, H; Hamill, P. & Hancock, R.E. 2006. *Peptide antimicrobial agents.* Clin Microbiol Rev **19** (3): 491-511.

Ji, X; Gewurz, H. & Spear, G.T. 2005. *Mannose binding lectin (MBL) and HIV.* Mol Immunol **42** (2): 145-152.

Kaplan, E.H. & Heimer, R. 1995. *HIV incidence among New Haven needle Exchange participants: updated estimates from siringe tracking and testing data.* J Acquir Immune Defic Syndr Hum Retrovirol **10** (2): 175-176.

Kaslow, R.A; Dorak, T. & Tang, J.J. 2005. *Influence of host genetic variation on susceptibility to HIV type 1 infection.* J Infect Dis **191** (1): 68-77.

Kilby, J.M. & Eron, J.J. 2003. *Novel therapies base don mechamisms of HV-1 cell entry.* N Engl J Med **348** (22): 2228-2238.

Komfeld, H. & Cruikshank, W.W. 2001. *Prospects for IL-16 in the treatment of AIDS.* Expert Opin Biol Ther **1** (3): 425-432.

Kumada, H.; Toyota, J. & Okanoue, T. 2012. *Telaprevir with peg-interferon and ribavirin for treatment-naïve patients chronically infected with HCV of genotype 1 in Japan*. *J Hepatol* **56** (1): 78-84.

Leynaert, B. & Downs, A.M. 1998. *Heterosexual transmission of human immunodeficiency virus: variability of infectivity throughout the course of infection*. *European Study on Heterosexual Transmission of HIV*. *Am J Epidemiol* **148** (1): 88-96.

Liu, H; Hwangbo, Y; Holte, S; Lee, J; Wang, C; Kaupp, N; Zhu, H; Celum, C; Corey, L; McElrath, M.J. & Zhu, T. 2004. *Analysis of genetic polymorphisms in CCR5, CCR2, stromal cell-derived factor-1, RANTES, and dendritic cell-specific intercellular adhesion molecule-3-grabbing nonintegrin in seronegative individuals repeatedly exposed to HIV-1*. *J Infect Dis* **190** (6): 1055-1058.

Loannidis, J.P; Rosenberg, P.S; Goedert, J.J; Ashton, L.J; Benfield, T.L; Buchbinder, S.P; Coutinho, R.A; Eugen-Olsen, J; Gallart, T; Katzenstein, T.L; Kostrikis, L.G; Kuipers, H; Louie, L.G; Mallal, S.A; Margolick, J.B; Martínez, O.P; Meyer, L; Michael, N.L; O perskalski, E; Pantaleo, G; Rizzardì, G.P; Schuitemaker, H; Sheppard, H.W; Stewart, G.J; Theodorou, I.D; Ullum, H; Vicenzi, E; Vlahov, D; Wilkinson, D; Workman, C; Zagury, J.F. & O'Brien, T.R. 2001. *Effects of CCR5-Delta32, CCR2-64I, and SDF-1 3'A alleles on HIV-1 disease progression: An international meta-analysis of individual-patient data..* *Ann Intern Med* **135** (9): 782-795.

Loeuillet, C; Deutsch, S; Ciuffi, A; Robyr, D; Taffé, P; Muñoz, M; Beckmann, K.J.S; Antonarakis, S.E. & Telenti, a. 2008. *In vitro whole-genome analysis identifies a susceptibility locus for HIV-1*. *PLoS Biol* **6** (2): 32.

Macisek, J.W; Parada, N.A; Cruikshank, W.W; Center, D.M; Kornfeld, H. & Vigianti, G.A. 1997. *IL-16 represses HIV-1 promoter activity*. *J Immunol* **158** (1) : 5-8.

Magis-Rodríguez, C. 1997. *Estudio sobre prácticas de riesgo de infección por VIH/SIDA en inyectores de drogas de la CD. De Tijuana, BC*. *Rev Salud Front* **2** (1): 31-114.

Mangeat, B; Turelli, P; Caron, G; Friedli, M; Perrin, L. & Trono, D. 2003. *Broad antiretroviral defence by human APOBEC3G through lethal editing of nascent reverse transcripts*. Nature **424** (6944): 99-103.

Martín, M.P; Lederman, M.M; Hutcheson, H.B; Goedert, J.J; Nelson, G.W; Van Kooyk, Y; Detels, R; Buchbinder, S; Hoots, K; Vlahov, D; O'Brien, S.J. & Carrington, M. 2004. *Association of DC-SIGN promoter polymorphism with increased risk for parenteral, but not mucosal, acquisition of human immunodeficiency virus type 1 infection*. J Virol **78** (24): 14053-14056.

Maureen, P.M; Ying, Q; Goedert, J; Hussain, S; Kirk, G; Hoots, K; Buchbinder, S; Carrington, M. & Thio, C. 2010. *IL28B Polymorphism does not determine outcomes of Hepatitis B virus or HIV infection*. The Journal of Infectious Diseases **202** (11): 1749-1753.

Mchutchison, J.G.; Everson, G.T.; Gordon, S.C. *et al.* 2009. *Telaprevir with peg-interferon and ribavirin for chronic HCV genotype 1 infection*. N Engl J Med **360** (6): 1827-1838.

Mcllroy, D; Meyerm L; Dudoit, Y; Samri, A; Delfraussy, J.F; Autran, B; Debré, P. & Theodorou, i. 2006. *Polymorphism in the proximal promoter region of the perforin gene and its impact on the course of HIV infection*. Int J Immunogenet **33** (2): 73-79.

Modi, W.S; Lautenberger, J; AN, P; Scott, K; Goedert, J.J; Kirk, G.D; Buchbinder, S; Phair, J; Donfield, S; O'Brien, S.J. & Winkler, c. 2006. *Genetic variation in the CCL18-CCL3-CCL4 chemokine gene cluster influences HIV Type 1 transmission and AIDS disease progression*. Am J Hum Genet **79** (1): 120-128.

Modi, W.S; O'Brien, T.R; Vlahov, d; Buchbinder, S; Gomperts, E; Phair, E; O'Brien, S.J. & Winkler, C. 2003. *Haplotype diversity in the interleukin-4 gene is not associated with HIV-1 transmission and AIDS progression*. Immunogenetics **55**(3): 157 – 164.

Nagaoki, Y; Imamura, M; Kawakami, Y; Kan, H; Fujino, H; Fukuhara, T; Kobayashi, T; Ono, A; Nakahara, T; Naeshiro, N; Urabe, A; Yokoyama, S; Miyaki, D; Murakami, E; Kawaoka, T; Tsuge, M; Hiramatsu, A; Aikata, H;

Takahashi, S; Nelson, C; Ochi, H. & Chayama, K. 2014. *Interferon lambda 4 polymorphism affects on outcome of telaprevir, pegylated interferón and ribavirin combination therapy for chronic hepatitis C*. Hepatology Research. **10** (2):1-8.

O'Brien, S.J. & Nelson, G.W. 2004. *Human genes that limit AIDS*. Nat Genet **36** (3): 565-574.

O'Brien, T.R; Winkler, c; Dean, M; Nelson, J.A; Carrington, M; Michael, N.L. & White, G.C. 1997. *HIV-1 infection in a man homozygous for CCR5 delta 32*. Lancet **349** (9060): 1219.

Prokunina-Olsson, L; Muchmore, B; Tang, W; Pfeiffer, R; Park, H; Dickensheets, H; Hergott, D; Porter-Gill, P; Mumy, A; Kohaar, I; Chen, S; Brand, N; Tarway, M; Liu, L; Sheikn, F; Astemborski, J; Bonkovsky, H; Edlin, B; Howell, C; Morgan, T; Thomas, D; Rehermann B; Donnelly, R. & O'Brien, T. 2013. *A variant upstream of INFL3 creating a new interferón gene IFNL4 is associated with impaired clearance of hepatitis C virus*. Nat Genet **45** (2): 164-71.

Rallón, N; Restrepo, C; Naggie, S; López, M; Romero, J; Goldstein, D; McHutchison, J; Soriano, V. & Benito, J.M. 2011. *Interleukin-28B gene polymorphisms do not influence the susceptibility to HIV-infection or CD4 cell decline*. Research Letters **25** (2): 269-271.

Saito, M; Eiraku, N; Usuku, K; Nobuhara, Y; Matsumoto, W.; Kodama, D; Sabouri, A.H; Izumo, S; Arimura, K. & Osame, M. 2005. *Apal polymorphism of vitamin D receptor gene is associated with susceptibility to HTLV-1-associated myelopathy/tropical spastic paraparesis in HTLV-1 infected individuals*. J Neurol Sci **232** (1-2): 29-35.

Salkowitz, J.R; Purvis, S.F; Meyerson, H; Zimmerman, P; O'Brien, T.R; Aledort, L; Eyster, M.E; Hilgartner, M; Kessler, C; Konkle, B.A; White, G.C; Goedert, J.J. & Lederman, M.M. 2001. *Characterization of high-risk HIV-1 seronegative hemophiliacs*. Clin Immunol **98** (2): 200-211.

Samson, M; Libert, F; Doranz, B.J; Liesnard, C; Farber, C.M; Saragosti, S; Lapoumeroulie, C; Cognaux, J; Forceille, C; Muyldermans, G; Vershofstede, C; Burtonboy, G; Georges, M; Imai, T; Rana, S; Yi, Y; Smyth, R.J; Collman, R.G; Dom, R.W; Vassart, G. & Parmentier, M. 1996. *Resistance to HIV-1 infection in caucasian individuals bearing mutant alleles of the CCR-5 chemokine receptor gene.* Nature **22** (6593): 722-725.

Scala, E; D'Offizi, G; Rosso, R; Turriziani, O; Ferrana, R; Mazzone, A.M; Antonelli, G; Aiuti, f. & Paganelli, R. 1997. *C-C chemokines, IL-16, and soluble antiviral factor activity are increased in cloned T cells from subjects with long-term nonprogressive HIV.* Infection. J Immunol **158** (9): 4485-4492.

Segat, L; Bevilacqua, D; Boniotto, M; Arraes, L.C; De Souza, P.R; De Lima Filho, J.L. & Crovella, S. 2006. *IL-18 gene promoter polymorphism is involved in HIV-1 infection in a Brazilian pediatric population.* Immunogenetics **58** (5-6): 471-473.

Segat, L; Milanese, M; Boniotto, M; Crovella, S; Bernardon, M; Costantini, M; Alberico, S. & Italian Group SIGO HIV in Obstetrics and Gynecology. 2006. *DEFB-1 genetic polymorphism screening in HIV-1 positive pregnant women and their children.* J Matern Fetal Neonatal Med **19** (1): 13-16.

Shacklett, B.L. 2006. *Understanding the "lucky few": the conundrum of HIV-exposed seronegative individuals.* Curr HIV/AIDS Rep **3**(1): 26-31.

Shirzi, Y. & Pitha, P.M. 1993. *Interferon alpha-mediated inhibition of human immunodeficiency virus type 1 provirus synthesis in T-cells.* Virology **193** (1): 303-312.

Shrestha, S; Strathdee, S.A; Galai, n; Oleksyk, T; Fallin, M.D; Mehta, S; Schaid, D; Vlahov, D; O'Brien, S.J. & Smith, M.W. 2006. *Behavioral risk exposure and host genetics of susceptibility to HIV-1 infection..* J Infect Dis **193** (19): 16-26.

Smith, M.W; Carrington, M; Winkler, C; Lomb, D; Dean, M; Huttley, G. & O'Brien, S.J. 1997. *CCR2 chemokine receptor and AIDS progression.* Nat Med, 1997. **3**(10):1052-1053.

Soriano, A; Lozano, F; Oliva, H; García, H; Nomdedéu, M; De Lazzari, E; Rodríguez, C; Barrasa, A; Lorenzo, J.I; Del Romero, J; Plana, M; Miró, J.M;

Gatell, J.M; Vives, J. & Gallart, T. 2005. *Polymorphisms in the interleukin-4 receptor alpha chain gene influence susceptibility to HIV-1 infection and its progression to AIDS*. Immunogenetics **57** (9): 644-654.

Suneetha, P.V; Sarin, S.K; Goyal, A; Shukla, D.K. & Hissar, S. 2006. *Association between vitamin D receptor, CCR5, TNF-alpha and TNF-beta gene polymorphisms and HBV infection and severity of liver disease*. J Hepatol **44** (5): 856-863.

Tamay de Dios, L.; Ibarra, C. & Velasquillo, C. 2013. *Fundamentos de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y de la PCR en tiempo real*. Investigación en discapacidad **2** (2): 70-78.

Theodorou, I; Meyer, L; Magierowska, M; Katlama, C. & Rouzioux, C. 1997. *HIV-1 infection in an individual homozygous for CCR5 delta 32*. Seroco Study Group. Lancet **349** (9060): 1219-1220.

Turville, S; Wilkinson, J; Cameron, P; Dable, J. & Cunningham, A.L. 2003. *The role of dendritic cell C-type lectin receptors in HIV pathogenesis*. J Leukoc Biol **74** (5): 710-718.

Urban, T.J; Thompson, A.J; Bradrick, S.S; Fellay, J; Schuppan, D; Cronin, K.D; Hong, L; McKenzie, A; Patel, K; Scianna, K.V; McHutchison, J.G; Goldstein, D.B. & Afdhanl, N. 2010. *IL28B genotype is associated with differential expression of intrahepatic interferon-stimulated genes in patients with chronic hepatitis C*. Hepatology **52** (6): 1888-1896.

Vailescu, A; Heath, S.C; Ivanova, R; Hendel, H, Do, H; Mazoyer, A; Khadivpour, E; Goutalier, F.X; Khalili, K; Rappaport, J; Lathrop, G.M; Matsuda, F. & Zagury, J.F. 2003. *Genomic analysis of Th1-Th2 cytokine genes in an AIDS cohort: identification of IL4 and IL10 haplotypes associated with the disease progression*. Genes Immun **4** (6): 441-449.

Varghese, B; Mather, J.E; Peterman, T.A; Branson, B.M. & Steketee, R.W. 2002. *Reducing the risk of sexual HIV transmission: quantifying the per-act risk for HIV on the basis of choice of partner, sex act, and condom use*. Sex Transm Dis **29** (1): 38-43.

Winkler, c; Modi, W; Smith, M-W; Nelson, G.W; Wu, X; Carrington, M; Dean, M; Honjo, T; Tashiro, K; Yabe, D; Buchbinder, S; Vittinghoff, E; Goedert, J.J; O'Brien, T.R; Jacobson, L.P; Detels, R; Donfield, S; Willoughby, A; Gomperts, E; Vlahov, D; Phair, J. & O'Brien, S.J. 1998. *Genetic restriction of AIDS pathogenesis by an SDF-1 chemokine gene variant. ALIVE Study, Hemophilia Growth and Development Study (HGDS), Multicenter AIDS Cohort Study (MACS), Multicenter Hemophilia Cohort Study (MHCS), San Francisco City Cohort (SFCC).* Science **16** (5349): 389-393.

Zagury, D; Lachgar, A; Chams, V; Fall, L.S; Bernard, J; Zagury, J.F; Bizzini, B; Gringeri, A; Santagostino, E; Rappaport, J; Feldman, M; O'Brien, S.J; Burny, A. & Gallo, R.C. 1998. *C-C chemokines, pivotal in protection against HIV type 1 infection.* Pro Natl Acad Sci U S A **95** (7): 3857-3861.

Zhou, P; Goldstein, S; Devadas, K; Tewari, D. & Notkins, A.. 1997. *Human CD4+ cells transfected with IL-16 cDNA are resistant to HIV-1 infection: inhibition of mRNA expression.* Nat Med **3** (6): 659-664.