

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE MEDICINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO: CIÊNCIAS EM GASTROENTEROLOGIA E
HEPATOLOGIA

Polimorfismos da região promotora do *gene* CCR5 em Lúpus Eritematoso Sistêmico

AMANDA HENRIQUE DE OLIVEIRA

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Porto Alegre

2023

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE MEDICINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO: CIÊNCIAS EM GASTROENTEROLOGIA E
HEPATOLOGIA

Polimorfismos da região promotora do *gene* CCR5 em Lúpus Eritematoso Sistêmico

AMANDA HENRIQUE DE OLIVEIRA

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação: Ciências em Gastroenterologia e Hepatologia, da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Ciências em Gastroenterologia e Hepatologia.

Orientador: Dr. José Artur Bogo Chies

Coorientadora: Dra. Natália Schneider Nunes

Porto Alegre

2023

CIP - Catalogação na Publicação

DE OLIVEIRA, AMANDA HENRIQUE
Polimorfismos da região promotora do gene CCR5 em
Lúpus Eritematoso Sistêmico / AMANDA HENRIQUE DE
OLIVEIRA. -- 2023.

62 f.

Orientador: José Artur Bogo Chies.

Coorientadora: Natália Schneider Nunes.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal do
Rio Grande do Sul, Faculdade de Medicina, Programa de
Pós-Graduação em Ciências em Gastroenterologia e
Hepatologia, Porto Alegre, BR-RS, 2023.

1. CCR5. 2. polimorfismos do promotor CCR5. 3.
Lúpus Sistêmico. 4. Lúpus Eritematoso. I. Bogo Chies,
José Artur, orient. II. Schneider Nunes, Natália,
coorient. III. Título.

Agradecimentos

Primeiramente agradeço a Deus por me permitir chegar até aqui e estar realizando esse sonho. Agradeço aos meus pais que seguiram incansavelmente me acompanhando ao longo de todo o processo, me acalmando, me incentivando, aplaudindo cada conquista e me reerguendo em cada tombo, minha maior motivação será vocês, sempre. Sou imensamente grata ao meu amor, Victor Hugo que desde o início está comigo, me aconselhando, sendo telespectador de apresentações, puxando a orelha pra estudar e não desanimar, sem você tudo seria mais difícil. Agradeço também a minha irmã, que sempre torceu e esteve do meu lado, me acalmando e mostrando que no fim tudo ia dar certo e deu, tu és um dos pilares que me sustenta, não estaria aqui sem ti. Queria agradecer duas pessoas em especial, minhas amigas Ally e Dé, que sempre escutam meus medos e seguiram sempre presente e me dando força para conseguir mais essa conquista, amo vocês.

Não menos importante e extremamente especial, agradeço ao meu orientador Prof. Dr. José Chies, ele aceitou me orientar no meio de uma tempestade de situações do meu mestrado e logo depois uma pandemia mundial, não foi fácil, mas conseguimos, te agradeço imensamente por me ajudar a chegar neste momento. Um obrigada a minha coorientadora Prof.^a. Dra. Natália Schneider, tudo começou comigo assistindo uma apresentação tua em um evento do mestrado e nisso estamos construindo essa parceria e amizade, obrigada Natty.

Um mega obrigada a todo pessoal do PPG, em especial a Cláudia que nesse período me ajudou muito em todas situações adversas que surgiram, e também agradeço a coordenação por entenderem todas as vezes minha situação e pedidos de prorrogação. Agradeço também, a todos mestres, colegas, amigos, familiares que me acompanharam e torceram por mim, que entenderam minha ausência tantas vezes, o amor, encorajamento e apoio de todos foram meus combustíveis para não desistir, e um obrigada em especial a Kelly, Jordan, Elisa, Bruno, vocês são colegas adoráveis e saber que sobrevivemos ao mestrado é para se comemorar.

“Lembre-se: Você é do tamanho dos seus sonhos.”

Roberto Shinyashiki

SUMÁRIO

RESUMO.....	6
ABSTRACT.....	8
LISTA DE FIGURAS E TABELAS.....	11
1 INTRODUÇÃO.....	12
2 REVISÃO DA LITERATURA.....	13
2.1. LÚPUS ERITEMATOSO SISTÊMICO (LES).....	13
2.1.2 Diagnóstico.....	14
2.1.3 Tratamento.....	15
2.2. O que são polimorfismos?.....	16
2.2.1. CCR5 E SEUS POLIMORFISMOS.....	18
2.2.2 CCR5 e LES.....	20
2.2.3 CCR5 Δ 32.....	22
4. QUESTÕES DE PESQUISA.....	25
5. HIPÓTESE.....	25
6. OBJETIVOS.....	25
6.1. Objetivo Geral.....	25
6.2. Objetivos Específicos.....	25
7. ARTIGO EM INGLÊS.....	26
8. CONCLUSÕES.....	26
9. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	28
REFERENCIAS.....	29

RESUMO

Introdução: Lúpus Eritematoso Sistêmico (LES) é uma doença autoimune inflamatória crônica e complexa caracterizada por atividade anormal das células B e T [1, 2], produção de autoanticorpos e deposição de imunocomplexos, levando a dano tecidual. Vários estudos têm abordado o papel das quimiocinas e seus receptores em LES, porém não há consenso quanto ao seu envolvimento na patogênese da doença. Entretanto, Mamtani *et al* descreveram a importante associação dos haplótipos humanos da região promotora do CCR5 (HH) HHE e HHG*2 com o risco de desenvolvimento de LES, enquanto HHF*1 foi indicado como possível protetor da mesma [17]. **Objetivo:** O presente trabalho visa investigar o possível papel de polimorfismos da região promotora do gene CCR5 no desenvolvimento e desfecho de LES através da comparação dos genótipos e haplótipos de pacientes vs controles pareados etnicamente. Além disso, será investigada uma variante do gene CCR2 fortemente associada ao gene CCR5. **Métodos e Resultados:** Este estudo incluiu 382 pacientes com LES (289 classificados como de origem europeia e 93 de origem africana) e 375 controles (243 de origem europeia e 132 de origem africana) genotipados para CCR2-64I G>A (rs1799864), CCR5-59353 C> T (rs1799988), CCR5-59356 C>T (rs41469351), CCR5-59402 A>G (rs1800023) e CCR5-59653 C>T (rs1800024) polimorfismos através de PCR-RFLP e sequenciamento direto. Dados anteriores de CCR5 Δ 32 foram incluídos no estudo para inferir os haplótipos e como um possível fator de confusão na regressão logística binária. Nossos resultados indicaram que CCR5 Δ 32 e as frequências reduzidas do haplótipo HHG*2 em pacientes de origem europeia estavam associados ao desenvolvimento da doença (p=0,001; OR 3,5; 95% CI 1,6-7,5 e 2,0%, vs. 7,2% residual p= 2,9E-5, respectivamente). Em pacientes de origem africana, as frequências dos haplótipos

HHA/HHB, HHC e HHG*2 diferiram entre pacientes e controles (10% versus 20,5%, residual $p=0,003$; 29,4%vs. 17,4%, residual $p=0,003$ e 3,9%vs. 0,8%, residual $p=0,023$; respectivamente). Considerando as manifestações clínicas da doença, a presença de CCR5 Δ 32 foi confirmada como fator de suscetibilidade para nefrite classe IV no grupo de origem africana e quando os pacientes foram considerados em conjunto (p corrigido= $0,012$; OR 3,0; 95% CI 3,0-333,3 e p corrigido= $0,0006$; OR 6.8; 95%IC 1,9-2,48, respectivamente). **Conclusão:** Este estudo indica que os polimorfismos da região promotora do gene CCR5 são importantes modificadores da doença em LES. Os dados atuais reforçam o polimorfismo CCR5 Δ 32 como fator protetor para o desenvolvimento da doença em pacientes Euro-descendentes e como fator de suscetibilidade para nefrite classe IV em pacientes Afro-descendentes. Além disso, também descrevemos uma frequência reduzida de HHA/HHB e uma frequência aumentada de haplótipos HHC e HHG*2 em nossos pacientes Afro-descendentes, o que potencialmente reflete a expressão aumentada de CCR5 em subconjuntos de células específicos e a reduzida expressão de CCR5 em geral.

Palavras-chaves: CCR5; polimorfismos do promotor CCR5; Lúpus Sistêmico; Lúpus eritematoso.

ABSTRACT

Introduction: Systemic Lupus Erythematosus (SLE) is a chronic and complex inflammatory autoimmune disease characterized by abnormal activity of B and T cells [1, 2], production of autoantibodies and deposition of immune complexes, leading to tissue damage. Several studies have addressed the role of chemokines and their receptors in SLE, but there is no consensus as to their involvement in the pathogenesis of the disease. Mamtani *et al* described the important association of human haplotypes of the CCR5 promoter regions (HH) HHE and HHG*2 to the risk of SLE development, while HHF*1 was indicated as a possible protective factor [17]. **Objective:** The present work aims to investigate the possible role of polymorphisms from the CCR5 promoter region in SLE development and clinical outcome, by comparing the frequencies of genotypes and haplotypes from patients vs ethnically matched controls. Furthermore, a CCR2 gene variation that is strongly associated to CCR5 will be analyzed. **Methods and results:** This study included 382 patients with SLE (289 classified as of European ancestry and 93 of African ancestry) and 375 controls (243 of European ancestry and 132 of African ancestry) genotyped for CCR2-64I G>A (rs1799864), CCR5-59353 C>T (rs1799988), CCR5-59356 C>T (rs41469351), CCR5-59402 A>G (rs1800023) and CCR5-59653 C>T (rs1800024) polymorphisms by PCR-RFLP and direct sequencing. Previous CCR5 Δ 32 data was included in the study to infer haplotypes and as a possible confounder in binary logistic regression. Our results indicated that CCR5 Δ 32 and reduced frequencies of the HHG*2 haplotype in patients of European ancestry were associated to disease development ($p=0.001$; OR 3.5; 95% CI 1.6-7, 5 and 2.0%, vs. 7.2% residual $p= 2.9E-5$, respectively). In patients of African descent, the frequencies of HHA/HHB, HHC and HHG*2 haplotypes differed between patients and

controls (10% vs. 20.5%, residual p= 0.003; 29.4% vs. 17.4%, residual p =0.003 and 3.9% vs. 0.8%, residual p=0.023, respectively). Considering the clinical manifestations of the disease, the presence of CCR5 Δ 32 was confirmed as a susceptibility factor for class IV nephritis in the group of African ancestry, or when all patient data was combined (corrected p=0.012; OR 3.0; 95% CI 3, 0-333.3 and corrected p=0.0006; OR 6.8; 95%CI 1.9-2.48, respectively). **Conclusions:** This study indicates that CCR5 promoter polymorphisms are important disease modifiers in SLE. Current data reinforce the CCR5 Δ 32 polymorphism as a protective factor for the development of the disease in patients of European ancestry and as a susceptibility factor for class IV nephritis in patients of African ancestry. Furthermore, we also describe a reduced frequency of HHA/HHB and an increased frequency of HHC and HHG*2 haplotypes in our patients of African ancestry, which could potentially reflect in a higher expression of CCR5 in specific cell subsets and in a lower expression of overall CCR5.

Keywords: CCR5; CCR5 promoter polymorphisms; Lupus, Systemic; Lupus erythematosus.

LISTA DE ABREVIATURAS

LES	Lúpus Eritematoso Sistêmico
DC	Células Dendríticas
DNA	Ácido desoxirribonucleico
OR	<i>Odds ratio</i> (razão de chances)
mRNA	RNA mensageiro
HIV	Vírus da imunodeficiência humana
MCP-1	Proteína quimioatraente de monócitos-1
RM	Ressonância Magnética
MIP-1 β	Proteína inflamatória de macrófagos beta
(AINH)	Anti-inflamatório não esteroides
ERKs	Quinases reguladas por sinais extracelulares
CCR5	Receptor quimiocina C-C tipo 5
CCR2	Receptor de quimiocina C-C tipo 2

LISTA DE FIGURAS E TABELAS

ARTIGO

- Table 1** – Clinical and laboratory features in Europa-derived, African-derived and in the whole group of SLE patients.....33
- Table 2** – Genotypes of the CCR5 promoter region polymorphisms and frequency of the variant allele in European-derived, African-derived and in the whole group of SLE patients.....34
- Table 3** – Binary Logistic Regression comparisons of the presence or absence of the polymorphic variants of CCR5 promoter region polymorphisms in patients and controls as a whole group and by ethnicity – final model.....35
- Table 4** – Groups that presented significant linkage disequilibrium between polymorphisms.....36
- Table 5** – Haplotype frequencies and comparisons between patients and controls in European and African-derived groups.....38

1 INTRODUÇÃO

Lúpus Eritematoso Sistêmico (LES) é uma doença autoimune inflamatória crônica e complexa caracterizada por atividade anormal das células B e T [1, 2], produção de autoanticorpos e deposição de imunocomplexos, levando a dano tecidual. As quimiocinas e seus receptores são atores centrais na regulação da quimiotaxia de leucócitos na inflamação e acredita-se que tenham um papel importante na patogênese de doenças autoimunes, incluindo LES [3, 4].

Vários estudos têm abordado o papel das quimiocinas e seus receptores em LES, porém não há consenso quanto ao seu envolvimento na patogênese da doença. Não existe um tratamento específico para LES, pois não existe um protocolo padrão para todos os pacientes. Desta forma, uma ampla variedade de medicamentos e normas é empregada, visando uma boa qualidade de vida [5].

Dada a falta de consenso sobre o papel dos receptores de quimiocinas na patogênese de LES e a necessidade de mais estudos nessa área, o presente trabalho visa investigar o possível papel dos polimorfismos da região promotora do gene *CCR5* no desenvolvimento de LES, comparando as frequências dos genótipos e haplótipos com controles pareados etnicamente e analisar se há possível envolvimento dos polimorfismos no desfecho clínico da doença.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1. LÚPUS ERITEMATOSO SISTÊMICO (LES)

Lúpus Eritematoso Sistêmico (LES) é uma doença autoimune inflamatória crônica e complexa caracterizada por atividade anormal das células B e T [1, 2], produção de autoanticorpos e deposição de imunocomplexos, levando a dano tecidual.

Fatores genéticos e ambientais (incluindo imunológicos e hormonais) são conhecidos por participar na etiologia de LES, porém, a sua causa subjacente exata permanece desconhecida. Vários fatores influenciam a patogênese de LES, como defeitos na apoptose, alterações no sistema complemento e função anormal das células T e B, incluindo alterações no balanço de citocinas ou quimiocinas [2, 6, 7]. As quimiocinas e seus receptores são atores centrais na regulação da quimiotaxia de leucócitos na inflamação e acredita-se que tenham um papel importante na patogênese de doenças autoimunes, incluindo LES [3,4].

Vários estudos têm abordado o papel das quimiocinas e seus receptores em LES, porém não há consenso quanto ao seu envolvimento na patogênese da doença. Os receptores de quimiocinas CCR2 e CCR5 e alguns de seus ligantes (por exemplo, MCP-1, MIP-1 β e RANTES) já foram sugeridos como tendo um papel na patogênese de LES [3, 4, 8, 9]. CCR2 e CCR5 são importantes receptores da família das quimiocinas CC, e os genes que codificam estas moléculas estão localizados em um cluster no cromossomo 3 na região 3p21.3-p24 [10]. CCR2 é expresso em monócitos, macrófagos, células dendríticas derivadas do sangue, células T e B, células Natural Killer e basófilos, sendo seus principais ligantes MCP-1, 2, 3 e 4, salientando-se alta

especificidade para MCP-1 [11, 12]. CCR5 é expresso em monócitos, macrófagos, células dendríticas, células T e B, e seus principais ligantes são MIP1 β , MIP1 α e RANTES [13, 14].

2.1.2 Diagnóstico

Para a realização do diagnóstico de LES consideram-se os critérios clínicos, os quais são manifestados ao longo do tempo e análises laboratoriais. O que dificulta este diagnóstico é a ampla diversidade de sintomatologia, especialmente na fase inicial. A doença se manifesta principalmente com o aparecimento de lesões cutâneas em mulheres jovens nos seus períodos férteis (lembrando-se que sua ocorrência não é exclusiva ao sexo feminino, mas há uma relação aproximada de 9:1 de casos em relação ao sexo masculino) [15]. O *American College of Rheumatology* estabeleceu originalmente onze critérios no diagnóstico de LES e o paciente precisa apresentar quatro para poder ser considerado positivo. Os diferentes critérios usados no diagnóstico são eritema malar, lesão discoide, fotossensibilidade, úlceras orais/nasais, artrite, serosite, comprometimento renal, alterações neurológicas, alterações hematológicas, alterações imunológicas e anticorpos antinucleares. Embora seja raro, alguns pacientes com LES podem não apresentar quatro dos onze critérios citados [16]. No entanto, uma nova visão considera que exames clínicos associados à ocorrência de sintomas imunológicos já são suficientes para o diagnóstico de LES. A Ressonância Magnética (RM) é um dos exames mais indicados em pacientes com alterações neuropsiquiátricas, possibilitando um diagnóstico precoce e tratamento adequado. Os mecanismos patológicos das lesões cerebrais nestes pacientes ainda não estão claros e a visualização por RM torna-se fundamental

para o estudo dos mesmos [17]. Adicionalmente, autoanticorpos são as evidências mais importantes nos exames laboratoriais para o diagnóstico do LES. Os fatores nucleares (FAN) estão presentes em quase todos os casos de doença ativa e reagem com componentes do núcleo celular. Apesar de não serem específicos para LES, nenhuma outra situação fisiológica ou de doença apresenta frequência e títulos tão elevados destes componentes [5].

As manifestações clínicas da doença incluem apresentações renais, hematológicas, imunológicas, neurológicas, cutâneas, cardiovasculares e artrite. A doença afeta principalmente mulheres em idade reprodutiva, e como anteriormente mencionado, numa frequência em torno de 9 mulheres para 1 homem. No Brasil, existem poucos dados sobre a incidência de LES. Os dados disponíveis indicam que a incidência varia de 4,8/100.000 habitantes/ano [18] a 8,7/100.000 habitantes/ano no Nordeste [19].

2.1.3 Tratamento

Não existe um tratamento específico para LES, pois não se tem um protocolo padrão para todos os pacientes. Desta forma, uma série de medidas, entre medicamentos e normas, são empregadas para que se proporcione uma boa qualidade de vida aos pacientes [5].

De acordo com SATO *et al.* (2002), algumas medidas gerais devem ser adotadas como parte importante da abordagem terapêutica, tais como: oferecer informações gerais sobre a doença, o seu diagnóstico e tratamento, fornecer acompanhamento psicológico e incentivar a prática de atividade física regular (exceto em períodos de atividade sistêmica da doença).

Além disso, é de fundamental importância a indicação de uma dieta balanceada, evitando excesso de sal, carboidrato e lipídios. Os pacientes devem ser aconselhados a evitar a exposição prolongada ao sol e a prática do tabagismo. O tratamento medicamentoso é prescrito de acordo com as manifestações clínicas e a gravidade da doença. Anti-inflamatórios não esteroides (AINH) são utilizados no tratamento de artralguas, artrite, febre e serosite, pericardite e pleurites leves. Os antimaláricos também são indicados e os corticosteróides são utilizados para manifestações mais graves ou quando os medicamentos mencionados acima não forem eficazes [16, 17, 20, 21]. A dosagem destes medicamentos deve ser controlada para minimizar os efeitos colaterais.

Antimaláricos, como a cloroquina e o difosfato de cloroquina, são indicados para reduzir a atividade da doença e com isso evitar uso de corticosteroides [20, 21]. Os antimaláricos são essenciais e devem ser administrados por pelo menos seis meses após o controle dos sintomas da doença. Corticosteroides como a prednisona são administrados nas fases mais agudas da doença [16, 17]. A melhoria dos sintomas geralmente é notada após vários dias de tratamento. Na maioria dos pacientes, os antiinflamatórios são suficientes para controlar a doença [20, 22].

2.2. O que são polimorfismos?

Polimorfismos (originário do grego, poli= muitas, morfismos= formas) genéticos são variações na sequência da molécula de DNA, podendo ser resultantes de trocas, repetições, inserções ou deleções de uma ou mais bases nitrogenadas. Estas alterações podem estar localizadas em várias regiões do gene: região promotora, codificadora (éxons) ou não codificadora (íntrons) [23, 71].

Para ser considerado um alelo, uma dada alteração ou polimorfismo deve ter frequência maior que 1% em uma dada população, percentual este que a diferencia de uma mutação pontual da molécula de DNA ainda não caracterizada como polimórfica, a qual apresenta, portanto, frequência inferior a 1%. O genoma humano possui um número estimado de 30.000 e 35.000 genes e a sequência do DNA apresenta similaridade de 99,9% entre diferentes indivíduos [71].

Esta incrivelmente pequena diferença entre os indivíduos corresponde à presença dos polimorfismos. Os polimorfismos na região promotora e codificadora têm maior probabilidade de modificar o funcionamento do gene e, conseqüentemente, a função da proteína formada [23]. O alelo é uma das diversas variantes de um gene em uma determinada região cromossômica, conhecida por locus (do latim “lugar”).

O locus é o local fixo no cromossomo onde está localizado determinado gene. O genótipo representa o conjunto de alelos que ocupam um determinado locus em um indivíduo, recebendo a denominação de homocigoto quando a mesma variante ocupa o locus nos dois cromossomos homólogos ou heterocigoto quando duas variantes diferentes ocupam o locus em questão [24].

Um polimorfismo pode ter sua atividade dependente de heterocigose ou homocigose, sendo mais expressivo em casos de homocigose para alelo de risco. Vale ressaltar que um polimorfismo não é necessariamente deletério, podendo inclusive estar relacionado a um benefício para o portador do alelo variante [72].

Sendo assim, estudos que envolvem a relação dos polimorfismos à susceptibilidade de situações de risco podem auxiliar o desenvolvimento de melhores estratégias terapêuticas, incluindo modificações de estilo de vida como prevenção de doenças [25]. Por exemplo, estudos no âmbito da nutrigenômica e nutrigenética abordam estratégias nutricionais eficientes para silenciar genes que codificam

condições de agravo a doenças. Este tipo de relação gene vs doença demonstra a importância de estudos dos fatores genéticos, os quais podem servir de base para novas terapias e estratégias de prevenção [73].

2.2.1. CCR5 E SEUS POLIMORFISMOS

As quimiocinas são moléculas reguladoras fundamentais no desenvolvimento, diferenciação e migração de leucócitos [26, 27, 28, 29 30]. O gene CCR5 e a molécula por ele codificada são bastante conhecidos devido ao seu papel clássico como molécula co-receptora utilizada pelos vírus HIV [26,31, 32, 33, 34, 35, 36]. O receptor de quimiocina CC tipo 5 (CCR5) interage principalmente com as quimiocinas CCL3 (MIP-1 α), CCL4 (MIP-1 β) e CCL5 (RANTES), as quais atuam como agonistas de CCR5, estimulando a migração celular e mediando respostas inflamatórias. Adicionalmente, a quimiocina MCP-3/CCL7 é o principal ligante antagonista do CCR5 [37, 38, 39, 40].

Além disso, CCR5 atua nas respostas imunes Th1 e a falta de sinalização por meio desta molécula leva a um direcionamento para respostas Th2. A proteína CCR5 tem um efeito regulador nas células inflamatórias, sendo que a expressão de CCR5 já foi observada em alguns subconjuntos de células T reguladoras (Treg). [41,42, 43]. A proteína CCR5 humana (352 resíduos) é codificada pelo gene *CCR5* [Cromossomo 3 (3p.21.31)], que se apresenta altamente polimórfico [37, 44]. É fundamental considerar que CCR5 medeia diferentes funções imunológicas, sendo assim possível que a ausência ou alteração de sua expressão promova alterações de difícil detecção, mas com significado médico em um ambiente ou contexto específico.

O caminho do CCR5 entre a membrana plasmática e o meio intracelular é mediado por diferentes moléculas, incluindo clatrininas, β -arrestina 2 e quinase regulada por sinal extracelular (ERK) 1 [45, 46]. Além disso, o CD4 intracelular regula a expressão de CCR5 na superfície celular [47]. Dentre os polimorfismos do CCR5, o CCR5 Δ 32 (rs333) tem sido intensamente estudado em diferentes populações humanas. A frequência de CCR5 Δ 32 é bastante variável, dependendo da origem étnica da população [52, 74].

Em geral, a frequência do alelo Δ 32 é alta em populações de origem europeia (por exemplo, 16% na Noruega e 11% na Alemanha) e baixa ou ausente em populações africanas e asiáticas [48]. No entanto, há exceções devido a eventos migratórios. Por exemplo, a frequência do alelo Δ 32 é relativamente alta em certos grupos populacionais da África do Sul (13%) e no Chile (12%) [48]. Além disso, a frequência do alelo Δ 32 pode ser bastante variável dentro do mesmo país. No Brasil, a frequência do alelo na população geral está em torno de 4–5% [48, 49]. Na região sul do país, a frequência pode chegar a 9% devido à migração de populações europeias para esta região [50, 51, 52].

Em geral, considera-se que a ausência de CCR5 observada em indivíduos homozigotos da variante CCR5 Δ 32 não está associada a qualquer alteração fisiológica essencial grave. Embora seja geralmente aceito que indivíduos homozigotos dessa variante não apresentam deficiências imunológicas ou clínicas graves, [35,53] respostas inflamatórias exacerbadas já foram relatadas em associação com a variante CCR5 Δ 32 [54].

2.2.2 CCR5 Δ 32

CCR5 Δ 32 é a variante genética do gene CCR5 mais estudada devido ao seu forte efeito protetor contra a infecção pelo HIV. Esta variante consiste em uma deleção de 32 pares de bases na região codificadora de CCR5, o que causa uma mudança do quadro de leitura e resulta em uma proteína truncada que não é direcionada para a superfície celular. Indivíduos com genótipo heterozigoto para CCR5 Δ 32, se infectados pelo HIV, têm uma pequena proteção contra a progressão da doença devido à expressão reduzida de CCR5 na superfície das células T CD4⁺. Já indivíduos homozigotos para esse polimorfismo (Δ 32/ Δ 32) apresentam proteção virtualmente total contra a infecção pelo HIV tipo 1, uma vez que nenhuma expressão de CCR5 é presente na superfície celular e, portanto, o vírus não tem onde ligar-se para promover uma efetiva invasão celular. [62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69].

No Brasil, dois estudos avaliaram a variante CCR5 Δ 32 em lúpus. Schauren *et al.* investigaram o papel do CCR5 Δ 32 em pacientes com LES e controles saudáveis do Rio Grande do Sul. Uma frequência menor do alelo CCR5 Δ 32 foi encontrada em pacientes euro-brasileiros (2,7%) quando comparados aos controles euro-brasileiros (7,5%), sugerindo um papel protetor da variante contra o desenvolvimento de lúpus eritematoso sistêmico [52]. No entanto, pacientes com o alelo CCR5 Δ 32 apresentaram maior predisposição ao desenvolvimento de nefrite classe IV em comparação aos pacientes sem o alelo, o que sugere um resultado clínico mais grave associado à variante genética [52].

Baltus *et al.* avaliaram as frequências de CCR5 Δ 32 em pacientes e controles no estado do Paraná. Ao contrário do primeiro estudo, a frequência do alelo CCR5 Δ 32 foi estatisticamente maior em pacientes (6,8%) do que em controles saudáveis (1,9%),

sugerindo a variante como um fator de risco para LES. Além disso, ao estratificar a amostra de acordo com a etnia, os pesquisadores identificaram que indivíduos euro-brasileiros portadores do CCR5 Δ 32 eram mais propensos a desenvolver LES do que os pacientes afro-brasileiros portadores da variante [70]. Cabe salientar que CCR5 Δ 32 é uma variante pleiotrópica, podendo portanto promover resultados diferentes em diferentes situações.

2.2.3 CCR5 e LES

O progresso da doença é afetado pelo início de respostas imunes inatas e adquiridas, enquanto é acelerado por repetidas respostas imunes excessivas, as quais levam a danos teciduais por meio de reações autoimunes e deposição de complexos imunes [55, 56]. A inflamação crônica e as respostas imunes hiperativas em pacientes com LES desempenham um papel determinante na patogênese da doença. Vários tipos de células imunes contribuem para o priming, incidência, progressão e desfecho da doença no LES. As células dendríticas (DCs), como células imunes inatas centrais, são células primárias que determinam a direção das respostas imunes à tolerância ou ao estado inflamatório em pacientes com lúpus [57,58]. Os receptores de quimiocinas, como os receptores de superfície celular imune, direcionam o recrutamento celular e a migração para os linfonodos primários, induzindo assim respostas inflamatórias ou regulatórias [75].

A expressão de CCR5 (ligantes CCL3, CCL4 e CCL5), CCR4 (ligantes CCL17 e CCL22) e CCR3 (ligantes eotaxina e eotaxina-2) em diferentes células imunes está associada ao progresso da inflamação em LES [59, 60]. A expressão de CCR5 em células T ativadas está associada a maior infiltração celular e inflamação.

O papel do CCR5 na patogênese de LES ainda é controverso, porém, Mamtani *et. al* descreveram uma importante associação dos haplótipos humanos da região promotora do CCR5 (HH) HHE e HHG*2 com o risco de desenvolver LES e uma tendência do HHF*1 à proteção da mesma [4]. Além disso, Aguilar *et. al.* sugeriram um leve aumento na produção de autoanticorpos, no desenvolvimento de nefrite e na gravidade da doença em pacientes portadores do alelo CCR5 Δ 32 [61]. De acordo com o trabalho publicado pelo nosso grupo, Schauren *et. al.*, mulheres de origem europeia

com LES apresentaram menor frequência do alelo CCR5 Δ 32 quando comparadas a controles pareados etnicamente, enquanto a presença do alelo foi associada a nefrite grave em pacientes de origem africana [52].

3.JUSTIFICATIVA

Com o melhor entendimento do envolvimento dos polimorfismos da região promotora de CCR5 no desenvolvimento de LES, será possível aprimorar o prognóstico e opções de tratamento da doença, melhorando o desfecho clínico e qualidade de vida dos pacientes.

4. QUESTÕES DE PESQUISA

Quais fatores relacionados ao perfil imunogenético do hospedeiro (especialmente considerando-se os genes *CCR2* e *CCR5*) influenciam o desenvolvimento de LES, seu estabelecimento e progressão da doença?

5. HIPÓTESE

O perfil imunogenético indicará como o indivíduo responderá à doença, seja em relação ao tratamento, progressão ou remissão da doença.

6. OBJETIVOS

6.1. Objetivo Geral

Avaliar a influência de polimorfismos da região promotora de *CCR5* em indivíduos com LES.

6.2. Objetivos Específicos

- Compreender a interação entre a imunogenética em população normal e LES;
- Analisar a possível influência e suscetibilidade à LES nos indivíduos com polimorfismo na região promotora de *CCR5*;

8. CONCLUSÕES

Concluimos que o haplótipo HHG*2, portando o alelo CCR5Δ 32, foi o único haplótipo associado à proteção de LES em pacientes. Nas análises de grupos de ancestralidade africana, as frequências dos haplótipos HHA/HHB, HHC e HHG*2 diferiram quando comparados ao grupo controle. A frequência do haplótipo HHG*2 foi aumentada em pacientes de ancestralidade africana, enquanto o oposto foi encontrado em pacientes de ancestralidade europeia. Este alelo não está originalmente presente em populações africanas nativas, e sua presença em indivíduos de ancestralidade africana resulta da miscigenação. Tendo isso em mente, podemos inferir que a frequência diminuída de HHA e a frequência aumentada de HHC em nossos pacientes de ancestralidade africana podem estar relacionadas a uma expressão aumentada de CCR5 em subconjuntos de células específicas e a uma expressão reduzida de CCR5 em geral.

O papel controverso de CCR5 descrito neste trabalho não é uma novidade em doenças autoimunes. Entretanto, LES parece seguir a mesma tendência observada em Artrite Reumatoide, sendo que em uma avaliação global, a expressão reduzida de CCR5 parece ser protetora contra o desenvolvimento de LES. A origem étnica é um fator extremamente importante relacionada ao desenvolvimento de LES e à expressão de CCR5, e deve receber atenção especial. Além disso, o papel controverso de CCR5 pode ser devido à presença deste receptor em células com diferentes funções no sistema imunológico.

De acordo com nossos resultados, em pacientes de ancestralidade europeia, CCR5Δ32 e as frequências reduzidas do haplótipo HHG*2 estão associados ao desenvolvimento da doença ($p=0,001$; OU 3,5; 95% CI 1,6-7,5 e 2,0%, vs. 7,2% residual $p= 2,9E-5$, respectivamente). Em pacientes de ancestralidade africana, as

frequências dos haplótipos HHA/HHB, HHC e HHG*2 diferiram entre pacientes e controles (10% vs 20,5%, residual $p=0,003$; 29,4%vs. 17,4%, residual $p=0,003$ e 3,9%vs. 0,8%, residual $p=0,023$; respectivamente). Considerando as manifestações clínicas da doença, a presença de CCR5 Δ 32 foi confirmada como fator de suscetibilidade para nefrite classe IV no grupo de ancestralidade africana e quando os pacientes foram considerados em conjunto (p corrigido= $0,012$; OU 3,0; 95% CI 3,0-333,3 e p corrigido= 0,0006; OU 6.8; 95%IC 1,9-2,48, respectivamente). Em conclusão, descrevemos uma frequência reduzida de HHA/HHB e uma frequência aumentada de haplótipos HHC e HHG*2 em nossos pacientes de ancestralidade africana, o que potencialmente reflete em uma expressão aumentada de CCR5 em subconjuntos de células específicos e em uma expressão reduzida de CCR5 geral. Estudos adicionais devem ser realizado para o melhor entendimento desta resposta imune.

9. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Neste trabalho, demonstramos o possível papel de polimorfismos na região promotora do gene CCR5 como modificadores da doença em pacientes com LES. Nossos dados demonstram que a variante CCR5 Δ 32 atua como fator protetor para o desenvolvimento da doença em pacientes de ancestralidade europeia e como fator de suscetibilidade para nefrite classe IV em pacientes de ancestralidade africana. A literatura atual reforça a necessidade de mais estudos nessa área, visto que há muitos resultados controversos. Desta forma, poderemos também esclarecer o real impacto desta variante em diferentes condições genéticas, ambientais, étnicas e clínicas.

REFERENCIAS

1. Dörner, T., Giesecke, C., Lipsky, P.E. 2011. Mechanisms of B cell autoimmunity in SLE. *Arthritis research & therapy*, 13: 243.
2. Moulton, V.R., Tsokos, G.C. 2011. Abnormalities of T cell signaling in systemic lupus erythematosus. *Arthritis research & therapy*, 13: 207.
3. Eriksson, C., Eneslatt, K., Ivanoff, J., Rantapaa-Dahlqvist, S., Sundqvist, K.G. 2003. Abnormal expression of chemokine receptors on T-cells from patients with systemic lupus erythematosus. *Lupus*, 12: 766-74.
4. Mamtani, M., Rovin, B., Brey, R., Camargo, J.F., Kulkarni, H., Herrera, M., Correa, P., Holliday, S., Anaya, J.-M., Ahuja, S.K. 2008. CCL3L1 gene-containing segmental duplications and polymorphisms in CCR5 affect risk of systemic lúpus erythaematosus. *Annals of the rheumatic diseases*, 67: 1076-83.
5. OMONTE, R.K.; LENZ, M. A. S.; BATISTA, J. S. Lúpus eritematoso: uma revisão de literatura. Centro Integrado de Saúde Prof. Roberto Elias, 2006.
6. Munoz, L.E., Lauber, K., Schiller, M., Manfredi, A.A., Herrmann, M. 2010. The role of defective clearance of apoptotic cells in systemic autoimmunity. *Nat Ver Rheumatol*, 6: 280-9.
7. Schiffer, L., Kumpers, P., Davalos-Misslitz, A.M., Haubitz, M., Haller, H., Anders, H.J., Witte, T., Schiffer, M. 2009. B-cell-attracting chemokine CXCL13 as a marker of disease activity and renal involvement in systemic lupus erythematosus (SLE). *Nephrol Dial Transplant*, 24: 3708-12.
8. Lit, L.C., Wong, C.K., Tam, L.S., Li, E.K., Lam, C.W. 2006. Raised plasma concentration and ex vivo production of inflammatory chemokines in patients with systemic lupus erythematosus. *Ann Rheum Dis*, 65: 209-15.
9. Lima, G., Soto-Vega, E., Atisha-Fregoso, Y., Sanchez-Guerrero, J., Vallejo, M., Vargas-Alarcon, G., Llorente, L. 2007. MCP-1, RANTES, and SDF-1 polymorphisms in Mexican patients with systemic lupus erythematosus. *Hum Immunol*, 68: 980-5.
10. Samson, M., Soularue, P., Vassart, G., Parmentier, M. 1996. The genes encoding the human CC-chemokine receptors CC-CKR1 to CC-CKR5 (CMKBR1-CMKBR5) are clustered in the p21.3-p24 region of chromosome 3. *Genomics*, 36: 522-6.
11. Myers, S.J., Wong, L.M., Charo, I.F. 1995. Signal transduction and ligand specificity of the human monocyte chemoattractant protein-1 receptor in transfected embryonic kidney cells. *J Biol Chem*, 270: 5786-92.
12. Frade, J.M., Mellado, M., del Real, G., Gutierrez-Ramos, J.C., Lind, P., Martinez, A.C. 1997. Characterization of the CCR2 chemokine receptor: functional CCR2 receptor expression in B cells. *J Immunol*, 159: 5576-84.

13. Combadiere, C., Ahuja, S.K., Tiffany, H.L., Murphy, P.M. 1996. Cloning and functional expression of CC CKR5, a human monocyte CC chemokine receptor selective for MIP-1(alpha), MIP-1(beta), and RANTES. *J Leukoc Biol*, 60: 147-52.
14. Murphy, P.M., Baggiolini, M., Charo, I.F., Hébert, C.a., Horuk, R., Matsushima, K., Miller, L.H., Oppenheim, J.J., Power, C.a. 2000. International union of pharmacology. XXII. Nomenclature for chemokine receptors. *Pharmacological reviews*, 52: 145-76.
15. ASSIS, M. R.; BAAKLINI, C. E. Como Diagnosticar e Tratar Lúpus Eritematoso Sistêmico. *Revista Brasileira de Medicina*, São Paulo, v. 66, n. 9 p. 274-285, 2009
16. SATO. E, I. 2002. Consenso brasileiro para o tratamento do lúpus eritematoso sistêmico (LES). *Revista Brasileira de Reumatologia*, São Paulo, v. 42, n. 6, p. 362-370, 2002.
17. CARNEIRO. E.; REIS. C.; PINTO. P.; BERNARDES. J, M.; SILVA. M, L, R.; SALGADO. A. Lúpus Eritematoso Sistêmico: A Ressonância magnética no Envolvimento do Sistema Nervoso Central. *Acta Médica Portuguesa*, Lisboa, v.19, n.2, p.459-465, 2006.
18. Nakashima, C.A., Galhardo, A.P., Silva, J.F., Fiorenzano, G.R., Santos, A.B., Leite, M.F., Nogueira, M.A., Menolli, P.V., Menolli, R.A. 2011. Incidence and clinical-laboratory aspects of systemic lupus erythematosus in a Southern brazilian city. *Rev Bras Reumatol*, 51: 231-9.
19. Vilar, M.J., Sato, E.I. 2002. Estimating the incidence of systemic lúpus erythematosus in a tropical region (Natal, Brazil). *Lupus*, 11: 528-32.
20. POLESE, J.C. Lúpus Eritematoso sistêmico (LES). In: WIBELINGER, L.M. *Fisioterapia em Reumatologia*. 1. ed. Rio de Janeiro: Revinter, 2009, cap.07, p. 124-137.
21. VELÁZQUEZ, C.R. Lúpus Eritematoso Sistêmico. In: LATINIS, K.M. *Reumatologia*. 1.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2005.
22. MARCK, H.B. *Manual Merck: Diagnóstico e Tratamento*. 18 ed. São Paulo: Roca, 2008.
23. Phillips CM. Nutrigenetics and metabolic disease: Current status and implications for personalised nutrition. *Nutrients*. 2013;5(1):32–57.
24. Albert PR. What is a functional genetic polymorphism? Defining classes of functionality. Vol. 36, *Journal of Psychiatry and Neuroscience*. Canadian Medical Association; 2011. p. 363–5.
25. Fenech M, El-Sohehy A, Cahill L, Ferguson LR, French TAC, Tai ES, et

- al. Nutrigenetics and nutrigenomics: Viewpoints on the current status and applications in nutrition research and practice. *J Nutrigenet Nutrigenomics*. 2011;4(2):69–89.
26. Abdi R., Smith R.N., Makhlof L., Najafian N., Luster A.D., Auchincloss H., Jr The role of CC chemokine receptor 5 (CCR5) in islet allograft rejection. *Diabetes*. 2002;51(8):2489–2495.
27. Chamberlain G., Fox J., Ashton B., Middleton J. Concise review: mesenchymal stem cells: their phenotype, differentiation capacity, immunological features, and potential for homing. *Stem Cells*. 2007;25(11):2739–2749.
28. de Oliveira C.E., Oda J.M., Losi Guembarovski R., de Oliveira K.B., Ariza C.B., Neto J.S. CC chemokine receptor 5: the interface of host immunity and cancer. *Dis Markers*. 2014;2014
29. Velasco-Velázquez M., Xolalpa W., Pestell R.G. The potential to target CCL5/CCR5 in breast cancer. *Expert Opin Ther Targets*. 2014;18(11):1265–1275.
30. Singh S.K., Mishra M.K., Eltoum I.A., Bae S., Lillard J.W., Jr, Singh R. CCR5/CCL5 axis interaction promotes migratory and invasiveness of pancreatic cancer cells. *Sci Rep*. 2018;8(1):1323.
31. Alkhatib G. The biology of CCR5 and CXCR4. *Curr Opin HIV AIDS*. 2009;4(2):96–103.
32. Lederman M.M., Penn-Nicholson A., Cho M., Mosier D. Biology of CCR5 and its role in HIV infection and treatment. *JAMA*. 2006;296(7):815–826.
33. Moore J.P., Kitchen S.G., Pugach P., Zack J.A. The CCR5 and CXCR4 coreceptors-central to understanding the transmission and pathogenesis of human immunodeficiency virus type 1 infection. *AIDS Res Hum Retroviruses*. 2004;20(1):111–126.
34. Jones K.L., Maguire J.J., Davenport A.P. Chemokine receptor CCR5: from AIDS to atherosclerosis. *Br J Pharmacol*. 2011;162(7):1453–1469.
35. Barmania F., Pepper M.S. C-C chemokine receptor type five (CCR5): an emerging target for the control of HIV infection. *Appl Transl Genom*. 2013;2:3–16.
36. Scurci I., Martins E., Hartley O. CCR5: established paradigms and new frontiers for a 'celebrity' chemokine receptor. *Cytokine*. 2018;109:81–93.
37. Blanpain C., Migeotte I., Lee B., Vakili J., Doranz B.J., Govaerts C., Vassart G., Doms R.W., Parmentier M. CCR5 binds multiple CC-chemokines: MCP-3 acts as a natural antagonist. *Blood*. 1999;94:1899–1905. doi: 10.1182/blood.V94.6.1899.
38. Zlotnik A., Yoshie O. Chemokines: a new classification system and their role in immunity. *Immunity*. 2000;12:121–127. doi: 10.1016/s1074-7613(00)80165-x.

39. Glass W.G., Rosenberg H.F., Murphy P.M. Chemokine regulation of inflammation during acute viral infection. *Curr. Opin. Allergy Clin. Immunol.* 2003;3:467–473. doi: 10.1097/01.all.0000104448.09202.91.
40. Alkhatib G. The biology of CCR5 and CXCR4. *Curr. Opin. HIV AIDS.* 2009;4:96–103. doi: 10.1097/COH.0b013e328324bbec.
41. Griffith J.W., Sokol C.L., Luster A.D. Chemokines and chemokine receptors: positioning cells for host defense and immunity. *Annu Rev Immunol.* 2014;32:659–702.
42. Lederman M.M., Penn-Nicholson A., Cho M., Mosier D. Biology of CCR5 and its role in HIV infection and treatment. *JAMA.* 2006;296(7):815–826.
43. Wysocki C.A., Jiang Q., Panoskaltsis-Mortari A., Taylor P.A., McKinnon K.P., Su L. Critical role for CCR5 in the function of donor CD4+CD25+ regulatory T cells during acute graft-versus-host disease. *Blood.* 2005;106(9):3300–3307.
44. Hoover K.C. Intragenus (Homo) variation in a chemokine receptor gene (CCR5) *PLoS One.* 2018;13 doi: 10.1371/journal.pone.0204989.
45. Venuti A., Pastori C., Siracusano G., Riva A., Sciortino M.T., Lopalco L. ERK1-based pathway as a new selective mechanism to modulate CCR5 with natural antibodies. *J. Immunol.* 2015;195:3045–3057. doi: 10.4049/jimmunol.1500708.
46. Venuti A., Pastori C., Siracusano G., Pennisi R., Riva A., Tommasino M., Sciortino M.T., Lopalco L. The abrogation of phosphorylation plays a relevant role in the CCR5 signalosome formation with natural antibodies to CCR5. *Viruses.* 2018;10:9. doi: 10.3390/v10010009.
47. Achour L., Scott M.G., Shirvani H., Thuret A., Bismuth G., Labbé-Jullié C., Marullo S. CD4-CCR5 interaction in intracellular compartments contributes to receptor expression at the cell surface. *Blood.* 2009;113:1938–1947. doi: 10.1182/blood-2008-02-141275.
48. Solloch U.V., Lang K., Lange V., Böhme I., Schmidt A.H., Sauter J. Frequencies of gene variant CCR5-Δ32 in 87 countries based on next-generation sequencing of 1.3 million individuals sampled from 3 national DKMS donor centers. *Hum. Immunol.* 2017;78:710–717. doi: 10.1016/j.humimm.2017.10.001.
49. Silva-Carvalho W.H.V., de Moura R.R., Coelho A.V.C., Crovella S., Guimarães R.L. Frequency of the CCR5-delta32 allele in Brazilian populations: a systematic literature review and meta-analysis. *Infect. Genet. Evol.* 2016;43:101–107. doi: 10.1016/j.meegid.2016.05.024.
50. Boldt A.B.W., Culpi L., Tsuneto L.T., Souza I.R., Kun J.F.J., Petzl-Erler L.M. Analysis of the CCR5 gene coding region diversity in five South American populations reveals two new non-synonymous alleles in Amerindians and high CCR5*D32 frequency in Euro-Brazilians. *Genet. Mol. Biol.* 2009;32:12–19. doi: 10.1590/S1415-47572009005000011.

51. Pena S.D.J., Di Pietro G., Fuchshuber-Moraes M., Genro J.P., Hutz M.H. The genomic ancestry of individuals from different geographical regions of Brazil is more uniform than expected. *PLoS One*. 2011;6 doi: 10.1371/journal.pone.0017063.
52. Schauben JS, Marasca JA, Veit TD, et al. CCR5delta32 in systemic lupus erythematosus: implications for disease susceptibility and outcome in a Brazilian population. *Lupus*. 2013;22(8):802-809.
53. Nguyêñ G.T., Carrington M., Beeler J.A., Dean M., Aledort L.M., Blatt P.M. Phenotypic expressions of CCR5- Δ 32/ Δ 32 homozygosity. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 1999;22(1):75–82.
54. Vargas A.E., Cechim G., Correa J.F., Gomes P.A., Macedo G.S., de Medeiros R.M. Pros and cons of a missing chemokine receptor - Comments on “Is the European spatial distribution of the HIV-1-resistant CCR5- Δ 32 allele formed by a breakdown of the pathocenosis due to the historical Roman expansion?” by Eric Faure and Manuela Royer-Carenzi (2008) *Infect Genet Evol*. 2009;9(4):387–389
55. Weidenbusch M, Kulkarni OP, Anders H-J. The innate immune system in human systemic lupus erythematosus. *Clin Sc*. 2017;131:625–634.
56. Atabati H, Esmaeili SA, Saburi E, Akhlaghi M, Raofii A, Rezaei N, et al. Probiotics with ameliorating effects on the severity of skin inflammation in psoriasis: Evidence from experimental and clinical studies. *J Cell Physiol*. 2020;235:8925–8937.
57. Audiger C, Rahman MJ, Yun TJ, Tarbell KV, Lesage S. The importance of dendritic cells in maintaining immune tolerance. *J Immunol*. 2017;198:2223–2231.
58. Radmanesh F, Mahmoudi M, Yazdanpanah E, Keyvani V, Kia N, Nikpoor AR, et al. The immunomodulatory effects of mesenchymal stromal cell-based therapy in human and animal models of systemic lupus erythematosus. *IUBMB life*. 2020;72:2366–2381.
59. Turner J-E, Paust H-J, Bennstein SB, Bramke P, Krebs C, Steinmetz OM, et al. Protective role for CCR5 in murine lupus nephritis. *Am J Physiol Renal Physiol*. 2012;302:F1503–F1515.
60. Bignon A, Gaudin F, Hémon P, Tharinger H, Mayol K, Walzer T, et al. CCR1 inhibition ameliorates the progression of lupus nephritis in NZB/W mice. *J Immunol*. 2014;192:886–896.
61. Aguilar, F., Núñez-Roldán, A., Torres, B., Wichmann, I., Sánchez-Román, J., González-Escribano, M.F. 2003. Chemokine receptor CCR2/CCR5 polymorphism in Spanish patients with systemic lupus erythematosus. *The Journal of rheumatology*, 30: 1770-4.
62. 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. Identification of a major co-receptor for primary isolates of HIV-1. *Nature*. 1996;381:661–666. doi: 10.1038/381661a0.

63. Dragic T., Litwin V., Allaway G.P., Martin S.R., Huang Y., Nagashima K.A., Cayan C., Maddon P.J., Koup R.A., Moore J.P., Paxton W.A. HIV-1 entry into CD4+ cells is mediated by the chemokine receptor CC-CKR-5. *Nature*. 1996;381:667–673. doi: 10.1038/381667a0.
64. Huang Y., Paxton W.A., Wolinsky S.M., Neumann A.U., Zhang L., He T., Kang S., Ceradini D., Jin Z., Yazdanbakhsh K., Kunstman K., Erickson D., Dragon E., Landau N.R., Phair J., Ho D.D., Koup R.A. The role of a mutant CCR5 allele in HIV-1 transmission and disease progression. *Nat. Med.* 1996;2:1240–1243. doi: 10.1038/nm1196-1240.
65. Samson M., Libert F., Doranz B.J., Rucker J., Liesnard C., Farber C.M., Saragosti S., Lapoumèroulie C., Cognaux J., Forceille C., Muyldermans G., Verhofstede C., Burton G., Georges M., Imai T., Rana S., Yi Y., Smyth R.J., Collman R.G., Doms R.W., Vassart G., Parmentier M. Resistance to HIV-1 infection in caucasian individuals bearing mutant alleles of the CCR-5 chemokine receptor gene. *Nature*. 1996;382:722–725. doi: 10.1038/382722a0.
66. Wu L., Paxton W.A., Kassam N., Ruffing N., Rottman J.B., Sullivan N., Choe H., Sodroski J., Newman W., Koup R.A., Mackay C.R. CCR5 levels and expression pattern correlate with infectability by macrophage-tropic HIV-1, in vitro. *J. Exp. Med.* 1997;185:1681–1691. doi: 10.1084/jem.185.9.1681.
67. Proudfoot A.E. Chemokine receptors: multifaceted therapeutic targets. *Nat. Rev. Immunol.* 2002;2:106–115. doi: 10.1038/nri722.
68. Venkatesan S., Petrovic A., Van Ryk D.I., Locati M., Weissman D., Murphy P.M. Reduced cell surface expression of CCR5 in CCR5 Δ 32 heterozygotes is mediated by gene dosage, rather than by receptor sequestration. *J. Biol. Chem.* 2002;277:2287–2301. doi: 10.1074/jbc.M108321200.
69. Picton A.C.P., Shalekoff S., Paximadis M., Tiemessen C.T. Marked differences in CCR5 expression and activation levels in two South African populations. *Immunology*. 2012;136:397–407. doi: 10.1111/j.1365-2567.2012.03592.x.
70. Baltus THL, Kallaur AP, Lozovoy MAB, Morimoto HK, Delongui F, Alfieri DF, et al.. Ccr5 Δ 32 (Rs333) Polymorphism is Associated With the Susceptibility to Systemic Lupus Erythematosus in Female Brazilian Patients. *Rheumatol Int* (2016) 36:7–15. doi: 10.1007/s00296-015-3308-z
71. Balasubramanian SP, Cox A, Brown NJ, Reed MW. Candidate gene polymorphisms in solid cancers. *Eur J Surg Oncol*. 2004;30(6):593-601. doi:10.1016/j.ejso.2004.04.001
72. Menezes CA, Alves Junior ER, Costa GN de O, Dombroski TCD, Mattos RT de, Gomes J de AS, et al.. Genetic polymorphisms and plasma concentrations of leptin (rs7799039) and adiponectin (rs17300539) are associated with obesity in children and adolescents. *Rev paul pediatr [Internet]*. 2022;40(Rev. paul. pediatr., 2022 40). Available from: <https://doi.org/10.1590/1984-0462/2022/40/2021030IN>

73. Assakawa, Samantha & Oliveira, Roque & Pimenta, Raphael. (2019). A NUTRIGENÔMICA COMO MÉTODO DE PREVENÇÃO E TRATAMENTO DE DOENÇAS Nutrigenomic as a method of prevention and treatment of diseases La nutrigenomica como método de prevención y tratamiento de enfermedad. 10.20873/ufftv6-7029.

74. Kulmann-Leal B, Ellwanger JH, Chies JAB. CCR5 Δ 32 in Brazil: Impacts of a European Genetic Variant on a Highly Admixed Population. *Front Immunol.* 2021 Dec 10;12:758358. doi: 10.3389/fimmu.2021.758358. PMID: 34956188; PMCID: PMC8703165.

75. Palomino, Diana Carolina Torres, & Marti, Luciana Cavaleiro. (2015). Quimiocinas e imunidade. *einstein (São Paulo)*, 13(3), 469-473. <https://doi.org/10.1590/S1679-45082015RB3438>