

Análise do polimorfismo rs1801157 da quimiocina cxcl12 em descendentes asiáticos em Maringá – PR

Polymorphism analysis of chemokine cxcl12 rs1801157 in asian descent in Maringá – PR

Eduarda Libarino Suzuki¹, Stephanie Badaró Garcia², Guiherme Cesar Martelossi Cebinelli², Nathalia Tatakihara², Ana Paula Lombardi Pereira², Nádia Calvo Martins Okuyama², Maria Angelica Ehara Watanabe³, Karen Brajão de Oliveira²

¹ Centro Universitário de Maringá, Curso de Biomedicina, Maringá – PR, Brasil.

² Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências Biológicas, Departamento de Ciências Patológicas, Laboratório de Genética Molecular e Imunologia. Londrina – PR, Brasil.

³ Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências Biológicas, Departamento de Ciências Patológicas, Laboratório de Estudos e Análises de Polimorfismos. Londrina – PR, Brasil.

Endereço para correspondência

Karen Brajão de Oliveira

Departamento de Ciências Patológicas

Rodovia Celso Garcia Cid, PR 445 Km 380 – CEP 86057-970 - Londrina - PR

e-mail: karen.brajao@uel.br

Resumo

As quimiocinas são proteínas cuja função primordial é direcionar as células do sistema imune, principalmente os leucócitos, para os sítios de inflamação no organismo. A quimiocina CXCL12 pertence à família CXC (alfa-quimiocina), inicialmente descrita como um fator derivado de células do estroma da medula óssea (SDF-1), e como um fator pré-estimulador de células B, e ainda é o ligante específico de CXCR4. O CXCR4 atua como um co-receptor para importantes patógenos, como o HIV, determinando o tropismo viral por diferentes células. A quimiocina CXCL12 apresenta um polimorfismo designado CXCL12 rs1801157, cujo alelo variante pode ter funções regulatórias importantes, resultantes do aumento na concentração da proteína CXCL12. Desta forma a presença do alelo variante na população poderia diminuir a susceptibilidade à infecção pelo vírus HIV, ou promover um melhor prognóstico aos indivíduos infectados. Desta forma o presente estudo teve como objetivo avaliar a frequência do alelo variante do polimorfismo de quimiocina CXCL12 rs1801157, em indivíduos saudáveis de ascendência asiática. As amostras utilizadas foram de sangue periférico, das quais foi extraído o DNA para análise molecular do polimorfismo por meio da técnica de PCR-RFLP. Os dados foram avaliados estatisticamente pelo programa SPSS Statistics 17.0, adotando o nível de significância de $p < 0.05$, onde observou-se uma frequência de 53,8% de genótipos GG, 36,5% de GA e 9,6% de AA, o que está dentro do Equilíbrio de Hardy-Weinberg, contudo não se observou correlação significativa entre a distribuição genotípica e os parâmetros avaliados, como sexo, idade e geração.

Palavras-chaves: CXCL12-3'A, epidemiologia, SDF-1, SDF1-3'A

Abstract

Chemokines are proteins whose primary function is to direct the immune system cells, especially leukocytes to sites of inflammation in the body. The chemokine CXCL12 belongs to the CXC family (alpha-chemokine), initially described as a Stromal-cell derived factor from bone marrow (SDF-1), and as a pre-B cells stimulating factor. CXCL12 binds CXCR4, which also acts as a co-receptor for important pathogens such as HIV. The chemokine CXCL12 presents a polymorphism designated CXCL12 rs1801157, the variant allele may have important regulatory functions resulting from the increase in the CXCL12 concentration. Thus the presence of the variant allele in the population might reduce susceptibility to HIV infection, or promote a better prognosis. Thus this study aimed to evaluate the frequency of the variant allele of the CXCL12 rs1801157 polymorphism in healthy Asian descent individuals. DNA was extracted from peripheral blood samples to analyze the polymorphism by the PCR-RFLP method. The data were statistically analyzed using the software SPSS Statistics 17.0, adopting the significance level of $p < 0.05$. The CXCL12 genotypes frequencies observed were 53.8% of GG genotype, 36.5% GA and 9.6% AA, the genotypes are in agreement to Hardy Weinberg Equilibrium and no significant correlation was observed among alleles distribution and any of the evaluated parameters, as gender, age and generations.

Keywords: CXCL12-3'A, epidemiology, SDF-1, SDF1-3'A

INTRODUÇÃO

As quimiocinas são proteínas cuja função primordial é direcionar as células do sistema imune, principalmente os leucócitos, para os sítios de inflamação no organismo. Estas foram estabelecidas como citocinas quimioatraentes em 1992 após o Encontro Internacional de Imunologia em Budapest ⁽¹⁾. Constituem uma grande família de mediadores inflamatórios e imunológicos, e apresentam similaridade e diferenças com as citocinas. Assim como as citocinas, as quimiocinas são proteínas secretórias produzidas por leucócitos e células teciduais constitutivamente ou após indução e exercem seus efeitos localmente de forma autócrina ou parácrina. Entretanto, as quimiocinas são moléculas muito menores que as citocinas e desempenham sua atividade via receptores, com sete-hélices transmembrana, acoplados à proteína G, os quais são típicos para atração de leucócitos ⁽²⁾. Duas famílias principais, CXC e CC, também conhecidas como α e β quimiocinas respectivamente, são distinguidas de acordo com a posição dos dois primeiros resíduos de cisteína, os quais são separados por um aminoácido variável (CXC) ou são adjacentes (CC). As cisteínas formam duas pontes dissulfeto (Cys1 \rightarrow Cys3 e Cys2 \rightarrow Cys4), o que confere às quimiocinas sua estrutura tridimensional. As pontes dissulfeto mantêm as regiões aminoterminais juntas, o que é essencial para sua atividade biológica ⁽²⁾. Para cada família de quimiocinas descrita, existem receptores respectivos, acoplados à proteína G e que medeiam suas funções junto às células-alvo ⁽³⁾.

A quimiocina CXCL12 pertence à família CXC (α -quimiocina), a qual foi inicialmente descrita como um fator derivado de células do estroma da medula óssea (SDF-1), e como um fator pré-estimulador de células B ⁽⁴⁾. Constitutivamente expressa por células do estroma medular e células endoteliais ⁽⁴⁾, do músculo cardíaco ⁽⁵⁾ e esquelético ⁽⁶⁾, do fígado ⁽⁷⁾, do cérebro ⁽⁸⁾ e do parênquima renal ⁽⁹⁾, contudo, é principalmente produzida por osteoblastos, fibroblastos e células endoteliais da medula óssea ⁽¹⁰⁾. O sequenciamento de nucleotídeos do gene que codifica a quimiocina CXCL12 (depositada no *GenBank* sob código L36033) revelou na população a existência de um polimorfismo no segmento evolucionário conservado da região 3' não traduzida (3'UTR), (posição 801 G \rightarrow A) do gene estrutural transcrito. Este

polimorfismo, designado atualmente como CXCL12 rs1801157, apresenta um alelo variante que pode ter funções regulatórias importantes, resultantes do aumento na concentração da proteína CXCL12⁽¹¹⁾. Vários estudos têm avaliado a frequência do alelo A em diferentes populações e diferentes condições patológicas, com o objetivo de avaliar possíveis implicações deste polimorfismo na susceptibilidade a doenças^(12;13) e também suas possíveis implicações na patogênese tumoral⁽¹⁴⁻¹⁶⁾.

O receptor de quimiocina CXCR4 pertence à família de receptores acoplados a proteína G, participa do controle de inúmeros processos biológicos dentre os quais o tráfego de células do sistema imunológico, como linfócitos T, durante o tráfego celular e homeostase⁽¹⁷⁾. O CXCR4 se liga especificamente à quimiocina CXCL12. Expresso em linfócitos T, monócitos e neutrófilos, medeia a quimiotaxia destas células frente ao CXCL12. A interação CXCR4/CXCL12 participa da modulação da resposta imune, induzindo a apoptose de células T CD8+ mediada por macrófagos⁽¹⁸⁾ e também do desenvolvimento embrionário⁽¹⁹⁾. O eixo CXCL12/CXCR4 é essencial para a migração de células progenitoras durante o desenvolvimento embrionário cardiovascular, hematopoiético e sistema nervoso central⁽²⁰⁾. Também foi demonstrado que esta interação desempenha um importante papel no crescimento e na invasão tumoral⁽²¹⁾.

Os receptores para quimiocinas servem como co-receptores para importantes patógenos, como o HIV. Esses receptores acabam por determinar o tropismo viral por facilitarem a entrada às células⁽²²⁾. O CXCR4 também atua como co-receptor juntamente com CD4 para cepas de HIV-1 T-trópicos. Desta forma o CXCL12 poderia bloquear a entrada do vírus HIV-1 ligando-se ao CXCR4⁽²³⁾.

Descobertos há aproximadamente 20 anos, os antagonistas de CXCR4, foram inicialmente desenvolvidos para o tratamento da infecção pelo HIV-1⁽²⁰⁾. Como o polimorfismo CXCL12 rs1801157, pode ter funções regulatórias importantes, resultantes do aumento na concentração da proteína CXCL12⁽¹¹⁾, a presença do alelo variante na população poderia diminuir a susceptibilidade à infecção pelo vírus HIV. Entretanto, como a mutação é pouco freqüente na população asiática, o presente estudo irá avaliar a incidência do polimorfismo em Brasileiros com ascendência asiática, da região noroeste do Paraná, a fim de avaliarmos a possível influência do mesmo sobre possíveis implicações deste na susceptibilidade a doenças.

MATERIAIS E MÉTODOS

População estudada

A população estudada consiste em 52 indivíduos descendentes asiáticos, maiores de idade e de ambos os sexos, que se dispuseram a ajudar com a pesquisa após tomarem conhecimento da mesma, por meio de adesão voluntária firmada pela assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE).

Este trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) n°058/2011 o qual está de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Humana adotada pela Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP) pela Resolução MS/CNS n°196/96 do Ministério da Saúde (MS).

Após assinatura do TCLE um questionário simples foi aplicado aos pesquisados e procedeu-se a coleta de 3 mL de sangue periférico, a qual foi realizada no Laboratório de Análises Clínicas.

Extração de DNA

As análises moleculares foram realizadas no laboratório de Biologia Molecular do Centro Universitário de Maringá - CESUMAR. A extração do DNA foi realizada a partir do sangue periférico. A técnica utilizada consiste basicamente no rompimento enzimático de membranas celulares, eliminação de proteínas e ácidos graxos por ação de solventes orgânicos e precipitação do DNA com etanol de acordo com a técnica de *salting out* descrita por Miller et al. (1988)⁽³²⁾ e Kirby⁽²⁴⁾ com algumas modificações.

Reação em cadeia da polimerase (PCR)

A reação em cadeia da polimerase (PCR) foi realizada utilizando primers específicos obtidos de acordo com a sequência registrada no genBank sob nº L36033, primer sense 5' CAG TCA ACC TGG GCA AAG CC 3' primer anti-sense 5' CCT GAG AGT CCT TTT GCG GG 3'.

As etapas de amplificação consistiram em uma etapa inicial de desnaturação de cinco minutos à 94°C, seguida de 35 ciclos de 94°C por 1 minuto, 60°C por 1 minuto e 72°C por 1 minuto, com extensão final de 10 minutos a 72°C.

Digestão enzimática e análise do polimorfismo

O produto do PCR foi então submetido ao tratamento enzimático em presença de enzima de restrição *MspI* (Promega, Brasil) durante 3 horas a 37°C de acordo com as instruções do fabricante.

O produto da clivagem enzimática foi avaliado posteriormente através de eletroforese em gel de poliacrilamida 10%, corado com nitrato de prata, para a análise do polimorfismo, compreendendo um produto de 100 e 193 pares de bases no caso de um alelo CXCL12-G e um produto com 293 pares de bases no caso de um alelo CXCL12-A, caracterizando-se dessa forma os três possíveis genótipos: GG, GA, AA.

Análise estatística

As análises estatísticas foram realizadas utilizando-se o programa SPSS Statistics 17.0. Para a análise de correlação foram utilizados os testes de Pearson e Spearman Rho. Para todos os dados o nível de significância adotado foi de $p < 0,05$.

RESULTADOS

Foram avaliados 52 indivíduos brasileiros, saudáveis, descendentes de asiáticos com idades entre 18-79 anos, com idade média de $36,50 \pm 16,8$ anos (média \pm desvio padrão), de ambos os sexos.

A distribuição genotípica foi avaliada pela técnica de PCR-RFLP seguida de eletroforese em gel de poliacrilamida 10%, onde pode ser observados fragmentos eletroforéticos de 293 pb para o produto do PCR, dois fragmentos, um de 100pb e outro de 193pb para o genótipo GG, o genótipo GA apresenta três fragmentos um de 293pb, um de 193pb e outro de 100pb, já o genótipo AA apresenta um único fragmento de 293pb (Figura 1).

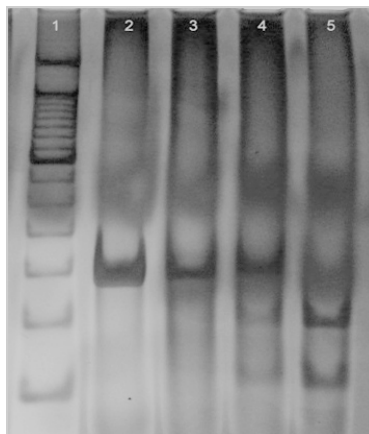


FIGURA 1. Perfil Eletroforético dos fragmentos do gene CXCL12 analisados. (1) ladder, (2) produto do PCR, (3) amostra homocigota para a mutação CXCL12 rs1801157, (4) amostra heterocigota e (5) amostra selvagem. Gel de Poliacrilamida 10% corado com nitrato de prata.

A distribuição genotípica para o gene CXCL12 encontra-se dentro do Equilíbrio de Hardy Weinberg ($p > 0,05$). Com uma frequência genotípica de 53,8% de indivíduos GG, 36,5% GA e 9,6% AA (Gráfico 1).

A grande maioria dos indivíduos avaliados não apresentavam hábitos tabagistas 88,5% (46/52), e a maioria é descendente de japoneses da 3ª geração correspondendo a 55,8% (29/52) da população analisada (Tabela 1). Os dados demográficos detalhados estão apresentados na tabela 1 de acordo com o genótipo dos indivíduos avaliados.

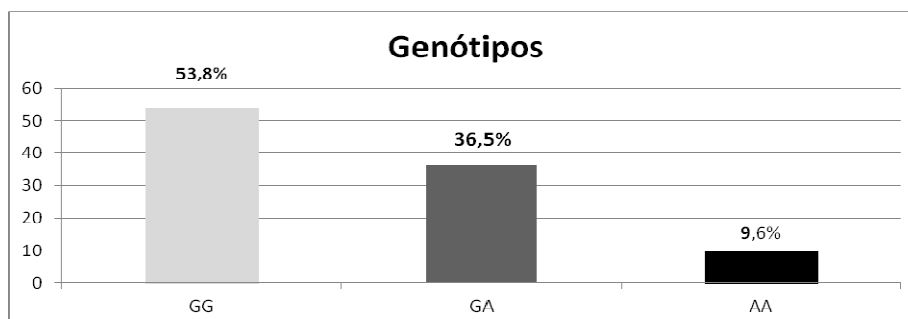


Gráfico 1. Distribuição genotípica do CXCL12 rs1801157 entre indivíduos descendentes de asiáticos. Frequência dos alelos G= 0,72 e A= 0,28.

Tabela 1. Características demográficas da população.

		Genótipos						Valor de p
		GG		GA		AA		
		N	(%)	N	(%)	N	(%)	
SEXO	F	14	26,9	8	15,4	2	3,8	0,832
	M	14	26,9	11	21,2	3	5,8	
GERAÇÃO	1	3	5,8	4	7,7	0	0	0,696
	2	7	13,5	4	7,7	2	3,8	
	3	17	32,7	9	17,3	3	5,8	
	4	1	1,9	2	3,8	0	0	
TABACO	N	23	44,2	18	39,1	5	10,9	0,289
	S	5	9,6	1	16,7	0	0	

A distribuição genotípica foi avaliada em relação ao gênero dos indivíduos, e não houve correlação entre genótipo e gênero pelo teste de correlação de Pearson ($p=0,570$) nem pelo teste de Spearman Rho ($p=0,556$).

Quando a distribuição genotípica foi avaliada em relação às diferentes gerações dos descendentes asiáticos também não houve correlação significativa quando avaliados pelos testes de correlação de Pearson ($p=0,874$) ou pelo teste de correlação de Spearman Rho ($p=0,809$).

DISCUSSÃO

Quimiocinas são conhecidas como citocinas que regulam a migração e diferenciação de linfócitos em locais inflamatórios. Nos últimos anos o seu papel na patogênese de várias doenças tem sido reconhecida. A CXCL12 é uma poderosa citocina quimioatraente que regula a maturação, tráfego e homing dos linfócitos T e B imunogênicos⁽²⁵⁾.

Da interação de fatores virais com o hospedeiro acredita-se que a ligação CXCL12/CXCR4 determina não apenas o risco para a aquisição do vírus da imunodeficiência humana tipo 1 (HIV-1), mas também a infecção pode ser decorrente de fatores genéticos do hospedeiro, o que afeta sua susceptibilidade a infecção pelo vírus, o que pode ser determinado pelo fato de que certos receptores de quimiocinas, principalmente CCR5, CCR2 e CXCR4, funcionam como co-receptores do vírus juntamente com a molécula de CD4. Desta forma estes receptores funcionam tanto como um portal de entrada para a infecção por HIV-1, como seus ligantes podem modular a eficiência da infecção^(29, 30).

Polimorfismos em genes que codificam as quimiocinas ou seus receptores são capazes de modular a susceptibilidade ao vírus da imunodeficiência humana (HIV) e a progressão da doença⁽²⁶⁾.

Grimaldi et al. (2009)⁽³¹⁾ avaliaram a frequência do polimorfismo CXCL12 rs1801157 em indivíduos infectados e não-infectados pelo HIV-1 em três diferentes grupos étnicos brasileiros, onde não observou diferenças estatisticamente significantes quando a frequência dos alelos foi comparada entre os grupos ($p > 0,005$). E o conjunto dos dados avaliados por Grimaldi et al. (2009)⁽³¹⁾ relataram uma progressão mais lenta para AIDS, e nenhuma correlação com susceptibilidade diminuída para a infecção por HIV-1, embora os fatores genéticos têm se tornado uma matéria importante em HIV/AIDS para a pesquisa, sendo que até agora não são raros os relatos sobre a frequência deste polimorfismo entre infectados e não-infectados por HIV no Brasil.

Em estudo realizado por Ide et al.⁽²⁵⁾ com 184 amostras de japoneses portadores de Diabetes Mellitus tipo 1, comparado com 106 amostras controle de indivíduos saudáveis, apresentou a frequência do polimorfismo CXCL12 rs1801157 de GG 53% (56/106), GA 43% (45/106) e AA 5% (13/184) em indivíduos saudáveis demonstrando que a incidência do polimorfismo CXCL12 rs1801157 na população japonesa do referido estudo, é similar a frequência encontrada no presente trabalho, onde foi encontrada em descendentes asiáticos brasileiros uma frequência genotípica de GG 53,8% (28/52), GA 36,5% (19/52) e AA 9,6% (5/52).

Vieira et al.⁽²⁶⁾ avaliaram a frequência em uma população brasileira observando e GG 60,2% (139/231) GA 38,1% (88/231) e AA 1,7% (4/231) e Estudando a influência do polimorfismo CXCL12 rs1801157 em pacientes infectados e não-infectados pelo HIV, Tan et al.⁽²⁷⁾ observaram uma incidência de GG 15,9% (40/251), GA 51,8% (130/251) e AA 32,3% (81/251) entre indivíduos infectados e GG 17,6% (42/238), GA 51,7% (123/238) e AA 30,7% (73/238) entre os não infectados, demonstrando que não houve diferença entre os grupos.

Em estudo realizado em Londrina – Paraná, por Reiche et al.⁽²⁸⁾, a frequência do polimorfismo CXCL12 rs1801157 foi avaliada em quatro diferentes grupos, sendo estes de indivíduos saudáveis, indivíduos expostos ao HIV, indivíduos portadores assintomáticos do HIV e indivíduos portadores sintomáticos do HIV, não encontrando também diferença estatisticamente significativas entre os grupos. Contudo Reiche et al.⁽²⁸⁾ observou que a presença do alelo variante CXCL12-3'A pode ter um efeito protetor tardio na progressão da AIDS na população brasileira.

CONCLUSÃO

Conclui-se então que o polimorfismo CXCL12 rs1801157 é encontrado, mesmo que raramente, em descendentes asiáticos e vários outros grupos de populações. Assim, não havendo uma diferença de frequência encontrada entre estes, mesmo quando relacionadas com o HIV-1 ou outras doenças.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Lindley IJD, Westwick J, Kunkel SL. Nomenclature announcement – the chemokines. *Immunol Today*, 14: 24, 1993.
2. Baggiolini M. Chemokines in pathology and medicine. *Journal of Internal Medicine*, 250:91-104, 2001.

3. Zlotnik A. Involvement of chemokines receptor in organ-specific metastasis. *Contrib. Microbiol.*, 13:191-99, 2006.
4. Nagasawa T, Hirota S, Tachibana K, Takakura N, Nishikawa S, Kitamura Y, Yoshida N, Kikutani H, Kishimoto T. Defects of B-cell lymphopoiesis and bone-marrow myelopoiesis in mice lacking the CXC chemokine PBSF/SDF-1. *Nature*, 382:635–38, 1996.
5. Askari AT, Unzek S, Popovic ZB, Goldman CK, Forudi F, Kiedrowski M, Rovner A, Ellis SG, Thomas JD, DiCorleto PE, Topol EJ, Penn MS. Effect of stromal-cell-derived factor 1 on stem-cell homing and tissue regeneration in ischaemic cardiomyopathy. *Lancet*, 362:697–703, 2003.
6. Ratajczak MZ, Majka M, Kucia M, Drukala J, Pietrzowski Z, Peiper S, Janowska-Wieczorek A. Expression of functional CXCR4 by muscle satellite cells and secretion of SDF-1 by muscle-derived fibroblasts is associated with the presence of both muscle progenitors in bone marrow and hematopoietic stem/progenitor cells in muscles. *Stem Cells*, 21:363–71, 2003.
7. Kollet O, Shvitiel S, Chen YQ, Suriawinata J, Thung SN, Dabeva MD, Kahn J, Spiegel A, Dar A, Samira S, Goichberg P, Kalinkovich A, Arenzana-Seisdedos F, Nagler A, Hardan I, Revel M, Shafritz DA, Lapidot T. HGF, SDF-1, and MMP-9 are involved in stress-induced human CD34+ stem cell recruitment to the liver. *J. Clin. Investig.* 112:160–69, 2003.
8. Tachibana K, Hirota S, Iizasa H, Yoshida H, Kawabata K, Kataoka Y, Kitamura Y, Matsushima K, Yoshida N, Nishikawa S, Kishimoto T, Nagasawa T. The chemokine receptor CXCR4 is essential for vascularization of the gastrointestinal tract. *Nature*, 393:591–94, 1998.
9. Schrader AJ, Lechner O, Templin M, Dittmar KE, Machtens S, Mengel M, Probst-Kepper M, Franzke A, Wollensak T, Gatzlaff P, Atzpodien J, Buer J, Lauber J. CXCR4/CXCL12 expression and signaling in kidney cancer. *Br. J. Cancer*, 86:1250–56, 2002.
10. Yun HJ, Jo DY: Production of stromal cell-derived factor-1 (SDF-1) and expression of CXCR4 in human bone marrow endothelial cells. *J. Korean Med. Sci.*, 18:679-85, 2003.
11. Winkler C, Modi W, Smith MW, Nelson GW, Wu X, Carrington M, Dean M, Honjo T, Tashiro K, Yabe D, Buchbinder S, Vittinghoff E, Goedert JJ, O'Brien TR, Jacobson LP, Detels R, Donfield S, Willoughby A, Gomperts E, Vlahov D, Phair J, O'Brien SJ. 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*, 279:389-93, 1998.
12. Benboubker L, Watier H, Carion A, Georget MT, Desbosis I, Colombat P, Bardos P, Binet C, Domenech J. Association between the SDF1-3'A allele and high levels of CD34+ progenitor cells mobilized into peripheral blood in humans. *Br. J. Haematol.*, 113:247-50, 2001.
13. Schroppe B, Fischereder M, Ashkar R, Lin M, Kramer BK, Mardera B, Schiano T, Murphy B. The impact of polymorphisms in chemokine and chemokine receptors on outcomes in liver transplantation. *Ame. J. Transplant.*, 2:640-45, 2002.
14. Oliveira KB, Oda JMM, Nasser TF, Fujita TC, Matsuo T, Ono MA, Voltarelli JC, Watanabe MAE. CXCL12 rs1801157 Polymorphism in Patients with Breast Cancer, Hodgkin's lymphoma and non-Hodgkin's lymphoma. *J Clin Lab Anal.*, 23:387-93, 2009.
15. Oliveira CEC, Cavassin GGO, Perim AL, Nasser TF, Oliveira KB, Fungaro MHP, Carneiro JLV, Watanabe MAE. Stromal cell-derived factor-1 chemokine gene variant in blood donors and chronic myelogenous leukemia patients. *J Clin Lab Anal.*, 21:49-54, 2007.
16. Cavassin GGO, De Lucca FL, Delgado André N, Covas DT, Pelegrinelli Fungaro MH, Voltarelli JC, Ehara Watanabe MA. Molecular investigation of the stromal cell-derived factor-1 chemokine in lymphoid leukemia and lymphoma patients from Brazil. *Blood Cells Mol. Dis.* 33:90-93, 2004.
17. Furusato B, Mohamed A, Uhlén M, Rhim JS. CXCR4 and cancer. *Pathol Int.* 60(7):497-505, 2010.

18. Lee BC, Lee TH, Avraham S, Avraham HK. Involvement of the Chemokine Receptor CXCR4 and Its Ligand Stromal Cell-Derived Factor 1A in Breast Cancer Cell Migration Through Human Brain Microvascular Endothelial Cells. *Mol Cancer Res*, 2(6):327-38, 2004.
19. Koizumi K, Hojo S, Akashi T, Yasumoto K, Saiki I. Chemokine receptors in cancer metastasis and cancer cell-derived chemokines in host immune response. *Cancer Sci*. 98(11):1652-58, 2007.
20. Patrussi L, Baldari CT. The CXCL12/CXCR4 Axis as a Therapeutic Target in Cancer and HIV-1 Infection. *Current Medicinal Chemistry*, 18(4): 497-512, 2011.
21. Muller A, Homey B, Soto H, Ge N, Catron D, Buchanan ME, McClanahan T, Murphy E, Yuan W, Wagner SN, Barrera JL, Mohar A, Verástegui E, Zlotnik A. Involvement of chemokine receptors in breast cancer metastasis. *Nature*, 410:50-56, 2001.
22. Feng Y, Broder CC, Kennedy PE, Berger EA. HIV-1 entry cofactor: functional cDNA cloning of a seven-transmembrane, G protein coupled receptor. *Science* 272:872-877, 1996.
23. Modi WS, Scott K, Goedert JJ, Vlahov D, Buchbinder S, Detels R, Donfield S, O'Brien SJ, Winkler C. Haplotype analysis of the SDF-1 (CXCL12) gene in a longitudinal HIV-1/AIDS cohort study. *Genes Immun*. 6(8):691-8, 2005.
24. Kirby LT. DNA fingerprinting: an introduction. *New York: Stocton Press*. 1990
25. Ide A, Kawasaki E, Abiru N, Sun F, Fukushima T, Takahashi R, Kuwahara H, Fujita N, Kita A, Oshima K, Uotani S, Yamasaki H, Yamaguchi Y, Kawabata Y, Fujisawa T, Ikegami H, Eguchi K. Stromal-cell derived factor-1 chemokine gene variant is associated with type 1 diabetes age at onset in Japanese population. *Hum Immunol.*, 64(10):973-8, 2003.
26. Vieira VC, Barral MF, Mendoza-Sassi RA, Silveira JM, Soares MA, de Martínez AM. The effect of combined polymorphisms in chemokines and chemokine receptors on the clinical course of HIV-1 infection in a Brazilian population. *Mem Inst Oswaldo Cruz*, 106(4): 408-15, 2011.
27. Tan XH, Zhang JY, Di CH, Hu AR, Yang L, Qu S, Zhao RL, Yang PR, Guo SX.. Distribution of CCR5-D32, CCR5m303A, CCR2-64I and SDF1-30A in HIV-1 infected and uninfected high-risk Uighurs in Xinjiang, China. *Infect Genet Evol.*, 10(2):268-72, 2010.
28. Reiche EM, Ehara Watanabe MA, Bonametti AM, Kaminami Morimoto H, Akira Morimoto A, Wiechmann SL, Breganó JW, Matsuo T, Vissoci Reiche F, Miranda HC, Brajão Oliveira K, Vogler IH, Siscar AR. The effect of stromal cell-derived factor 1 (SDF1/CXCL12) genetic polymorphism on HIV-1 disease progression. *Int J Mol Med*. 18(4):785-93, 2006.
29. Cohen OJ, Kinter A, Fauci AS. Host factors in the pathogenesis of HIV disease. *Immunol Rev*. 159:31-48. 1997.
30. Hogan CM, Hammer SM. Host determinants in HIV infection and disease. Part 2: genetic factors and implications for antiretroviral therapeutics. *Ann Intern Med*, 134(10):978-96, 2001.
31. Grimaldi R, Costa AXA, Machado TMB, Bomfim TF, Galvão-Castro B. Distribution of SDF1-3'A polymorphisms in three different ethnic groups from Brazil. *Braz J Infect Dis* , 14(2): 197-200, 2010.
32. Miller SA, Dykes DD, Polesky HF. A simple salting out procedure for extraction DNA from human nucleated cells. *Nucl. Acid Res.*, 16:1215, 1988.