



## HIV CORECEPTOR TROPISM AMONG PATIENTS WITH NEWLY DIAGNOSED INFECTION

### *ISPITIVANJE KORECEPTORSKOG TROPIZMA VIRUSA KOD PACIJENATA SA NOVODIJAGNOSTIKOVANOM INFEKCIJOM VIRUSOM HUMANE IMUNODEFICIJENCIJE*

Sretko Luković<sup>1</sup>, Sanja Manojlov<sup>1</sup>, Maja Stanojević<sup>2</sup>

<sup>1</sup> University of Belgrade, Faculty of Medicine, Serbia

<sup>2</sup> Mentor: University of Belgrade, Faculty of Medicine, Institute of Microbiology and Immunology, Serbia

**Correspondence:** sretko\_93@live.de

#### ABSTRACT

**Introduction:** Coreceptor tropism is the ability of human immunodeficiency virus (HIV) to use CCR5 or CXCR4 coreceptor to enter the host cell. Tropism depends on the structure of the surface glycoprotein, involved in binding molecules to receptor and coreceptor. Viruses that CCR5 use are named R5, viruses that CXCR4 use are X4-tropic, and dual/mixed (DM) viruses use either of the two. During early stages of HIV infection, R5 strains are usually present and with the progression of HIV disease, frequency of X4 occurs.

**Aim:** The aim of the study was to analyze the coreceptor tropism in newly diagnosed HIV infected patients.

**Material and methods:** The study group included 26 patients with newly diagnosed HIV infection, in the hospital care from 2010 to 2012 at the Clinic for Infectious and Tropical diseases of the Clinical Center of Serbia. Upon RNA isolation from plasma, PCR amplification and DNA sequencing of the V3 loop of the env gene were performed. The sequences were used for prediction of the coreceptor tropism, using the Geno2pheno bioinformatics algorithms.

**Results:** R5 and X4 tropism were detected in 21/26 (81%) and 5/26 (19%) patients, respectively. Five out of twenty-six patients (19.2%) were in the C3 clinical stadium of the disease, and all of them were infected with R5-tropic virus. Fourteen out of twenty-five patients (56%) were late presenters of HIV infection, where 12 (86%) of them were infected with R5-tropic virus.

**Conclusion:** Our results imply that the majority of HIV strains in patients, with newly diagnosed infection in Serbia, are characterized by R5 tropism. However, the prevalence of X4 strains is not negligible, indicating late presentation of newly diagnosed patients, but also possibly implying increased virulence of the circulating strains. Considering that CCR5 antagonists would not be effective in 19% of studied patients, the prediction of coreceptor tropism is undoubtedly very important.

#### Keywords:

HIV, R5-tropic viruses,  
X4-tropic viruses,  
coreceptor tropism,  
geno2pheno bioinformatics  
algorithm

## SAŽETAK

**Uvod:** Sposobnost HIV-a da koristi hemokinski C-C receptor 5 (CCR5) ili C-X-C hemokinski receptor 4 (CXCR4) ili oba koreceptora za ulazak u ćeliju naziva se koreceptorski tropizam. Tropizam virusa zavisi od strukture površnog virusnog glikoproteina koji služi za pripajanje virusa za receptor i koreceptor. Virus koji koristi CCR5 koreceptor označeni su kao R5 sojevi, a virusi koji koriste CXCR4 koreceptor kao X4 sojevi, dok su oni koji koriste oba koreceptora označeni kao X4R5 sojevi (dvojni/mešani tropizam). Na početku HIV infekcije, neposredno po transmisiji virusa, kod većine inficiranih osoba preovlađuju R5 forme. U daljem toku infekcije, sa napredovanjem HIV bolesti, kod nekih pacijenata se pojavljuju X4 forme.

**Cilj:** Cilj ovog rada je bio da se ispita koreceptorski tropizam kod pacijenata sa novodijagnostikovanom infekcijom virusom humane imunodeficijencije (HIV).

**Materijal i metode:** U ispitivanje je uključeno 26 pacijenata praćenih na Klinici za infektivne i tropske bolesti Kliničkog centra Srbije (KCS), u periodu od 2010. do 2012. godine. Nizom postupaka izolacije, prečišćavanja i umnožavanja (polimerazna lančana reakcija, PCR) dobijeni su PCR proizvodi dela env gena, koji su zatim obrađeni DNK sekvenciranjem. Dobijene sekvence analizirane su Geno2pheno bioinformatičkim algoritmom za određivanje koreceptorskog tropizma.

**Rezultati:** Prisustvo R5 soja je ustanovljeno kod 21/26 (81%), a X4 kod 5/26 (19%) ispitanika. U C3 stadijumu infekcije je bilo 5/26 (19,2%) pacijenata i svi su bili zaraženi sojem sa tropizmom za CCR5 koreceptor. Četrnaest pacijenata (56%) spada u grupu kasnih prezentera HIV infekcije, od kojih je 12 (86%) inficirano R5 sojem.

**Zaključak:** Dobijeni rezultati ukazuju da kod pacijenata sa novodijagnostikovanom HIV infekcijom u Srbiji preovlađuju R5 sojevi virusa, mada zastupljenost X4 varijanti nije zanemarljiva. Prisustvo X4 sojeva može da bude odraz postavljanja dijagnoze u odmakloj fazi bolesti, ali i promene u smislu povećanja virulencije virusa u cirkulaciji. Uočena učestalost X4 sojeva virusa među pacijentima sa novodijagnostikovanom HIV infekcijom takođe pokazuje da CCR5 inhibitori ne bi delovali u 19% ispitivanih pacijenata, što ukazuje na značaj određivanja koreceptorskog tropizma.

### Ključne reči:

HIV,  
R5 sojevi,  
X4 sojevi,  
koreceptorski tropizam,  
Geno2pheno bioinformatički  
algoritam

## UVOD

Ulazak virusa humane imunodeficijencije (HIV) u ciljnu ćeliju proces je koji se sastoji iz nekoliko koraka (1). Virus humane imunodeficijencije se prvo veže za glavni ćelijski receptor CD4, nakon čega dolazi do konformacione promene u virusnom antireceptoru, glikoproteinu (gp) 120, koji se dalje pripaja za jedan od dva glavna koreceptorska molekula: hemokinski C-C receptor 5 (CCR5) ili za C-X-C hemokinski receptor 4 (CXCR4) (2). Poslednji korak pri ulasku virusa u ciljnu ćeliju predstavlja fuzija omotača virusa sa membranom ove ćelije, gde bitnu ulogu ima virusni gp41 (3). Sposobnost virusa da koristi CCR5 ili CXCR4 ili oba koreceptora za ulazak u ćeliju naziva se koreceptorski tropizam (2). Virus koji koristi CCR5 koreceptor su označeni kao R5, a virusi koji koriste CXCR4 koreceptor kao X4, dok su oni koji koriste oba koreceptora označeni kao R5X4 (dvojni/mešani tropizam, DM) (4).

Env gen za proteine virusnog omotača jedan je od tri glavna strukturalna gena HIV-a. Proizvod env gena je gp160, koji proteolitičkom razgradnjom daje gp120 i gp41 (5). Deo env gena za gp120 ima konstantne i varijabilne regione, označene kao C1-C5 i V1-V5 (6). Glikoprotein 120 je organizovan u vidu domena, odnosno petlji. Regioni gena V1-V5 nose informacije o strukturi petlji (V1-V5) na površini gp (6). U V3 petlji se nalaze najznačajniji epitopi za neutrališuća antitela i citotoksične T-limfocite.

Aminokiselinski redosled na poziciji 11 i 24 V3 petlje povezan je sa izborom koreceptora. Dokazano je da X4 sojevi na ovim pozicijama imaju pozitivno naelektrisane aminokiseline, što im omogućava uspostavljanje vodoničnih veza i sonih mostova sa odgovarajućim proteinskim delom CXCR4 koreceptora. Kod R5 formi ove pozicije zauzimaju aminokiseline, koje nisu pozitivno naelektrisane, te nastaje stabilna elektrostatička veza sa CCR5 koreceptorom (6).

Razlike u biološkom ponašanju HIV-a u zavisnosti od koreceptorskog tropizma prvo su uočene u MT-2 kulturi ćelija devedesetih godina 20. veka. Tada su forme virusa koje su izazivale pojavu sincicijuma u kulturi ćelija povezivane sa bržom progresijom infekcije (7). Kasnije je utvrđeno da su X4 sojevi izazivali stvaranje sincicijuma, dok R5 forme nisu stvarale sincicijum u kulturi ćelija (8). R5 forme virusa su uglavnom prisutne kod nelečenih pacijenata i u akutnoj fazi infekcije, dok se X4 sojevi javljaju češće u poodmakloj fazi infekcije (9). Prisustvo X4 soja kod nelečenih, novodijagnostikovanih pacijenata, koji su u ranoj fazi infekcije, povezano je sa bržim gubitkom CD4+ T-limfocita, a može da ukaže i na kasno postavljanje dijagnoze (10).

Inhibitori koreceptora čine jednu od novijih klasa antiretrovirusnih lekova, koja za sada sadrži samo jedan klinički odobren lek, CCR5 inhibitor Maraviroc®. Savremena primena antiretrovirusne terapije ima povoljno dejstvo u tok bolesti jer povećava broj CD4+ T-limfocita i

smanjuje količinu virusne RNK u plazmi (engl. viral load) (2). Antagonisti CCR5, međutim, deluju samo na R5 virusne sojeve (3). Imajući u vidu mogućnost prisustva X4 formi kod novodijagnostikovanih pacijenata, ispitivanje virusnog koreceptorskog tropizma predstavlja neophodan korak u slučaju primene inhibitora koreceptora u terapijskom režimu (9).

Cilj ovog rada je bio da ispita koreceptorski tropizam kod novodijagnostikovanih pacijenata i uporedi dobijene rezultate sa brojem CD4+ T-limfocita, stadijumom bolesti, kao i sa osnovnim demografskim i epidemiološkim podacima o pacijentima.

## MATERIJAL I METODE

Ispitivanje je uključivalo 26 pacijenata koji su dali saglasnost za učešće i kojima je u periodu od 2010. do 2012. godine na odeljenju za HIV i sindrom stečene imunodeficiencije (engl. *acquired immune deficiency syndrome, AIDS*) Klinike za infektivne i tropske bolesti Kliničkog centra Srbije postavljena dijagnoza HIV infekcije. Niko od pacijenata prethodno nije koristio antiretrovirusnu terapiju (ART). Podaci o polu, starosti, mogućem načinu transmisije, broju CD4+ T-limfocita i stadijumu bolesti, kao i laboratorijski nalazi o drugim aktuelnim infektivnim bolestima, preuzeti su iz medicinske dokumentacije.

Određivanje nukleotidne sekvence env gena koja kodira V3 petlju gp120 obavljena je na Institutu za mikrobiologiju i imunologiju Medicinskog fakulteta u Beogradu, uz primenu odgovarajućih laboratorijskih postupaka prema preporuci proizvođača i uz dobru laboratorijsku praksu. Izolacija RNK molekula virusa iz plazme pacijenata rađena je primenom komercijalnog kita QIAamp Viral RNA (*Qiagen GmbH*, Hilden, Nemačka). Polimerazna lančana reakcija (PCR) sa reverznom transkripcijom rađen je primenom kita One-step RT-PCR (*Qiagen GmbH*, Hilden, Nemačka). Korišćeni su prajmeri za umnožavanje V3 petlje SQV3F1: GAG CCA ATT CCC ATA CAT TAT TGT i CO602: GCC CAT AGT GCT TCC TGC TGC TCC CAA GAA CC, prema protokolu: 50 °C 40 min, zatim 40 ciklusa [95 °C 15 min, 95 °C 30 s, 53 °C 45 s, 72 °C 2 min] i čuvanje na 4 °C do sledećeg koraka. Dobijeni proizvodi iz prvog kruga umnožavanja korišćeni su za drugi krug PCR umnožavanja (nested/inner PCR reakcija) primenom DreamTaq Green PCR Master Mixa (*Thermo Fisher Scientific*, Waltham, MA, SAD), komercijalnim prajmerima SQV3F2: TGT CC CCA GCT GGT TTT GCG AT, CD4R: TAT AAT TCA CTT CTC CAA TTG TCC, prema protokolu: 95 °C na 3 min, 15 ciklusa [95 °C 30 s, 53 °C 45 s, 72 °C 1,30 s] i 25 ciklusa [95 °C 30 s, 53 °C 45 s, 72 °C 1,35 s] i čuvanjem na 4 °C do narednog koraka. Očitavanje PCR proizvoda vršeno je metodom elektroforeze u 2% agaroznom gelu, u kojem je za vizuelizaciju korišćen etidijum-bromid.

Pozitivni PCR proizvodi su prečišćeni i spremljeni za fazu Sangerovog cikličnog sekvenciranja. Za Sangerovu reakciju su korišćeni ABI PRISM® BigDye reagensi (*Applied Biosystems, Foster, CA, SAD*) i komercijalni praj-

meri za DNK sekvenciranje (V3O2F: AAT GTC AGY ACA GTA CAA TGT ACA C i SQV3R1: GAA AAA TTC CCT TCC ACA ATT AAA), po uputstvu proizvođača. Za reakciju cikličnog sekvenciranja primenjen je sledeći PCR protokol: 96 °C 2 min, zatim 40 ciklusa [96 °C 10 s, 53 °C 7 s, 60 °C 4 min], sa držanjem na 4 °C. Dobijeni proizvodi su prečišćeni 75% izopropanolom i pripremljeni za očitavanje dodavanjem 20 µl formamida svakom uzorku i denaturacijom na 95 °C. Sekvence DNK očitane su primenom ABI 310xl DNA Analyzer (*Applied Biosystems, Foster, CA, SAD*).

Dobijene DNK sekvence analizirane su korišćenjem bioinformatičkog algoritma za predviđanje HIV koreceptorskog tropizma, dostupnog na sajtu <http://www.geno2pheno.org/>. U skladu sa evropskim preporukama, odabrali smo 10% kao nivo značajnosti za stopu lažno pozitivnih (engl. *false positive rate, FPR*) (11). Isti bioinformatički algoritam je korišćen za predviđanje podtipa virusa.

Za statističku obradu podataka upotrebljeni su Fišerov test tačne verovatnoće za kategoričke podatke i Man-Vitni (*Mann-Whitney*) U test za numeričke podatke u EZR softveru.

## REZULTATI

Osnovni klinički i demografski podaci u vezi sa ispitivanim pacijentima prikazani su u **tabeli 1**.

Primenom bioinformatičkog algoritma *geno2pheno* određen je koreceptorski tropizam HIV i ustanovljeno je da je kod 21/26 pacijenata (81%) reč o R5, a u preostalih 5/26 (19%) o X4 soju virusa. Nijedan izolat nije označen kao X4R5. Većina ispitivanih izolata 25/26 (96%) pripada podtipu B, dok je jedan (1/26, 4%) obeležen kao A ili AG podtip.

Pretpostavljeni način transmisije je u većini slučajeva bio seksualni kontakt (homoseksualni kontakt u 76%, heteroseksualni kontakt u 20% slučajeva) dok je kod 4% ispitanika najverovatniji način transmisije bilo intravenosko korišćenje droge (engl. *intravenous drug user, IVDU*). U odnosu na tropizam, procenat muškaraca koji imaju seksualne odnose sa muškarcima (engl. *men who have sex with men, MSM*) među R5 i X4 inficiranim iznosio je 76,2% i 80%. Sa aspekta pretpostavljenog načina transmisije, razlika u distribuciji frekvencija ispitivanih tropizama nije označena kao statistički značajna ( $p > 0,05$ ).

Kod četiri pacijenta je postavljanjem dijagnoze HIV infekcije ustanovljena još neka polno prenosiva bolest. Kod pacijenta inficiranog X4 formom virusa bili su prisutni kondilomi, a kod preostala tri pacijenta koji su bili inficirani R5 sojem postavljena je dijagnoza sifilisa. Kod osam pacijenata je utvrđeno prisustvo anti-HBc antitela, dva pacijenta su bila pozitivna na HBs antigen, a kod jednog je ustanovljeno postojanje anti-HCV antitela. Po jedan pacijent iz obe grupe ispitivanih tropizama ima infekciju virusom hepatitisa B. Nije uočena statistička značajnost kada je reč o detekciji anti-HCV antitela, HBs antigena i anti-HBc antitela, kao i distribuciji drugih sek-

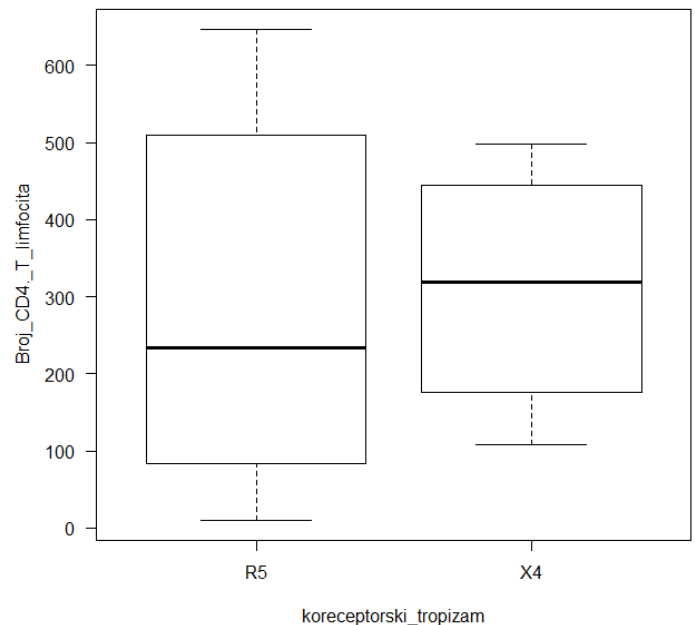
sualno prenosivih bolesti u odnosu na tropizam ( $p > 0,05$ ).

Medijana broja CD4+ T-limfocita među pacijentima zaraženim X4 formama veća je nego kod pacijenata zaraženih R5 sojevima (**dijagram 1**). Korišćenjem Man-Vitni U testa utvrđeno je da razlika u centralnim vrednostima CD4+ T-limfocita među pacijentima sa različitim tropizmom nije statistički značajna ( $p > 0,05$ ). Dvanaest od 21 pacijenta (57%) inficiranih R5 formom su označeni kao kasni prezenteri HIV infekcije, dok su dva pacijenta inficirana X4 sojem smeštena u navedenu grupu (**dijagram 2**). Svi pacijenti u C3 stadijumu inficirani su R5 sojem (100%). Fišerovim testom tačne verovatnoće ustanovljeno je da ne postoji statistički značajna povezanost učestalosti koreceptorskog tropizma virusa i određenih stadijuma bolesti ( $p > 0,05$ ).

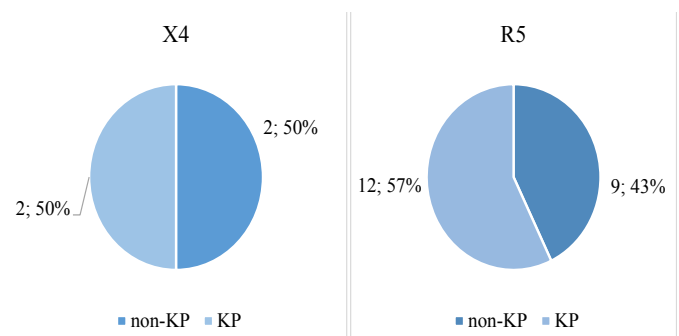
**Tabela 1.** Prikaz karakteristika pacijenata sa određenim koreceptorskim tropizmom uz korišćenje 10% FPR

	X4	R5	P
Koreceptorski tropizam Br. (%) (n = 26)	5 (19%)	21 (81%)	
Karakteristike pacijenata Br. (%) (n = 26)			
Pol Br. (%) (n = 26)			
Muški	4 (80%)	18 (85,7%)	1
Ženski	1 (20%)	3 (14,3%)	
Starost, medijana (IQR)	26 (23,7-29)	30 (26-36,7)	0,217
Karakteristike virusa			
Podtip virusa Br. (%) (n = 26)			
B (n = 25, 96%)	4 (80%)	21 (100%)	0,192
Non-B (n = 1,4%)	1 (20%)	0 (0%)	0,192
Način transmisije Br. (%) (n = 26)			
MSM	4 (80%)	16 (76,2%)	1
Heteroseksualni kontakt	1 (20%)	4 (19%)	1
IVDU	0 (0%)	1 (4,8%)	1
Druge polno prenosive bolesti	1 (20%)	3 (15%)	1
HBs antigen	1 (20%)	1 (5%)	0,367
Anti-HBc antitela	1 (20%)	7 (33,3%)	1
Anti-HCV antitela	0 (0%)	1 (5%)	1
Stadijum bolesti Br. (%) (n = 25)			
A1	0 (0%)	5 (23,8%)	0,549
A2	2 (50%)	3 (14,3%)	0,166
A3	1 (25%)	3 (14,3%)	0,527
B1	0 (0%)	1 (4,8%)	1
B2	1 (25%)	1 (4,8%)	0,3
B3	0 (0%)	3 (14,3%)	1
C3	0 (0%)	5 (23,8%)	0,549

Skracenicе: FPR - stopa lažno pozitivnih; IQR - interkvartilni period; MSM – muškarci koji imaju seks sa muškarcima; IVDU – intravensko korišćenje droge; HBs - površinski antigen hepatitisa B; HCV – virus hepatitisa C



**Dijagram 1.** Odnos broja CD4+ T-limfocita i koreceptorskog tropizma. Vrednosti medijane CD4+ T-limfocita (ćelija/mm<sup>3</sup>) i interkvartilni raspon za 22 dostupna pacijenta su: 234 (95-503) za pacijente inficirane R5 sojem virusa, odnosno 318,5 (210-418,5) za one inficirane X4 sojem. P = 0,902



**Dijagram 2.** Prikaz učestalosti kasne manifestacije među pacijentima inficiranim X4 i R5 formom virusa za koje su postojali podaci o stadijumu bolesti (n = 25); KP – pacijenti koji odgovaraju kriterijumima kasne manifestacije; non-KP - pacijenti koji ne odgovaraju kriterijumima kasne manifestacije. Kriterijumi kasne manifestacije prema konsenzus definiciji: broj CD4+ T-limfocita manji od 350 ćelija po  $\mu$ l u vreme kada je postavljena dijagnoza HIV infekcije ili prisustvo AIDS indikativnog stanja pri postavljanju dijagnoze bez obzira na broj CD4+ T-limfocita

## DISKUSIJA

Genotipsko određivanje tropizma primenom Geno2pheno bioinformatičkog algoritma je najčešći način određivanja HIV tropizma u kliničkoj primeni. Studijama koje su se bavile tropizmom HIV-1 kod osoba koje nisu na antiretrovirusnoj terapiji ustanovljeno je da se X4 sojevi otkrivaju kod 4-38% pacijenata, što odgovara i rezultatu naše studije sa 19% pacijenata inficiranih navedenim sojem (4). Poznato je da odabir FPR značajno utiče na stepen predviđanja X4 koreceptorskog tropizma. Izbor višeg nivoa značajnosti odgovara većoj verovatnoći njegovog otkrivanja, ali i povećanoj učestalosti deklarisanja virusa kao X4 tropnog kada on to nije, što su Chalmet i saradnici

(2012) utvrdili u studiji sa 539 pacijenata, primenom 5% i 10% tzv. „cut off“ vrednosti (4).

Učestalost R5 sojeva virusa (81%) u našem istraživanju slaže se sa onom koja je utvrđena u studiji koju su sproveli Parisi i saradnici (2011), u koju je uključeno 100 ispitanika koji nisu primali ART (11). Poznato je da na početku HIV infekcije, neposredno po transmisiji virusa, kod svih inficiranih osoba preovlađuju R5 sojevi, naročito pri seksualnom načinu transmisije, koji je najzastupljeniji u našem ispitivanom uzorku. Smatra se da ta pojava može da bude povezana sa velikom zastupljenošću CCR5 molekula na imunim ćelijama limfoidnog tkiva creva (engl. *gut-associated lymphoid tissue*, GALT), koje značajno učestvuju u daljem prenosu virusa do limfnih čvorova (13).

Iako je potvrđena veza X4 formi virusa sa bržom progresijom u AIDS preko značajnog pada broja CD4+ T-limfocita, naši pacijenti, inficirani R5 formom, imali su niže srednje vrednosti CD4+ T-limfocita od inficiranih X4 (12). Pretpostavljeno objašnjenje za ovakve rezultate nalazi se u činjenici da 11 pacijenata inficiranih R5 formom imaju vrednost broja limfocita manju od 200 ćelija po  $\mu$ l. Prisustvo R5 formi u ovih pacijenata, kao uzročnika progresivnog pada broja limfocita i razvoja AIDS, ukazuje na biološku evoluciju R5 forme. Poveda i saradnici (2006) su u svojoj studiji ukazali da se R5 forme, koje su pronađene kod pacijenata kod kojih se razvio AIDS, razlikuju od R5 formi koje su prisutne u ranoj infekciji. Naime, takozvane „kasne“ (engl. *late*) forme imaju veću sklonost ka CCR5, kao i povećan citopatogeni efekat na CD4+ T-limfocite u odnosu na „rane“ forme (engl. *early*) (14). Među pacijentima inficiranim X4, nijedan nema vrednost veću od 500 ćelija po  $\mu$ l, iako je srednja vrednost broja CD4+ T-limfocita veća u odnosu na vrednost dobijenu kod pacijenata inficiranih R5, što može ići u prilog teoriji o bržoj progresiji u AIDS (10). Ovo zahteva dalje praćenje kako bi se pratile dinamika broja CD4+ T-limfocita i evolucija samog virusa, ali i mogućnost transmisije „agresivne“ X4 forme.

Distribucija ispitanika našeg uzorka u odnosu na način transmisije u velikoj se meri slaže sa rezultatima Šiljić i saradnika (2013), koji su sproveli istraživanje na uzorku od 226 ispitanika i ustanovili zastupljenost MSM u 50,2%, heteroseksualni kontakt/i u 30,8%, IVDU u 3,6% i ostale puteve u 15,4% (15). Na osnovu studije koju je sproveo Institut za javno zdravlje Srbije (2012) ustanovljena je aktuelna epidemiološka situacija, koja takođe svedoči o porastu učestalosti MSM i značajnom padu IVDU među inficiranim, u poređenju sa prethodnim decenijama (16). Takođe, preovlađujuća učestalost podtipa B u navedenoj studiji odgovara rezultatima našeg istraživanja.

Potrebno je istaknuti činjenicu da je u našoj sredini još uvek veoma česta pojava kasne manifestacije bolesti, tj. postavljanja dijagnoze HIV infekcije kod pacijenata u poodmaklom stadijumu bolesti (engl. *late presenters*). Kod čak 14 pacijenata (56%) dijagnoza je postavljena kada je bolest već napredovala u AIDS, što je više u odnosu na prosečnu vrednost za Evropu, koju su u svom radu opisali Antinori i saradnici (2011), a koja iznosi 15-38% (17). Polovina pacijenata (50%) inficiranih X4 sojem nisu ka-

sni prezenteri HIV infekcije. Dobijeni procenti se slažu i sa rezultatima Stanojević i saradnika (2014), koji su pratili učestalost postavljanja dijagnoze u kasnom stadijumu HIV infekcije (18).

Dobijeni rezultati ukazuju da kod pacijenata sa novodijagnostikovanom HIV infekcijom u Srbiji preovlađuju R5 sojevi virusa, mada zastupljenost X4 varijanti nije zanemarljiva. Prisustvo X4 sojeva može da bude odraz postavljanja dijagnoze u odmakloj fazi bolesti, ali i promene u smislu povećanja virulencije virusa u cirkulaciji.

Na osnovu rezultata dobijenih na našem uzorku, zaključujemo da je potrebno sprovesti istraživanje koje bi se bavilo ispitivanjem korelacije kliničkih i epidemioloških parametara sa koreceptorskim tropizmom virusa na znatno većem broju ispitanika.

## LITERATURA

1. Moore J, Doms R. The entry of entry inhibitors: A fusion of science and medicine. *Proc Natl Acad Sci*. 2003; 100(19):10598–602.
2. Benedikt S, Grabmeier-Pfistershammer K, Rieger A, Sarcelletti M, Schmied B, Puchhammer-Stöckl E. HIV coreceptor tropism in antiretroviral treatment-naive patients newly diagnosed at a late stage of HIV infection. *AIDS* 2010; 24(13):2051–8.
3. Wilkin TJ, Su Z, Kuritzkes D, Hughes M, Flexner C, Gross R. et al. HIV Type 1 Chemokine Coreceptor Use among Antiretroviral-Experienced Patients Screened for a Clinical Trial of a CCR5 Inhibitor: AIDS Clinical Trial Group A5211. *Clin Infect Dis*. 2007; 44(4):591–5.
4. Chalmet K, Dauwe K, Fouquet L, Baatz F, Seguin-Devaux C, Van Der Gucht B. et al. Presence of CXCR4-Using HIV-1 in Patients With Recently Diagnosed Infection: Correlates and Evidence for Transmission. *J Infect Dis*. 2012; 205(2):174–84.
5. Williamson S. Adaptation in the env gene of HIV-1 and evolutionary theories of disease progression. *Mol Biol Evol*. 2003; 20(8):1318–25.
6. Archer JP. *The Diversity of HIV-1*. Manchester: University of Manchester; 2008.
7. Koot M, Keet IP, Vos AH, de Goede RE, Roos MT, Coutinho RA et al. Prognostic value of HIV-1 syncytium inducing phenotype for rate of CD4+ cell depletion and progression to AIDS. *Ann Int Med*. 1993; 118(9):681–8.
8. Feng Y, Broder CC, Kennedy PE, Berger EA. HIV-1 entry cofactor: functional cDNA cloning of a seven-transmembrane, G protein-coupled receptor. *Science* 1996; 272(5263):872–7
9. Sierra-Enguita R, Rodriguez C, Aguilera A, Gutierrez F, Eiros JM, Caballero E et al. X4 tropic viruses are on the rise in recent HIV-1 seroconverters in Spain. *AIDS* 2014; 28(11):1603–9.
10. Raymond S, Delobel P, Mavigner M, Cazabat M, Encinas S, Souyris C et al. CXCR4-using viruses in plasma and peripheral blood mononuclear cells during primary HIV-1 infection and impact on disease progression. *AIDS* 2010; 24(15):2305–12.
11. Parisi SG, Andreoni C, Sarmati L, Boldrin C, Buonomini AR, Andreis S et al. HIV Coreceptor Tropism in Paired Plasma, Peripheral Blood Mononuclear Cell, and Cerebrospinal Fluid Isolates from Antiretroviral-Naïve Subjects. *J Clin*

- Microbiol. 2011; 49(4):1441-5.
12. Parczewski M, Leszczyszyn-Pynka M, Witak-Jędra M, Maciejewska K, Myślińska S, Urbańska A. The temporal increase in HIV-1 non-R5 tropism frequency among newly diagnosed patients from northern Poland is associated with clustered transmissions. *J Int AIDS Soc* [Internet]. 2015 avgust [pristupljeno 2016 februar 10]; 18(1). Dostupno na: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4545195/>
  13. Henrich TJ, McLaren PJ, Rao S, Lin NH, Hanhauser E, Giguel F et al. Genome-Wide Association Study of Human Immunodeficiency Virus (HIV)-1 Coreceptor Usage in Treatment –Naïve Patients from An AIDS Clinical Trials Group Study. *OFID*. 2014; 1(1):1-7.
  14. Poveda E, Briz V, Quinones-Mateu M, Soriano V. HIV tropism: diagnostic tools and implications for disease progression and treatment with entry inhibitors. *AIDS* 2006; 20(10):1359-67.
  15. Siljic M, Salemovic D, Stanojevic M, Pesic-Pavlovic I, Zerjav S, Nikolic V. et al. Molecular typing of the local HIV-1 epidemic in Serbia. *Infect Genet Evol*. 2013; 19():378-85.
  16. Institut za javno zdravlje Srbije. Istraživanja među populacijama pod povećanim rizikom od HIV-a. [Internet] Beograd: Institut za javno zdravlje Srbije; 2012 septembar [pristupljeno 2016 februar 15]. Dostupno na:
  17. <http://www.batut.org.rs/download/publikacije/Istrazivanja%20medju%20populacijama%20pod%20povecanim%20rizikom%20od%20HIV-a.pdf>
  18. Antinori A, Coenen T, Costagiola D, Dedes N, Ellefson M, Gatell J. et al. Late presentation of HIV infection: a consensus definition. *HIV med*. 2011; 12(1): 61-4.
  19. Stanojevic M, Siljic M, Salemovic D, Pesic-Pavlovic I, Zerjav S, Nikolic V. et al. Ten years survey of primary HIV-1 resistance in Serbia: the occurrence of multiclass resistance. *AIDS Res Hum Retroviruses*. 2014; 30(7):634-41.