

Tipos de evolução em retrovírus humanos: Revisão sistemática

Types of evolution in human retroviruses: Systematic review

Tipos de evolución en retrovirus humanos: Revisión sistemática

Recebido: 23/09/2024 | Revisado: 08/10/2024 | Aceitado: 10/10/2024 | Publicado: 14/10/2024

João Pedro de Lacerda Costa Sousa

ORCID: <https://orcid.org/0009-0000-6521-7604>
Universidade Federal de São João del Rei, Brasil
E-mail: jlacerda66@gmail.com

Beatriz Reis Andrade

ORCID: <https://orcid.org/0009-0000-0949-7517>
E.E. Dr. Garcia de Lima, Brasil
E-mail: beatrizreis0802@gmail.com

Iara Freitas Lopes

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2585-6038>
Universidade Federal de São João del Rei, Brasil
E-mail: iaraflopes@ufsj.edu.br

Resumo

A evolução viral, especialmente em retrovírus, é um processo complexo e dinâmico que pode ser influenciado por interações com o hospedeiro e diferentes pressões seletivas. Essa evolução pode ser classificada como neutra, na qual a maioria das alterações genéticas são causadas pelo efeito da deriva genética, ou positiva, onde a diversidade seria mantida por um equilíbrio entre a taxa de mutação e sua eventual manutenção devido aos efeitos da seleção natural. Para esse estudo, realizamos uma revisão sistemática com o objetivo de classificar os retrovírus de acordo com a teoria evolutiva que se encaixam. Nos 75 artigos analisados, foi possível constatar uma predominância da seleção positiva (76%), especialmente em vírus da imunodeficiência humana (HIV), corroborada pela prevalência de mutações não-sinônimas identificadas, onde mutações “benéficas” para os vírus são selecionadas, possivelmente como resposta a pressões do sistema imune e tratamentos. Ao comparar a evolução do HIV com o retrovírus endógeno humano (HERV) foi observado diferentes padrões, vírus HERV tendem a seleção purificadora, mantendo características pré-existentes e, em cenários de coinfeção com HIV, HERV’s tendem a seleção neutra, com acúmulo de mutações sinônimas. O estudo e a compreensão dos processos evolutivos e fatores que os influenciam são de suma importância, visto que, o surgimento de variantes resistentes é, atualmente, o maior empecilho no desenvolvimento de um tratamento eficaz para infecções retrovirais.

Palavras-chave: Deriva genética; Evolução molecular; Mutação; Retroviridae; Seleção genética.

Abstract

Viral evolution, especially in retroviruses, is a complex and dynamic process that can be influenced by interactions with the host and different selective pressures. This evolution can be classified as neutral, in which most genetic changes are caused by the effect of genetic drift, or positive, where diversity would be maintained by a balance between the mutation rate and its eventual maintenance due to the effects of natural selection. For this study, we conducted a systematic review with the aim of classifying retroviruses according to the evolutionary theory they fit. In the 75 articles analyzed, it was possible to observe a predominance of positive selection (76%), especially in human immunodeficiency viruses (HIV), corroborated by the prevalence of non-synonymous mutations identified, where "beneficial" mutations are selected, possibly as a response to immune system pressures and treatments. When comparing the evolution of HIV with the human endogenous retrovirus (HERV), different patterns were observed, HERV viruses tend to purifying selection, maintaining pre-existing characteristics and, in co-infection scenarios with HIV, HERVs tend to neutral selection, with accumulation of synonymous mutations. The study and understanding of evolutionary processes and the factors that influence them are of paramount importance, since the emergence of resistant variants is currently the biggest obstacle in the development of an effective treatment for retroviral infections.

Keywords: Genetic drift; Evolution; Mutation; Retroviridae; Selection.

Resumen

La evolución viral, especialmente en retrovirus, es un proceso complejo y dinámico que puede ser influenciado por interacciones con el hospedador y diferentes presiones selectivas. Esta evolución puede clasificarse como neutra, en la cual la mayoría de las alteraciones genéticas son causadas por el efecto de la deriva genética, o positiva, donde la diversidad sería mantenida por un equilibrio entre la tasa de mutación y su eventual mantenimiento debido a los

efectos de la selección natural. Para este estudio, realizamos una revisión sistemática con el objetivo de clasificar los retrovirus de acuerdo con la teoría evolutiva que se ajuste. En los 75 artículos analizados fue posible constatar una predominancia de la selección positiva (76%), especialmente en virus de la inmunodeficiencia humana (VIH), corroborada por la prevalencia de mutaciones no sinónimas identificada, donde se seleccionan mutaciones "beneficiosas" para los virus, posiblemente como respuesta a presiones del sistema inmune y tratamientos. Al comparar la evolución del VIH con el retrovirus endógeno humano (HERV) se observaron diferentes patrones, los virus HERV tienden a la selección purificadora, manteniendo características preexistentes, y, en escenarios de coinfección con VIH, los HERV tienden a la selección neutra, con acumulación de mutaciones sinónimas. El estudio y la comprensión de los procesos evolutivos y factores que los influyen son de suma importancia, ya que la aparición de variantes resistentes es actualmente el mayor obstáculo en el desarrollo de un tratamiento eficaz para las infecciones retrovirales.

Palabras clave: Flujo genético; Evolución molecular; Mutación; Retroviridae; Selección genética.

1. Introdução

Vírus podem ser definidos como entidades muito simples constituídas por apenas um tipo de ácido nucleico (DNA ou RNA) e que apresentam revestimento proteico protegendo o ácido nucleico (o capsídeo). Estes só se multiplicam no interior de células vivas, utilizando o maquinário celular do hospedeiro e induzindo a síntese de estruturas especializadas capazes de transferir o material genético para outras células (Tortora, Case & Funke, 2017). Os vírus são entidades que se modificam ao longo do tempo por meio de uma elevada taxa de mutação e alta capacidade de adaptação aos seus hospedeiros. Evoluem em uma interação contínua com o hospedeiro e a extensa variabilidade genética pode ser observada principalmente em vírus de RNA já que, apresentam grande propensão a erros de suas polimerases e tempo curto de geração (Roossinck, 2001). Devido a isso, uma única população de vírus de RNA pode manter um alto nível de variação, o que confere uma rápida taxa de evolução, taxa essa que pode variar entre vírus da mesma espécie em sítios de infecção e/ou hospedeiros diferentes. Levando em consideração que os vírus são o maior grupo de parasitas intracelulares, podemos assumir que o potencial para rápida evolução é a base para sua adaptabilidade. De acordo com a literatura sobre o tema, há duas grandes possibilidades para evolução viral. A primeira considera a teoria neutra da evolução molecular, em que a maioria das mudanças genéticas têm como causa a fixação aleatória de mutações devido aos efeitos da deriva genética. A segunda teoria credits um certo valor às mutações e, como consequência, a diversidade genética é mantida por um equilíbrio entre a taxa de mutação e seleção positiva das linhagens melhor adaptadas (Domingo et al, 1996).

Retrovírus são vírus envelopados contendo duas moléculas de RNA de fita simples que se replicam utilizando a proteína transcriptase reversa, a qual reverte a ordem comum de transcrição do material genético, passando de DNA -> RNA para RNA -> DNA. Esse DNA resultante é incorporado no genoma do hospedeiro onde é capaz de se replicar como parte do DNA da célula parasitada (Korsman, Van Zyl, Nutt, Andersson & Preiser, 2014). Segundo Hutchinson (2001), todos os retrovírus apresentam os genes GAG, ENV e POL, os quais codificam proteínas estruturais e enzimas importantes para a replicação, além disso, os retrovírus possuem estruturas relativamente homogêneas. Há indícios de que os retrovírus tenham se originado a cerca de 450 milhões de anos atrás, durante estágios iniciais da evolução dos vertebrados, e sua distribuição pode ser explicada pela troca frequente de hospedeiros, visto que são encontrados retrovírus na maioria de vertebrados com mandíbula, os quais estão amplamente distribuídos pelo planeta (Zheng, Wei & Han, 2022). Hayward, Grabherr e Jern (2013), elaboraram esses indícios quando encontraram, em suas análises filogenéticas, sequências retrovirais ocorrendo de forma adjacente em diferentes mamíferos, o que demonstra a capacidade destes vírus de mudar entre diferentes hospedeiros.

Os estudos da infecção pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV), um dos retrovírus mais estudados, demonstram um claro padrão de evolução na infecção. Nowak (2006), considera que em uma configuração natural da infecção, sem a interferência do sistema imune, há uma seleção de linhagens que se multiplicam mais rápido, o que leva a uma população viral com baixa diversidade genética. Com a eventual ativação do sistema imune, que seleciona e ataca vírus com epítomos que

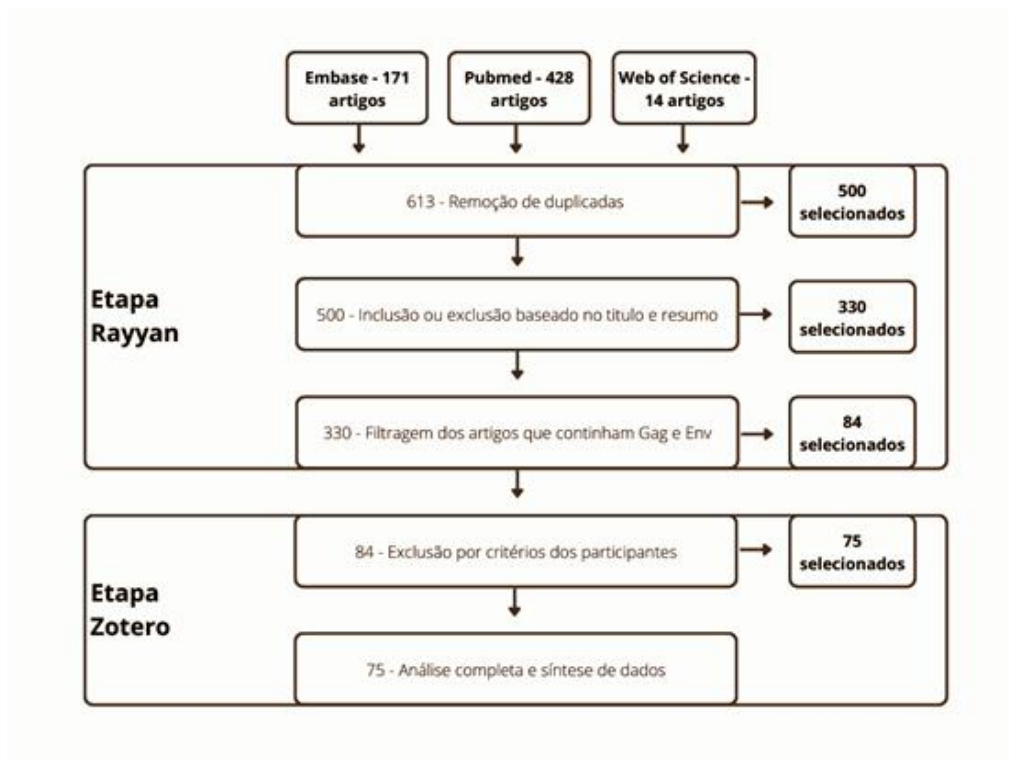
podem ser reconhecidos por estes, a reprodução viral tende a favorecer vírus que apresentam maior diversidade genética e que podem invadir e atacar as células CD4 da resposta imune com mais eficiência. De acordo com Andrews e Rowland-Jones (2017), a maior taxa de mutação biológica é encontrada no vírus da imunodeficiência humana (HIV), que apresentam a capacidade de recombinação entre um ou mais vírus que se tornam prevalente, frequentemente ultrapassando a prevalência da linhagem parental. A persistência das infecções por HIV é um indício de que a evolução do organismo ocorre dentro e entre os hospedeiros, sendo que a seleção positiva domina apenas o primeiro, visto que as filogenias demonstram uma tendência a extinção de linhagens desfavoráveis e a fixação de mutantes vantajosos, enquanto a mesma análise realizada entre hospedeiros retorna poucas evidências desta seleção positiva intensa (Rambaut, Posada, Crandall & Holmes, 2004). Assim, pode-se perceber a importância crucial da evolução do vírus durante o processo de infecção, o que realça o valor do estudo e da compreensão das formas dessa evolução, assim como os processos e interações que modulam a evolução retroviral. Para esse estudo, realizamos uma revisão sistemática com o objetivo de classificar os retrovírus de acordo com os possíveis processos evolutivos aos quais estes estariam sujeitos.

2. Metodologia

Prodanov e Freitas (2013), definem metodologia como a “aplicação de procedimentos e técnicas que devem ser observados para construção do conhecimento, com o propósito de comprovar sua validade e utilidade nos diversos âmbitos da sociedade”. Neste sentido, buscamos realizar uma revisão sistemática tal como definida por Mattos (2015), que considera esta como “estudos observacionais retrospectivos ou estudos experimentais de recuperação e análise crítica da literatura. Testam hipóteses e têm como objetivo levantar, reunir, avaliar criticamente a metodologia da pesquisa e sintetizar os resultados de diversos estudos primários”. A partir deste levantamento bibliográfico sistematizado, buscamos responder quais mecanismos e processos estariam envolvidos com a evolução de retrovírus humanos.

Para a realização deste trabalho, foram utilizadas as bases de dados Scopus, ISI Web of Science e PUBMED. As seguintes palavras-chave foram utilizadas para realização de buscas preliminares, usando operadores booleanos, nas bases supracitadas: “human retrovirus”, “evolution”, “natural selection” e “mutations”. Com essa busca foram encontrados 613 artigos. Com a utilização de critérios de seleção previamente determinados e a eliminação de artigos duplicados, selecionou-se 75 artigos considerados pertinentes ao tema para a análise (Figura 1). Para as análises dos artigos utilizamos os softwares Rayyan (<http://rayyan.qcri.org>) e Zotero.

Figura 1 - Fluxograma processo de seleção.



Fonte: Autoria própria.

A Figura 1 demonstra a diferença na quantidade dos resultados obtidos em cada base de dados utilizada, assim como quantos artigos foram filtrados durante todo o processo de seleção.

Destaca-se que foi dado um foco maior à artigos mencionando os genes GAG e ENV, visto que o gene GAG codifica a poliproteína principal para a montagem das partículas virais, enquanto o gene ENV codifica as proteínas do envelope viral que são responsáveis pela adsorção e fusão das membranas celulares. Portanto, proteínas de extrema importância para a manutenção e a replicação do vírus.

3. Resultados e Discussão

Considerando os objetivos propostos, nossa pesquisa permitiu analisar padrões evolutivos nos principais retrovírus humanos, com maior recuperação de artigos que estudaram o HIV. Dentre os 75 artigos analisados (publicados entre os anos de 1997 e 2022), 96% (73 artigos) analisaram HIV e suas variantes, enquanto 4% (3 artigos) realizaram a análise em vírus da família HERV. Essa discrepância pode ser justificada pelo impacto atual do vírus HIV no mundo. O programa da Organização das Nações Unidas (ONU) UNAIDS, por exemplo, aponta que até o ano de 2022, 39 milhões de pessoas estavam vivendo com HIV, enquanto 630.000 faleceram e 1.3 milhões de pessoas foram infectadas somente no ano de 2022. Além disso, os efeitos da terapia e prevenção da AIDS diferem em populações mais pobres e de minorias, e a incidência da doença nessas populações é consideravelmente maior, quando comparadas a populações com maior poder econômico (Piot, Bartos, Ghys, Walker & Schwartländer, 2001).

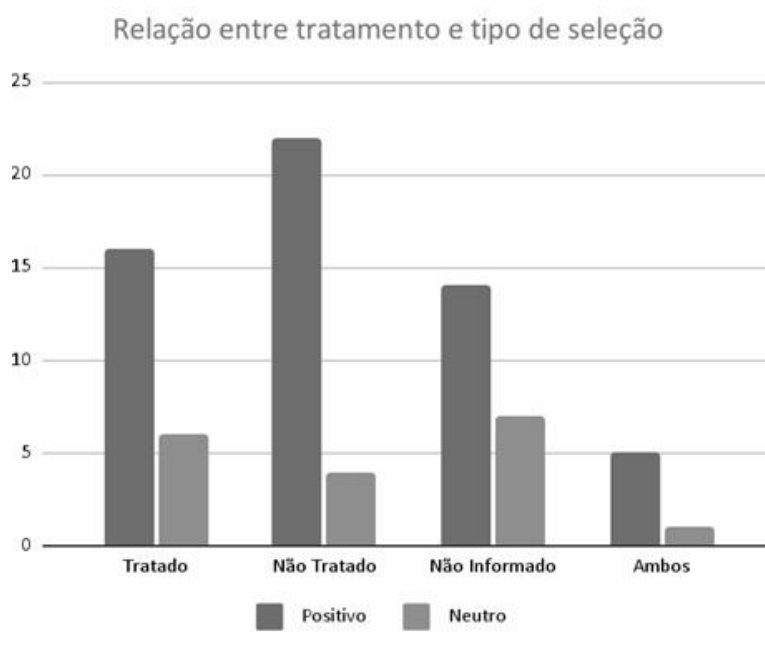
Devido a triagem focada nos dois genes mais analisados na literatura, explicitado acima, a maioria dos textos avaliaram o gene que codifica algumas das principais estruturas dos retrovírus (GAG), assim como o gene codificante do envelope viral (ENV), porém alguns artigos, em menor proporção, estudaram também os genes o POL e NEF.

Entre os 75 artigos analisados, 76% (57 artigos) foram caracterizados como evolução positiva e 24% (18 artigos)

caracterizados como evolução neutra. Para a sustentar a classificação atribuída foi realizada a análise das mutações sinônimas e não sinônimas, onde encontramos quatro artigos que analisaram somente mutações sinônimas (5,3%), nove artigos analisando somente mutações não-sinônimas (12%), 34 artigos analisando ambos os tipos de mutação (45,3%) e, por fim, 28 artigos (37,33%) que não declararam o tipo de mutação analisada. A identificação de mutações não-sinônimas foi interpretada como indicador de seleção positiva, que ocasionam, trocas nos aminoácidos e, conseqüentemente, alterações na proteína codificada. E as mutações sinônimas, são aquelas cuja alteração na sequência de nucleotídeos do DNA não implica em mudança no aminoácido codificado e, conseqüentemente, não provoca alteração na proteína resultante.

Os autores Das e Berkhout (2010) consideram que “a etapa de mutação da evolução é completamente independente da etapa de seleção”, pois “Embora a população viral seja eventualmente moldada por critérios de seleção fenotípica, as taxas de substituição de nucleotídeos determinarão em grande parte o conjunto de mutantes disponíveis nas *quasispecies* virais para esse processo de seleção”. Esta expectativa é corroborada em nosso trabalho pelas análises das taxas de mutação sinônima e não-sinônima onde, como dito anteriormente, as mutações não-sinônimas geram as substituições de nucleotídeos que ocasionam o surgimento de linhagens mutantes nas quais a seleção natural irá atuar. A Figura 2 demonstra a diferença entre a quantidade de artigos que foram classificados como seleção positiva ou neutra. As barras escuras ilustram trabalhos considerados seleção positiva, enquanto as claras demonstram os trabalhos classificados como seleção neutra.

Figura 2 - Classificação do tipo de seleção.



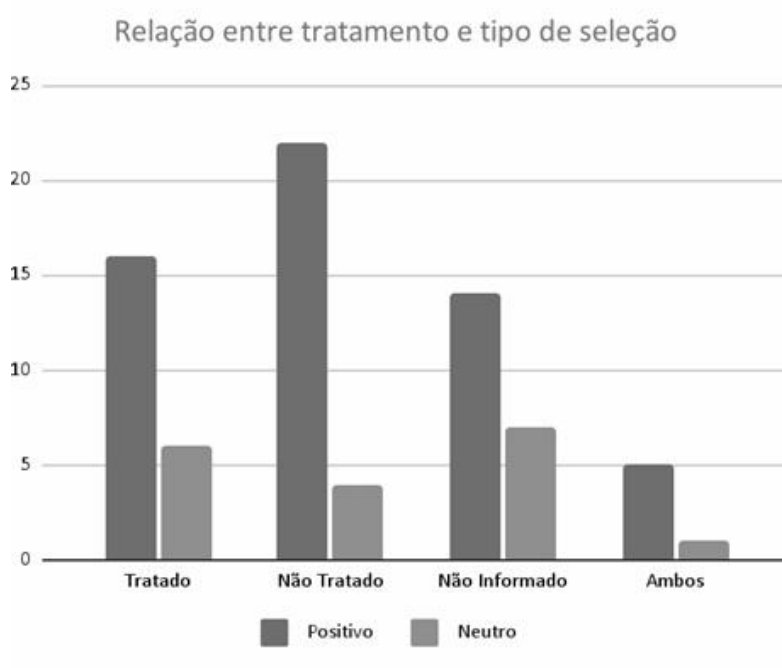
Fonte: Autoria própria.

Pode-se perceber a baixo número de artigos nos quais os autores deram alguma classificação, apenas 25 dos 75 artigos totais. Esta ausência de classificação deve-se ao foco das pesquisas realizadas que buscavam, em sua maioria, testar os mecanismos e interação dos vírus.

De qualquer forma, estes dados revelam que tanto a classificação feita neste estudo como aquelas feitas pelos autores dos trabalhos originais, houve uma clara tendência à identificação de seleção positiva, em detrimento da seleção neutra. Tal dado é corroborado por Das e Berkhout (2010), que consideram que quando se permite a replicação viral, a variante do HIV-1

melhor adaptada superará as outras variantes. Uma das formas de perceber melhor o efeito desta seleção por variantes com maior aptidão, seria pela análise do modo de evolução observado em estudos que utilizam pacientes tratados ou não tratados com medicamentos anti-retrovirais. Assim, dentre os artigos analisados, verificamos aqueles que utilizaram apenas pacientes tratados (22), apenas pacientes não tratados (26), ambos (tratados e não-tratados, 06) ou não informado (21) (Figura 3). Nesta análise foi possível perceber que pressões seletivas positivas estão atuando sobre os vírus independente do tratamento. Estes dados corroboram a hipótese de que as pressões que levam a seleção positiva são dominantes em todos os grupos e que o surgimento de variantes adaptadas pode sempre gerar uma rota de escape ao tratamento aplicado, o que explica a dificuldade de desenvolvimento de vacinas para o tratamento de doenças causadas por retrovírus, como o HIV.

Figura 3 - Relação tratamento e tipo de seleção.



Fonte: Autoria própria.

Outros fatores também podem interferir na evolução dos retrovírus, sendo um deles o uso de drogas ilícitas. Segundo Carneiro et al (1999), a análise de estudos in vivo e in vitro indicam que o consumo de drogas ilícitas influencia o curso da infecção pelo HIV-1 pois estas afetam a função do sistema imune, como a concentração de imunoglobulina e o número e proliferação de linfócitos. Além de fatores externos, como o uso de drogas ilícitas supracitadas, infecções ou condições patológicas pré-existentes podem apresentar efeito sobre a infecção por retrovírus. Porém, estes outros fatores não puderam ser considerados no pool de artigos analisados pois os mesmos não versavam sobre esses temas.

Um dos dados interessantes evidenciados neste trabalho, foi que o RNA viral do retrovírus endógeno humano tipo K (HERV-K) presente em indivíduos infectados pelo HIV-1 apresenta evidências de acúmulo de mutações sinônimas em detrimento de não-sinônimas. Este achado sugere uma possível seleção purificadora, contrastando com sequências do RNA do HERV-K encontradas em pacientes de câncer de mama, que não mostram sinais de recombinação e apresentam apenas mutações esporádicas (Contreras-Galindo et al, 2012). Esta informação também é corroborada por Blikstad, Benachenhou, Sperber e Blomberg, (2008), que relataram que os retrovírus endógenos (ERV ou endogenous retrovirus) demonstram tendência a seleção purificadora, quando se considera que estes tendem a se incorporar ao genoma do hospedeiro por fora das zonas de

transcrição ativa. Johnson (2019) propõe que o processo de endogeneização deve produzir uma grande quantidade de inserções, preservadas no processo evolutivo, a fim de manter uma maior fonte de variantes. Assim, a evolução destes vírus dependeria da recombinação e da alta taxa de erro da transcriptase reversa (Bilkstad, et al, 2008).

Katsura e Asai (2019), discutem que a presença de retrovírus endógenos no material genético humano deve ter um impacto neutro ou, possivelmente, apresentar vantagem, visto que no cenário que estes ERV's apresentam prejuízo ao hospedeiro, seriam excluídos durante o processo evolutivo. Os autores ilustram este possível impacto positivo relatando como proteínas GAG codificadas por um HERV-K tem a capacidade de reduzir a eficiência na infecção do HIV por meio da alteração na morfologia e tamanho das partículas do HIV.

Esses estudos ilustram o fato de que a evolução do vírus durante o processo de infecção é mediada por fatores além da resposta imune e os possíveis tratamentos aplicados, gerando uma complicação para o desenvolvimento de formas de tratamento e vacinas para as infecções retrovirais. Por exemplo, variantes do HIV-1 com capacidade de escapar da vacina podem se tornar dominantes caso uma vacina parcialmente eficaz seja introduzida na população. O entendimento da evolução do HIV com a introdução da vacinação é importante, quando se considera que a primeira geração de vacinas não será capaz de erradicar as infecções (Lewitus et al, 2021). O desenvolvimento de possíveis vacinas encontra um grande desafio nas formas de evolução do vírus, com isso, alternativas estão sendo buscadas. Uma possível solução é a alteração da área de foco das vacinas.

Vacinas feitas para concentrar a resposta imune à elementos conservados do proteoma do HIV-1 são chamados vacinas com restrição de conservação (conservation-restricted vaccines). Tais antígenos partem do pressuposto de que mutações em áreas evolutivamente conservadas teriam um custo maior, direcionando o vírus para formas com menor aptidão, as quais poderiam ser controladas com maior facilidade pelo sistema imune (Rolland et al, 2013). Como demonstrado anteriormente, certas estruturas do retrovírus estão sob maiores pressões evolutivas, como os genes GAG e ENV mencionados. Assim, ao alterar o foco de atuação das vacinas para áreas que são conservadas evolutivamente podemos obter um produto mais eficaz, visto que áreas conservadas tendem a ser de extrema importância para o funcionamento do organismo, e alterações ou mutações, apresentam uma probabilidade elevada de serem prejudiciais aos retrovírus, sendo, na maioria das vezes, mutações deletérias. Com isso é possível perceber a importância do estudo da evolução dos retrovírus humanos, assim como alguns fatores que influenciam esse processo e geram complicações para o desenvolvimento de alternativas para o tratamento.

4. Conclusão

Entender as formas de evolução dos retrovírus humanos é fundamental para o desenvolvimento de tratamentos e vacinas. Nosso trabalho corrobora, utilizando artigos recentes, que os retrovírus seguem um padrão de seleção positiva, ou seja, as variantes mais adaptadas à sobrevivência, seja por escape do sistema imune ou resistência de fármacos, são selecionadas, em detrimento de variantes neutras que podem não desencadear aumento do fitness viral. Quando considerada a rápida taxa de mutação viral e a tendência à seleção positiva para pacientes tratados e não-tratados, percebe-se o principal obstáculo no desenvolvimento de tratamentos para as doenças causadas, esses fatores combinados proporcionam ao vírus um escape relativamente rápido dos tratamentos. Nas nossas análises percebemos que poucos autores têm classificado o tipo de evolução viral, o que releva a importância do nosso trabalho.

Agradecimentos

Os autores expressam seus sinceros agradecimentos à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) pelo apoio financeiro concedido por meio do edital 005/2022/PROPE/PROAE.

Referências

- Andrews, S. M., & Rowland-Jones, S. (2017). Recent advances in understanding HIV evolution. *F1000Research*, 6.
- Blikstad, V., Benachou, F., Sperber, G. O., & Blomberg, J. (2008). Endogenous retroviruses: Evolution of human endogenous retroviral sequences: a conceptual account. *Cellular and molecular life sciences*, 65, 3348-3365.
- Carneiro, M., Yu, X. F., Lyles, C., Templeton, A., Weisstein, A. E., Safaeian, M., Farzadegan, H., Vlahov, D., Markham, R. B. (1999). The Effect of Drug-Injection Behavior on Genetic Evolution of HIV-1. *The Journal of Infectious Diseases*, 180(4), 1025-1032
- Contreras-Galindo, R., Kaplan, M. H., Contreras-Galindo, A. C., Gonzalez-Hernandez, M. J., Ferlenghi, I., Giusti, F., ... & Markovitz, D. M. (2012). Characterization of human endogenous retroviral elements in the blood of HIV-1-infected individuals. *Journal of virology*, 86(1), 262-276.
- Das, A. T., & Berkhout, B. (2010). HIV-1 evolution: frustrating therapies, but disclosing molecular mechanisms. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 365(1548), 1965-1973.
- Domingo, E., Escarmís, C., Sevilla, N., Moya, A., Elena, S. F., Quer, J., ... & Holland, J. J. (1996). Basic concepts in RNA virus evolution. *The FASEB Journal*, 10(8), 859-864.
- Gomes, I. S. & Caminha, I. O. (2014). Guia para estudos de revisão sistemática: uma opção metodológica para as Ciências do Movimento Humano. *Movimento*. 20(1), 395-411.
- Hayward, A., Grabherr, M., & Jern, P. (2013). Broad-scale phylogenomics provides insights into retrovirus–host evolution. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 110(50), 20146-20151.
- Hutchinson, J. F. (2001). The biology and evolution of HIV. *Annual review of anthropology*, 30(1), 85-108.
- Johnson, W. E. (2019). Origins and evolutionary consequences of ancient endogenous retroviruses. *Nature Reviews Microbiology*, 17(6), 355-370.
- Katsura, Y., & Asai, S. (2019). Evolutionary medicine of retroviruses in the human genome. *The American Journal of the Medical Sciences*, 358(6), 384-388
- Korsman, S. N., Van Zyl, G., Nutt, L., Andersson, M. I., & Preiser, W. (2014). *Virologia*. Elsevier Brasil.
- Lewitus, E., Sanders-Buell, E., Bose, M., O'Sullivan, A. M., Poltavee, K., Li, Y., ... & Rolland, M. (2021). RV144 vaccine imprinting constrained HIV-1 evolution following breakthrough infection. *Virus Evolution*, 7(2), veab057.
- Mattos, P. C. (2015). Tipos de revisão de literatura. Unesp, 1-9. Recuperado de <https://www.fca.unesp.br/Home/Biblioteca/tipos-de-revisao-de-literatura.pdf>.
- Nowak, M. A. (2006). *Evolutionary dynamics*. Harvard university press.
- Pereira A. S. et al. (2018). *Metodologia da pesquisa científica*. [free e-book]. Santa Maria/RS. Ed. UAB/NTE/UFSM.
- Piot, P., Bartos, M., Ghys, P. D., Walker, N., & Schwartländer, B. (2001). The global impact of HIV/AIDS. *Nature*, 410(6831), 968-973.
- Prodanov, C. C. & Freitas, E. C. (2013). *Metodologia do trabalho científico: métodos e técnicas da pesquisa e do trabalho acadêmico*. (2ed.). Ed. Feevale.
- Rambaut, A., Posada, D., Crandall, K. A., & Holmes, E. C. (2004). The causes and consequences of HIV evolution. *Nature Reviews Genetics*, 5(1), 52-61.
- Rolland, M., Manochewa, S., Swain, J. V., Lanxon-Cookson, E. C., Kim, M., Westfall, D. H., ... & Mullins, J. I. (2013). HIV-1 conserved-element vaccines: relationship between sequence conservation and replicative capacity. *Journal of virology*, 87(10), 5461-5467.
- Roossinck, M. J. (2001). Cucumber mosaic virus, a model for RNA virus evolution. *Molecular Plant Pathology*, 2(2), 59-63.
- Tortora, G. J., Case, C. L., & Funke, B. R. (2017). *Microbiologia*-(12ª Ed.). Artmed Editora.
- UNAIDS. *Global HIV & AIDS Statistics—Fact Sheet*. Geneva, Switzerland: The Joint United Nations Programme on HIV/AIDS. Disponível em: <https://unaids.org/en>
- Zheng, J., Wei, Y., & Han, G. Z. (2022). The diversity and evolution of retroviruses: perspectives from viral “fossils”. *Virologica sinica*, 37(1), 11-18.