

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS  
DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA GERAL  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA



DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

**REVISÃO SISTEMÁTICA COM METANÁLISE DA  
SUSCEPTIBILIDADE GENÉTICA AO TRANSTORNO  
NEUROCOGNITIVO ASSOCIADO AO HIV**

ORIENTANDO: Caio Squárcio Poças

ORIENTADOR: Renan Pedra de Souza

BELO HORIZONTE

Julho – 2017

CAIO SQUÁRCIO POÇAS

**REVISÃO SISTEMÁTICA COM METANÁLISE DA  
SUSCEPTIBILIDADE GENÉTICA AO TRANSTORNO  
NEUROCOGNITIVO ASSOCIADO AO HIV**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Genética do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais, como pré-requisito para obtenção do grau de Mestre em Genética.

Orientador: Renan Pedra de Souza

BELO HORIZONTE

Julho – 2017

## **AGRADECIMENTOS**

À Universidade Federal de Minas Gerais e ao Instituto de Ciências Biológicas.

Ao Programa de Pós-Graduação em Genética da UFMG, seus professores, funcionários e colegas.

Ao meu orientador, Professor Renan Pedra de Souza, pela excelente e inspiradora orientação.

Ao meu pai, minha mãe e meu irmão, por todo suporte e confiança de sempre.

À minha família, pelo carinho e ajuda. Em especial à tia Zaine, por exercer um papel de mãe em minha vida.

À minha namorada, Larissa Assis Abreu, por todos os diálogos, motivações, treinamentos, acolhimento e carinho.

Aos meus amigos, por me apoiarem e entenderem todas as minhas ausências nesse período.

## **SUMÁRIO**

LISTA DE FIGURAS .....	v
LISTA DE TABELAS.....	vi
LISTA DE ABREVIATURAS .....	vii
RESUMO.....	1
ABSTRACT .....	2
1. INTRODUÇÃO.....	3
1.1. HIV/AIDS .....	3
1.2. HAND .....	8
1.3. Genética de HAND .....	13
1.4. Revisão Sistemática e Metanálise .....	17
2. ARTIGO: Artigo “Genetic susceptibility of HIV-associated neurocognitive impairment beyond apolipoprotein E: a PRISMA compliant meta-analysis” .....	22
3. DISCUSSÃO .....	56
5. CONCLUSÃO.....	61
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	62

## **LISTA DE FIGURAS**

Figura 1. Número de estudos com os termos “meta analysis genetic association” e “genetic association” no banco de dados Pubmed entre 1991 e 2016.....	17
Figura 2. Forest plot de uma metanálise.....	19

## **CAPÍTULO 1**

Figure 1. PRISMA flow diagram.....	29
Figure 2. Forest plots.....	30

## **LISTA DE TABELAS**

### **CAPÍTULO 1**

Table 1. Included studies.....	31
Table S1. Q-Genie scores.....	32
Table S2. Number of studies evaluating singles genetic variants.....	33

## **LISTA DE ABREVIATURAS**

AAN: Academia Americana de Neurologia.

AIDS: síndrome da imunodeficiência adquirida humana.

ANI: transtorno neurocognitivo assintomático associado ao HIV.

AZT: azidotimidina

CART: terapia antirretroviral combinada

CCR5: receptor de quimiocina do tipo 5.

CD4: grupo de diferenciação 4.

CD8: grupo de diferenciação 8.

CHARTER: pesquisa de efeitos terapêuticos antirretrovirais associados ao HIV no sistema nervoso central.

CXCR4: receptor de quimiocina CXC do tipo 4.

DA: dopamina.

HAD: demência associada ao HIV.

HAND: transtorno neurocognitivo associado ao HIV.

HIV: vírus da imunodeficiência humana.

HIVE: encefalite pelo HIV

GWAS: estudo de associação genômica ampla.

MND: transtorno neurocognitivo leve associado ao HIV.

NCI: comprometimento neurocognitivo.

PRISMA: itens de relatório preferenciais para revisões sistemáticas e metanálises.

Q-GENIE: qualidade dos estudos de associação genética.

QUADAS: avaliação da qualidade dos estudos de precisão diagnóstica.

SNC: sistema nervoso central.

SNP: polimorfismo de nucleotídeo único.

TLR7: receptores do tipo Toll 4.

TLR8: receptores do tipo Toll 8.

TNF-  $\alpha$ : fator de necrose tumoral alpha.

## **RESUMO**

Variações genéticas em indivíduos HIV positivos podem impactar processos biológicos e afetar a susceptibilidade de desenvolver comprometimentos neurocognitivos associados ao HIV. O presente trabalho analisou variantes genéticas associadas a esse fenótipo ao conduzir uma revisão sistemática, seguida de metanálise, sempre que possível. Foram incluídos estudos primários que realizaram testes de associação para variantes genéticas e o fenótipo em questão, à exceção de variantes no gene ApoE. A busca identificou 196 artigos e, depois das etapas de triagem e elegibilidade, seis estudos foram incluídos, todos avaliando o TNF- $\alpha$ -308 (rs1800629). Estes foram publicados entre 1998 e 2012 e suas amostras foram coletadas nos Estados Unidos, Holanda, Austrália, Itália, Áustria e Alemanha, totalizando 1001 pacientes HIV positivos. A avaliação de qualidade foi realizada por meio do instrumento Q-Genie, que indicou comprometimentos associados aos itens: “classificação não-técnica da exposição”, “poder e tamanho de amostra” e “métodos estatísticos e controle de confundidores”. A razão de chances combinada foi calculada com intervalo de confiança de 95% e indicou ausência de associação: 0,69 (0,38-1,24) considerando o modelo alélico; 0,73 (0,35-1,55) considerando o modelo genotípico assumindo recessividade para o alelo G; e 1,83 (0,33-10,04) considerando o modelo genotípico assumindo recessividade para o alelo A. Os resultados da metanálise fornecem evidência de que a variante genética rs1800629 não está associada ao comprometimento neurocognitivo associado ao HIV; que não existe suporte científico suficiente para sustentar a afirmação da presença ou ausência de associação entre as demais variantes estudadas; e que, portanto, não são suficientes para justificar testes genéticos na prática clínica nesse contexto. Mais estudos são necessários à identificação de variantes genéticas que possam estar associadas a esse tipo de comprometimento neurocognitivo, mas é fundamental que os futuros estudos se atentem às limitações discutidas para que melhores evidências sejam produzidas.

Palavras-chaves: estudo de associação genética, transtorno associado ao HIV, demência associado ao HIV; fator de necrose tumoral alpha, rs1800629.



## **ABSTRACT**

Genetic variability is hypothesized to play a role in HIV-associated neurocognitive impairment susceptibility. We have conducted a systematic review followed by a meta-analysis, when possible, to evaluate different genetic polymorphisms associations beyond apolipoprotein E with HIV-associated neurocognitive impairment. Pooled odds ratio (95% confidence intervals) were calculated. Literature search have identified 196 articles. The only polymorphism evaluated in more than three studies was TNF- $\alpha$ -308 (G/A; rs1800629). Included studies (n = 6) were published between 1998 and 2012, and their samples collection were conducted in the USA (n = 3), Netherlands, Australia, Italy, Austria and Germany totaling 1001 HIV infected patients. Quality assessment using Q-Genie tool indicated issues regarding “the non-technical classification of the exposure”, “sample size and power” and “statistical methods and control for confounding”. Pooled odds ratio indicated no association: 0.69 (0.38-1.24) under allelic model, 0.73 (0.35-1.55) under G-allele recessive model and 1.83 (0.33-10.04) under A-allele recessive model. Our meta-analysis provides no support of association between neurocognitive impairment and TNF- $\alpha$ -308 polymorphism and could not access the role of other polymorphisms reported in primary studies. Hence, genetic testing for any of the evaluated genes has no scientific support at this point in the context of neurocognitive impairment and further studies are necessary to identify genetic variants that may be associated with neurocognitive impairment development. Although it is imperative to observe limitations and criticisms raised in this paper regarding primary genetic association studies before conducting additional replications or exploring new association hypothesis.

Keywords: genetic association study, HIV-associated disorder, HIV-associated dementia, tumor necrosis factor, rs1800629.

# 1. INTRODUÇÃO

## 1.1. HIV/AIDS

A síndrome da imunodeficiência adquirida humana (AIDS), causada pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV), foi caracterizada na década de 1980. Suas primeiras observações clínicas e epidemiológicas datam de 1981, quando foram notados aumentos significativos de doenças típicas de portadores com imunocomprometimento <sup>12</sup>. Em 1982, o Centro de Controle e Prevenção de Doenças dos Estados Unidos, usou o termo “AIDS” pela primeira vez e publicou sua definição. No ano seguinte, o vírus HIV foi isolado <sup>13</sup>. Atualmente, 36,7 milhões (34,0 milhões – 39,8 milhões) de pessoas vivem com esse vírus, que se estima ter sido responsável por mais de 35 milhões de mortes no mundo todo <sup>45</sup>.

Dois tipos de lentivírus pertencentes à família dos retrovírus podem causar a AIDS: o HIV-1, responsável pela maioria das infecções, e o HIV-2, que possui menor taxa de transmissão. Ambos são resultados de múltiplas transmissões do vírus da imunodeficiência simiana entre espécies de primatas <sup>6</sup>. Cada tipo compreende distintas linhagens, sendo quatro grupos diferentes para o HIV-1 (M, N, O e P) e oito para o HIV-2 (A-H). A replicação desses vírus em uma célula segue, basicamente, os seguintes passos:

- forma extracelular do HIV interage com a célula hospedeira, de modo que glicoproteínas virais ligam-se aos receptores CD4 (grupo de diferenciação 4) e aos correceptores (CCR5, receptor de quimiocina do tipo 5, ou CXCR4, receptor de quimiocina CXC do tipo 4) da célula;
- fusão do envelope viral à membrana plasmática, entrada do capsídeo no hospedeiro e desnudamento;
- transcrição reversa do RNA viral (enzima transcriptase reversa);
- integração do DNA viral ao genoma da célula hospedeira (enzima integrase);
- produção e montagem de novos vírus;
- liberação, por brotamento, e maturação viral (enzima protease)<sup>1</sup>.

Os principais alvos do HIV são, portanto, células que produzem CD4 e receptores de quimiocinas (CCR5 e CXCR4), por exemplo, monócitos, macrófagos, células dendríticas e, principalmente, os linfócitos T CD4<sup>+</sup>. Contudo, a infecção de células independente de CD4 também pode acontecer, notavelmente em células epiteliais renais <sup>7</sup> e astrócitos <sup>8</sup>. Assim, a infecção pelo HIV tem um papel importante na patogênese de fenótipos clínicos secundários, como, por exemplo, nefropatias (relacionada às células renais) e transtornos neurocognitivos associados ao HIV (relacionadas aos astrócitos) <sup>9</sup>.

Um portador do HIV pode transmitir o vírus quando alguns fluidos corporais – sangue, sêmen, fluido pré-ejaculatório, fluidos retais, fluidos vaginais e leite materno – entram em contato com uma mucosa, com um tecido danificado ou são diretamente injetados na corrente sanguínea de outra pessoa. Mucosas são encontradas no interior do reto, vagina, pênis e boca. Sendo assim, o vírus HIV é transmitido principalmente por:

- contato sexual;
- exposição parenteral a sangue ou hemoderivados contaminados: transfusão de sangue, compartilhamento de agulhas e acidentes com agulhas;
- de mãe para filho: infecção intrauterina, durante o parto ou, mais comumente, pela amamentação<sup>10</sup>.

As mucosas não são apenas locais primários de transmissão, mas também as principais regiões de replicação viral e destruição de células T CD4<sup>+</sup>, independentemente da via de transmissão <sup>11</sup>. Após multiplicação e amplificação local, células infectadas podem migrar para os linfonodos e, posteriormente, para o resto do corpo, caracterizando um aumento na taxa de replicação do HIV. Nessa fase inicial, normalmente, a viremia é indetectável e a resposta imune, assim como os sintomas da infecção ainda não são visíveis (fase eclipse) <sup>12</sup>. Contudo, a viremia tende a aumentar ainda mais, configurando a fase aguda. Nessa fase, os vírus podem ser encontrados em tecidos linfoides por todo organismo, incluindo timo, baço, órgãos linfoides periféricos, tecidos linfoides das mucosas e até no sistema nervoso central <sup>11</sup>. A maioria das pessoas apresenta um quadro caracterizado por febre, dor de garganta, linfadenopatia e erupção cutânea <sup>13</sup>. Esses sintomas, por serem inespecíficos, normalmente não levam à realização dos testes para o HIV e, conseqüente, diagnóstico. <sup>11</sup>. A alta viremia, após atingir um pico, sofre um declínio, que é associado à resposta imune e à exaustão das principais células alvo, estabilizando-se em um ponto <sup>9,12</sup>. Esse ponto é variável e pode ser utilizado como um preditor da progressão, de maneira que pessoas com níveis virais maiores tendem a progredir para imunodeficiência mais rápido <sup>14,15</sup>, embora haja limitações do seu uso <sup>16</sup>. Marcadores da ativação imune sistêmica parecem, também, ser úteis como preditores do risco de progressão da doença <sup>17-19</sup>.

A estabilização da viremia, que pode ser seguida de um pequeno e progressivo aumento, caracteriza a fase crônica ou “latência clínica” <sup>12</sup>. O indivíduo infectado pelo HIV pode ficar completamente sem sinais ou sintomas de doença, mesmo que sofra uma depleção progressiva de células T CD4<sup>+</sup> da circulação e dos linfonodos, até que a contagem desses linfócitos circulantes diminua o suficiente para caracterizar a imunodeficiência. Portanto, a replicação viral ocorre durante toda a infecção, apesar do termo “latência”, e existe uma interação altamente dinâmica entre a resposta imune do hospedeiro, as tentativas do

hospedeiro para repor as células que são destruídas, e a evolução viral, que parecem diferir entre os vários compartimentos teciduais<sup>20-23</sup>. Na próxima e última fase, conhecida como fase AIDS, ocorre o esgotamento progressivo de células T específicas, caracterizado pela perda da função efetora e pela alta expressão da proteína de morte programada 1 em células T totais e específicas para o HIV<sup>24</sup>. Esse esgotamento ocorre devido à redução da produção e ao aumento da destruição das células T<sup>9</sup>, sendo que o efeito mais importante sobre a homeostase dessas células acontece ainda cedo no trato gastrointestinal, que tem uma redução significativa de células T CD4 ativadas com pequena recuperação após terapia antirretroviral<sup>25</sup>. Além dessa perda de células, ocorrem mudanças nos subconjuntos de células T, incluindo uma diminuição preferencial de células T-helper-17<sup>26</sup> e células T invariáveis associadas à mucosa, as quais são importantes para a defesa contra bactérias<sup>27</sup>. A depleção das células linfoides no trato gastrointestinal, o aumento na permeabilidade desse trato e a apoptose dos enterócitos, levam à maior concentração plasmática de produtos microbianos, tais como os lipopolissacarídeos<sup>28</sup>. Por fim, a destruição da rede de fibroblastos reticulares, a deposição de colágeno e o acesso restrito à interleucina 7 (fator de sobrevivência das células T) no tecido linfóide contribuem ainda para o esgotamento das células T *naive* (ou virgens) CD4 e CD8<sup>29</sup>.

As consequências clínicas da fase AIDS geralmente incluem complicações que são consequências da deficiência na imunidade mediada por células T. Por exemplo, são comuns as infecções oportunistas, causadas tipicamente por organismos como *Pneumocystis jirovecii*, *Toxoplasma gondii*, *Cryptococcus* sp, *Mycobacterium* sp e *Cytomegalovirus*, bem como a ocorrência de doenças malignas relacionadas com agentes patogênicos virais, tais como o linfoma não Hodgkin e o sarcoma de Kaposi. Além do mais, a deficiência imunológica profunda também afeta as defesas humorais, colocando as pessoas infectadas em maior risco de infecção por patógenos como *Streptococcus pneumoniae*<sup>30</sup>. A infecção por HIV também é caracterizada por anormalidades na coagulação e por aumento significativo da ativação imune, incluindo o sistema imune adaptativo e o inato<sup>31</sup>. Os fatores de ativação imune incluem:

- os efeitos diretos do HIV como ligante do receptor *Toll-like* (TLR7 e TLR8), expressos em células dendríticas plasmocitoides, levando à produção de interferon- $\alpha$ <sup>32</sup>;
- translocação microbiana, com lipopolissacarídeo como um potente ativador ou TLR4, que leva à produção de citocinas pró-inflamatórias tais como interleucina 6 e o fator de necrose tumoral  $\alpha$  (TNF-  $\alpha$ )<sup>28</sup>;
- co-infecção com vírus, tais como citomegalovírus, que induzem uma profunda expansão de células T ativadas citomegalovírus-específicas<sup>33</sup>;

- uma proporção reduzida de células T-*helper*-17 e reguladoras, especialmente no trato gastrointestinal <sup>26</sup>.

Existem evidências de inflamação residual ou ativação imune aumentada, mesmo em pacientes com HIV com restauração adequada de células T CD4 em terapia antirretroviral. Marcadores de inflamação residual em pacientes com HIV em terapia antirretroviral são significativamente associados com mortalidade <sup>34</sup>, doença cardiovascular <sup>35</sup>, câncer <sup>36</sup>, doença neurológica <sup>37</sup>, e doença hepática <sup>38</sup>.

O primeiro avanço na terapia contra o HIV foi obtido em 1987, quando um ensaio clínico mostrou que a azidotimidina (AZT, também conhecida como zidovudina) diminuiu a mortalidade e as infecções oportunistas em pacientes com AIDS <sup>39</sup>. No entanto, o vírus desenvolveu resistência rapidamente. O HIV-1, por exemplo, evolui cerca de um milhão de vezes mais rápido do que o DNA de mamíferos <sup>40</sup>, já que a enzima transcriptase reversa é propensa ao erro e o tempo de geração é curto <sup>9,41,42</sup>. Mesmo assim, nos anos seguintes, com o avanço da ciência e com base em conhecimentos sobre o ciclo de replicação do vírus, novas drogas foram desenvolvidas <sup>1</sup>, de maneira que um grande avanço foi feito com a introdução de uma terapia, quase uma década depois. Esta combinou vários medicamentos para limitar o desenvolvimento de resistência, com embasamento em estudos mostrando que a introdução de um inibidor de protease juntamente com dois inibidores nucleosídicos da transcriptase reversa em terapia antirretroviral combinada (CART), popularmente conhecida como “coquetel”, reduziu acentuadamente a morbidade e a mortalidade <sup>41,43,44</sup>. Atualmente, mais de 25 medicamentos licenciados que bloqueiam a replicação do HIV em muitas etapas do ciclo de vida do vírus estão disponíveis, sendo que os regimes de terapia antirretroviral padrão combinam dois inibidores nucleosídicos de transcriptase reversa (entricitabina ou lamivudina em conjunto com um entre abacavir, tenofovir ou zidovudina) com um inibidor não nucleosídico de transcriptase reversa, inibidor de protease ou inibidor de integrase <sup>9</sup>. Os regimes recomendados são menos tóxicos, mais eficazes, têm uma carga de comprimidos menor e são dosados com menor frequência do que os regimes iniciais baseados em inibidores de protease <sup>9</sup>. O sucesso da terapia combinada ao longo da vida é evidenciado, por exemplo, por um estudo no início de 2013, o qual mostrou que a expectativa de vida adulta na África do Sul aumentou em 11 anos no período entre 2003 (pouco antes da CART estar disponível no sistema público de saúde) e 2011, destacando o benefício global para a saúde e a relação custo-eficácia da CART <sup>45</sup>. Além desse, vários estudos demonstraram que o início da CART logo após a infecção tem efeitos benéficos <sup>1</sup>, de modo que a Organização Mundial da Saúde, nas suas diretrizes publicadas em 2015, recomenda o início do tratamento entre adultos independente do estágio clínico e da contagem de células T CD4. Em março de 2015,

a cobertura global da CART para todos os indivíduos vivendo com HIV alcançou a marca de aproximadamente 41%, ou 15 milhões de pessoas.

Apesar da infecção pelo HIV continuar sem cura, os tratamentos disponíveis são responsáveis por melhorar a saúde, prolongar a expectativa de vida e reduzir consideravelmente as taxas de transmissão e mortalidade <sup>19,46</sup>. Desde que a primeira meta de tratamento global foi traçada, em 2003, o número de mortes anuais relacionadas à AIDS diminuiu em 43% <sup>4</sup>. Dessa maneira, nas últimas décadas, a infecção causada pelo HIV se transformou em um modelo de doença crônica, isso é, os comprometimentos causados pela imunodeficiência já não são a principal ameaça, mas um novo conjunto de complicações associadas ao HIV surgiram, resultando em uma doença que para muitos vai abranger várias décadas de vida <sup>19</sup>. Cardiopatias, cânceres, doenças renais, hepáticas, osteopenia/osteoporose e transtornos neurocognitivos, são exemplos dessas complicações, que contribuem para que o HIV seja colocado como uma das maiores causas de incapacidade global <sup>9,19,47</sup>.

## 1.2. HAND

Distúrbios neurocognitivos associados ao HIV foram frequentemente observados em populações infectadas desde o início da epidemia de HIV/AIDS <sup>48,49</sup>. No entanto, a caracterização clínica foi, pela primeira vez, sistematicamente descrita e nomeada Complexo de Demência da AIDS, em 1986 <sup>50</sup>. Desde então, alguns outros termos foram utilizados para descrever essa síndrome, incluindo demência *relacionada ao HIV*, demência relacionada à AIDS e encefalite subaguda. Em 1990, a Organização Mundial da Saúde e, em 1991, a Academia Americana de Neurologia (AAN), publicaram um critério de diagnóstico e uma terminologia para a doença, cunhando o termo *complexo cognitivo/motor associado ao HIV-1*, que incluía dois níveis de comprometimento neurocognitivo: a *demência associada ao HIV* e o *transtorno cognitivo/motor menor associado ao HIV-1* <sup>48</sup>. Desde 1991, evidências de uma forma mais leve de comprometimento cognitivo <sup>51</sup> mostraram que o critério diagnóstico precisava de uma atualização que incluísse todo o espectro de déficits neurocognitivos devido ao HIV. O critério desenvolvido pela AAN foi revisado e atualizado em 2007, por um grupo de trabalho montado em Frascati, na Itália, dando origem ao critério de Frascati <sup>49</sup>. O termo para essa classificação mais ampla é *transtorno neurocognitivo associado ao HIV (HAND, do inglês, HIV-associated neurocognitive disorders)*, que inclui a *demência associada ao HIV (HAD, do inglês, HIV-associated dementia)* e formas mais leves conhecidas como transtorno neurocognitivo leve (*MND, do inglês, HIV-associated mild neurocognitive disorder*) e transtorno neurocognitivo assintomático (*ANI, do inglês, asymptomatic neurocognitive impairment*) <sup>49,52,53</sup>. A concordância diagnóstica entre os critérios é boa, entretanto o critério de 2007 aborda as limitações dos anteriores, identificando e classificando mais precisamente os indivíduos com estágios mais leves de HAND <sup>52</sup>. A categoria ANI, por exemplo, ajuda a detectar sinais precoces de comprometimento neurocognitivo que não eram percebidos com os critérios mais antigos <sup>54</sup>. Portanto, apesar de ser assintomática, essa categoria é clinicamente relevante porque seus portadores podem ser mais propensos a fazer a transição para as formas mais graves de HAND: por exemplo, os participantes do CHARTER (do inglês, *Central Nervous System HIV Antiretroviral Therapy Effects Research*) diagnosticados com ANI no início do estudo foram de duas a seis vezes mais propensos a desenvolver HAND de maneira sintomática, se comparados àqueles que tinham avaliações neurocognitivas normais <sup>55</sup>.

As três categorias que compreendem o HAND (ANI, MND e HAD) podem ser classificadas utilizando uma variedade de métodos clínicos e laboratoriais específicos, a depender dos recursos disponíveis no ambiente onde os pacientes estão sendo avaliados. Contudo, procedimentos padronizados devem ser seguidos sempre que possível, tanto para coletar as

informações necessárias quanto para interpreta-las, possibilitando a realização de três tipos de determinação:

- presença e a gravidade do comprometimento neurocognitivo;
- presença e a gravidade do declínio funcional;
- grau de susceptibilidade do comprometimento cognitivo ou do declínio funcional a influência de condições comórbidas ou confundidoras (incluindo condições oportunistas relacionadas ao HIV, confundidores psiquiátricos, neuromédicos ou de desenvolvimento não relacionadas) <sup>49</sup>.

O diagnóstico diferencial depende de avaliação neuropsicológica, que deve examinar pelo menos as seguintes habilidades: verbal/linguagem; atenção/memória de trabalho; abstração/executivo; memória (aprendizagem); velocidade de processamento da informação; perceptivo-sensoriais, habilidades motoras <sup>49</sup>. As categorias ANI e MND requerem comprometimento neuropsicológico que envolva dois ou mais domínios de habilidade. Enquanto o MND possui uma interferência de leve a moderada no funcionamento diário, o ANI não interfere. Já a categoria HAD requer comprometimento neuropsicológico evidente que envolva dois ou mais domínios de habilidade e tenha uma interferência significativa no funcionamento diário. Os comprometimentos neuropsicológicos não devem ser facilmente atribuíveis a condições comórbidas <sup>49,54,56</sup>. Portanto, déficits cognitivos associados à idade, abuso de álcool e outras substâncias, co-infecção viral, deficiências nutricionais, aterosclerose acelerada, lesão cerebral traumática, distúrbios do sono e doenças psiquiátricas devem ser consideradas <sup>54</sup>.

Os tratamentos contra o HIV mudaram o curso do HAND, assim como fizeram com a infecção pelo HIV ao longo das últimas décadas. Na era pré-CART, a categoria HAD era a forma mais comum de HAND <sup>57</sup>. Posteriormente, a prevalência de HAD diminuiu substancialmente, com a implementação da CART: antes de 1991, 20% dos participantes no Multicenter AIDS Cohort Study preenchiam os critérios de HAD, enquanto que apenas 5% preencheram os critérios em 2001-2003 <sup>58,59</sup>. A prevalência de HAD em outras coortes de anos mais recentes é ainda menor, como 2%, por exemplo, no CHARTER <sup>56</sup>. Como resultado, a forma mais grave de HAND se tornou rara e as outras passaram a predominar, de modo que 70% dos participantes com comprometimento neurocognitivo dessa coorte foram considerados com ANI. As características clínicas do HAND também mudaram com a CART. Na era pré-CART, déficits em habilidades motoras e velocidade psicomotora foram as manifestações mais comuns, enquanto que na pós-CART, déficits em aprendizagem e/ou memória e função executiva são os sintomas mais frequentes <sup>60</sup>.



A utilização da CART diminuiu significativamente a prevalência de HAD, mas a prevalência geral de HAND e morbidades associadas permanecem altas, chegando à, aproximadamente, 50%, o que é similar à era pré-CART <sup>56,59,61,62</sup>. Dessa maneira, o desenvolvimento de HAND continua sendo uma questão importante para os pacientes HIV positivos, já que afeta a sobrevivência, a qualidade de vida e as atividades diárias. Além do mais, o impacto global a longo prazo de HAND se tornará ainda mais significativo à medida que o CART se torna mais amplamente distribuído, aumentando a expectativa de vida <sup>54,56,63</sup>.

A fisiopatologia do HAND está associada à infecção do sistema nervoso central (SNC) <sup>53</sup>. O HIV entra nesse sistema no início da infecção, ao cruzar a barreira hematoencefálica via linfócitos e monócitos infectados, que posteriormente se diferenciam em macrófagos (método “Cavalo de Troia”) <sup>64,65</sup>. Consequentemente, as células vizinhas são infectadas por contato direto, incluindo macrófagos perivasculares, astrócitos e células da micróglia <sup>66,67</sup>. Os macrófagos e as células microgliais infectadas liberam proteínas virais que causam danos neuronais, caracterizando o modelo direto <sup>67,68</sup>. Essas proteínas neurotóxicas desencadeiam a ativação dos astrócitos, o que resulta em aumento da liberação e redução da absorção de glutamato. Níveis elevados de glutamato extracelular causam distúrbios bioenergéticos neuronais que levam a lesão neuronal <sup>54</sup>. Além do mais, a resposta inflamatória na circulação sistêmica também é reconhecida como um fator chave na patogênese do HIV, tanto na periferia quanto no SNC <sup>69</sup>. No SNC, há evidências de que esta resposta piora ou impulsiona o desenvolvimento de HAND, possivelmente de maneira independente da replicação viral <sup>70-73</sup>. A inflamação sistêmica e os produtos de translocação microbiana levam à ativação microglial e ao aumento da produção de quimiocinas e citocinas que contribuem para lesão dos neurônios <sup>54</sup>. A morte neuronal mediada por resposta inflamatória, montada por células não neuronais infectadas e não infectadas, contra a infecção pelo HIV e contra as proteínas liberadas por células infectadas caracteriza o modelo indireto <sup>67,68</sup>.

As manifestações neuropatológicas da infecção pelo HIV-1 geralmente são referidas como encefalite pelo HIV (HIVE) e compreendem nódulos microgliais, micróglia residente ativada, células gigantes multinucleadas, infiltração predominantemente por células monocitóides, incluindo macrófagos derivados de sangue, astrocitose reativa generalizada, palidez da mielina, e diminuição da densidade sináptica e dendrítica, além de perda neuronal <sup>68,74-76</sup>. Diferentes regiões do SNC podem ser alvo de lesões e perdas neuronais associadas ao HIV-1, como o córtex frontal <sup>77,78</sup>, a substância negra <sup>79</sup>, o cerebelo <sup>80</sup> e o putâmen <sup>81</sup>. A introdução do CART culminou em algumas mudanças dessa neuropatologia <sup>76,82,83</sup>. Na era pré-CART a neuroinflamação era comumente observada em pacientes com HIV e geralmente aumentava ao longo da progressão da doença de indivíduos infectados do estágio assintomático da doença para AIDS e HAD <sup>84</sup>. Com a chegada da CART, a neuroinflamação persistiu ou até

aumentou, no entanto de maneira diferente, com os locais afetados sendo alterados. Anteriormente ao uso da CART, um forte envolvimento dos gânglios basais foi observado, enquanto que espécimes pós-CART exibem sinais proeminentes de inflamação no hipocampo e partes adjacentes do córtex entorrinal e temporal <sup>76</sup>. Portanto, a CART pareceu limitar ou mesmo impedir a infiltração de linfócitos no SNC, com exceção da síndrome inflamatória de reconstituição imunológica, que se caracteriza por linfocitose, desmielinização e danos à substância branca <sup>76,82</sup>.

Fatores que afetam a fisiopatologia de HAND podem, conseqüentemente, interferir no risco de desenvolver comprometimentos neurocognitivos. Por exemplo, idade avançada; baixa contagem de células T CD4+ nadir; uso de drogas de abuso; co-infecção por hepatite C; fatores de risco cerebrovasculares (diabetes, hipertensão, hipercolesterolemia, obesidade); transtornos do sono e comorbidades psiquiátricas são fatores de risco para HAND na era CART <sup>54</sup>. Da mesma maneira, fatores que afetam o risco de desenvolver HAND podem, conseqüentemente, ajudar a explicar sua fisiopatologia. A variação de algumas dessas características biológicas que afetam a chance de desenvolver ou progredir com o comprometimento neurocognitivo são mensuráveis <sup>85</sup>. Estas são denominadas biomarcadores e podem ser utilizadas como indicadores de processos biológicos normais, processos patogênicos ou respostas farmacológicas à intervenções terapêuticas, por exemplo <sup>86</sup>.

No contexto do HAND, os biomarcadores conhecidos podem ser classificados em quatro grupos: marcadores solúveis de ativação imune, marcadores de estresse metabólico ou celular, marcadores de lesões neuronais e marcadores de neuroimagem <sup>54</sup>. A maioria desses biomarcadores estão associados mais especificamente à HAD e não à ANI ou MND <sup>61,87-92</sup>, que são as categorias mais comuns na era pós-CART <sup>56,58,59</sup>. Dessa maneira, a validação de biomarcadores para estas formas menos severas e mais prevalentes é necessária, pois ajudaria a diagnosticar e delinear com mais precisão os estágios iniciais de HAND, dada a dificuldade em distinguir ANI e MND de outras comorbidades, e a prever o agravamento cognitivo (esperado em 23% dos pacientes com ANI <sup>93</sup>). Além disso, esses biomarcadores possibilitariam um tratamento em um estágio mais recente, quando as intervenções provavelmente terão maior impacto <sup>54</sup>. A identificação de biomarcadores associados à melhoria cognitiva também é importante, pois permitiria uma avaliação mais precisa das intervenções em fase I/II de ensaios clínicos, que são curtos para avaliação confiável da eficácia com testes neuropsicológicos <sup>54</sup>. Portanto, biomarcadores podem ser extremamente úteis, auxiliando no diagnóstico clínico e, também, identificando mecanismos de patogênese e, estimulando esforços na prevenção e tratamento <sup>94</sup>.

Variações na sequência de DNA dos hospedeiros podem impactar processos biológicos como o risco de comprometimento neurocognitivo, o progresso desse comprometimento e a resposta aos medicamentos antirretrovirais <sup>95</sup>. Assim, uma das formas de buscar por biomarcadores é por meio de estudos de associação genética: como os estudos de gene candidato, que avaliam a associação entre um gene candidato (definido com base em um racional biológico) e o fenótipo de interesse, em um modelo caso-controle <sup>96,97</sup>; ou estudos de associação genômica ampla (GWAS), que avaliam todo o genoma (independente de um racional biológico), buscando por variações associadas ao fenótipo de interesse <sup>98</sup>. Esse tipo de marcador apresenta a vantagem de sofrer poucas influências ambientais e ser facilmente mensurável, podendo ser importante no estudo de desordens psiquiátricas e neurológicas <sup>95</sup>. A presença do alelo E4 do gene da ApoE (apolipoproteína E), por exemplo, é um preditor do risco de desenvolver a doença de Alzheimer <sup>99</sup>, de forma que indivíduos homocigotos para esse alelo apresentam chance de desenvolver essa doença 30 vezes maior em algumas populações <sup>100</sup>. Dessa maneira, fatores genéticos recebem cada vez mais atenção no campo de HAND, tanto como um meio para identificar fatores de risco, quanto para ajudar a delinear a neuropatogênese <sup>95</sup>.

### 1.3. Genética de HAND

Transtornos complexos são multifatoriais, ou seja, causados por diversos fatores genéticos e ambientais. Além disso, são caracterizados por alta prevalência populacional, heterogeneidade etiológica e fenotípica, falta de padrões claros de transmissão mendeliana e estão envolvidos em um contínuo entre estados de doença e não-doença <sup>101</sup>. O mecanismo pelo qual o vírus HIV leva ao HAND é multifatorial, de maneira que não poderá ser atribuído a apenas um processo patogênico especificamente, mas a vários processos que resultam em desregulação e disfunção sistêmica <sup>98</sup>. Atualmente, vários fatores são úteis para identificar indivíduos que estão em risco para HAND, incluindo:

- características demográficas <sup>102-104</sup>;
- comorbidades médicas <sup>105-109</sup>;
- comportamentos relacionados com o estilo de vida, em especial abuso de substâncias <sup>110-112</sup>.

Além desses, fatores genéticos do hospedeiro também podem ser úteis, pois afetam a susceptibilidade à infecção pelo HIV e a progressão da doença <sup>113-117</sup>. Muitos estudos de genes candidatos e dois GWAS, abrangendo as eras pré e pós-CART, focando principalmente em HAD com ou sem encefalite, identificaram variantes em genes como potenciais modificadores de risco, mas poucas associações foram replicadas em estudos subsequentes <sup>95,118</sup>. Os genes mais analisados podem ser incluídos em duas classes: os relacionados à inflamação ou regulação imune e os relacionados às catecolaminas ou, mais especificamente, à dopamina (DA).

Com relação a primeira classe, existe uma grande variedade de fatores imunológicos que foram associados ao estado neuroinflamatório crônico característico de HAND, incluindo citocinas, quimiocinas e receptores de superfície celular <sup>119</sup>. Estão entre os principais candidatos já analisados:

- o gene da apolipoproteína E (*APOE*. OMIM: 107741) <sup>116,118,120-137</sup>. Esta é uma proteína envolvida no metabolismo de lipídios (colesterol e glicérides) e lipoproteínas, mas que também participa da resposta imune inata e adquirida <sup>138,139</sup>. Variações nesse gene estão associadas com o desenvolvimento de outros comprometimentos neurocognitivos, como a doença de Alzheimer <sup>99,100</sup>. Dessa maneira, esse gene também se tornou de interesse na patogênese de HAND;
- o gene do fator de necrose tumoral alfa (*TNF*. OMIM: 191160) <sup>118,122,124,140-143</sup>. Este fator é uma citocina inflamatória, produzida por macrófagos e micróglia, que está envolvida na apoptose, replicação viral e na regulação de células imunes <sup>144,145</sup>. Um polimorfismo de

nucleotídeo único (SNP) na região promotora desse gene, transição de A para G no sítio -308 (rs1800629), afeta a síntese de TNF- $\alpha$ , de maneira que a presença de adenina nesse sítio está associada à uma produção elevada em resposta a endotoxina se comparada a presença do alelo G, mais comum <sup>146</sup>. Níveis dessa citocina e de seu RNAm foram encontrados aumentados em cérebros de indivíduos com demência associada ao HIV <sup>147-149</sup>. O TNF- $\alpha$  elevado possui vários efeitos adversos no cérebro, incluindo a potenciação da neurotoxicidade do glutamato <sup>150</sup>, a perturbação do transporte iônico em astrócitos <sup>151</sup>, danificando oligodendrócitos e neurônios <sup>124,152</sup>, e aumentando a permeabilidade da barreira hematoencefálica <sup>153</sup>;

- o gene do receptor de quimiocina do tipo 5 (*CCR5*. OMIM: 601373) <sup>118,127,154-157</sup>, que é o correceptor mais comum utilizado pelo HIV-1 para entrar nas células hospedeiras <sup>95</sup>. Uma deleção de 32 pares de bases nesse gene, denominada alelo *CCR5-D32* (rs333), leva à mudanças estruturais nesse correceptor, conferindo alta resistência à infecção pelo HIV nos pacientes homozigotos <sup>158</sup>;

- o gene da proteína quimioatrativa de monócitos (*MCP-1* ou *CCL2*. OMIM: 158105) <sup>118,127,136,142,143,157,159-161</sup>. Esta é uma quimiocina que recruta monócitos e outras células imunes para o SNC e, portanto, acredita-se ser parcialmente responsável pela resposta neuroinflamatória <sup>95</sup>. Um SNP nesse gene, resultando no alelo *MCP-1-2578* (rs1024610), leva à níveis aumentados de MCP-1 no soro <sup>162</sup> e no líquido cefalorraquidiano <sup>163</sup>, justificando a possibilidade de associação com a progressão acelerada da doença e risco aumentado de HAND. Do mesmo modo, polimorfismos no gene do fator de transcrição que se liga à região promotora do gene *MCP-1* (gene *PREP1* - rs2839619) <sup>118</sup> e no gene que codifica o receptor da proteína MCP-1 (gene *CCR2* - rs1799864) também foram candidatos <sup>118,155-157,164</sup>;

- o gene do fator derivado de células estromais-1 (*SDF-1*, também chamado de ligante de quimiocina *CXC*, ou *CXCL12*. OMIM: 600835) <sup>142,156,164</sup>. Este fator é um ligante do correceptor de quimiocina CXCR4 e, dessa forma, compete com o HIV pelo CXCR4, inibindo sua transmissão, principalmente pela alta expressão no epitélio genital e anal <sup>165</sup>. No contexto de HAND, no entanto, os níveis de RNAm de SDF-1 foram elevados em HIVE quando comparados com controles não infectados <sup>166</sup>, sugerindo associação dessa quimiocina à patogênese de HAND. Esta hipótese é reforçada por evidências de estudos *in vitro* demonstrando que SDF-1 é tóxico para neurônios <sup>68,166,167</sup>. Portanto, uma variação no gene *SDF-1* que altere a sua expressão, como o alelo *SDF-1-3'-A* (rs1801157), pode afetar a chance de desenvolver HAND.

- o gene da proteína inflamatória de macrófago-1 $\alpha$  (*MIP-1  $\alpha$* , também conhecido como *CCL3*. OMIM: 182283) <sup>118,142,143</sup>, que é uma quimiocina ligante natural do CCR5. Esta é produzida

pela micróglia e por astrócitos, sendo que sua expressão foi encontrada aumentada em cérebros de indivíduos com HIV<sup>168</sup>. Dessa forma, um SNP (rs1130371) dentro desse gene pode estar associado com a progressão da doença e com um risco maior de comprometimento neurocognitivo<sup>142,169</sup>;

Com relação a segunda classe (genes relacionados às catecolaminas), alguns estudos mostram que a incidência e/ou gravidade de HAND/HAD é aumentada com o uso concomitante de drogas de abuso, como a cocaína, maconha e metanfetamina, de maneira que a exposição a essas drogas aumenta os níveis de dopamina no cérebro<sup>110,170-174</sup>. Esse aumento ativa macrófagos, que possuem os receptores de dopamina 1 e 2, favorecendo a replicação do HIV, o que parece estar envolvido com a patogênese desse vírus e, conseqüentemente, poderia acelerar o desenvolvimento de HAND<sup>175</sup>. Nesse sentido, polimorfismos em genes relacionados à dopamina, resultando em diferenças mensuráveis no funcionamento neurofisiológico e neurocognitivo, são possíveis candidatos<sup>95</sup>. Entre os mais frequentemente analisados estão:

-o alelo val158met (rs4680) do gene catecol-O-metil-transferase (*COMT*. OMIM: 116790)<sup>143,176,177</sup>. A COMT é uma enzima envolvida na degradação metabólica da dopamina liberada, principalmente no córtex pré-frontal<sup>176</sup>;

-a repetição em tandem variável 3'-não traduzida de 40 pares de bases do transportador de dopamina-1 (*DAT-1* ou *SLC6A3*. OMIM: 126455)<sup>177,178</sup> [104-109];

-o alelo val66met (rs6265) do gene do fator neurotrófico derivado do cérebro (*BDNF*. OMIM: 113505)<sup>143,177</sup>[110-117]. Esse fator possui um papel regulatório nos sistemas da dopamina e serotonina<sup>179,180</sup>.

Embora o efeito dessas variantes nos fenótipos neurocognitivos seja pequeno, é concebível que entre os indivíduos vulneráveis nos quais o funcionamento da dopamina esteja comprometido, como os portadores do HIV, os efeitos sejam aditivos ou sinérgicos<sup>95</sup>.

Em 1997, Dunlop e cols. publicaram o primeiro trabalho com gene candidato, analisando o gene da ApoE (rs429358 e rs7412) em 132 pacientes adultos com AIDS<sup>120</sup>. Não foi encontrada associação entre esse gene e demência ou encefalite associadas ao HIV. Posteriormente, Corder e cols., em 1998, analisando o mesmo gene em 44 pacientes adultos com HIV, mostraram que portadores do alelo E4 da ApoE foram duas vezes mais propensos a serem diagnosticados com demência durante o estudo. Além disso, a combinação do alelo E4 e de baixos níveis de CD4<sup>+</sup> aumentou o risco de demência ao longo do tempo. Por fim, portadores do alelo E4 também foram mais propensos a ter neuropatia periférica<sup>121</sup>. Depois da ApoE, o segundo gene analisado foi o TNF- $\alpha$  (rs1800629). Ainda em 1998, Sato-

Matsumura e cols. fizeram um estudo utilizando amostras do cérebro de autópsias em 74 pacientes com AIDS, sendo que 44 portavam HIVE ou leucoencefalopatia associada ao HIV e os outros 30 formaram o grupo controle. Não houve diferença significativa entre os dois grupos <sup>140</sup>. Posteriormente, Quasney e cols., em 2001, encontraram um resultado diferente, analisando o mesmo gene em 231 indivíduos controles HIV negativos e 71 indivíduos HIV positivos, sendo 16 com demência e 45 sem demência. A frequência do alelo A do gene TNF- $\alpha$  (rs1800629) foi significativamente maior no grupo de indivíduos HIV positivos com demência se comparado aos outros dois grupos <sup>141</sup>. Além desses, outros trabalhos analisaram novamente os mesmos e outros polimorfismos, de maneira que, até o momento, nenhuma das associações entre esses polimorfismos e os fenótipos relacionados com HAND foi consistente, ou seja, não existe embasamento científico para afirmar a existência ou não existência de associação.

Além dos estudos de genes candidatos, dois estudos de associação genômica ampla foram realizados, em 2011<sup>181</sup> e em 2012<sup>98</sup>, sendo que apenas o último focou em HAND. Ambos não encontraram resultados significativos, de maneira que as associações mais significativas encontradas foram no gene *DYRK1A* ( $p = 2,16 \times 10^{-5}$ ) pelo primeiro estudo; e nos genes *SLC8A1* ( $p = 3,31 \times 10^{-7}$ ) e *NALCN* ( $p = 6,63 \times 10^{-7}$ ), pelo segundo estudo <sup>95,98,181</sup>. Assim, nenhuma variação genética previamente associada com HAND foi replicada no GWAS, bem como não houve a identificação de novos polimorfismos.

As evidências disponíveis não são, portanto, consistentes o suficiente para justificar testes genéticos na prática clínica. A incapacidade de identificar essas variantes genéticas, caso elas existam, pode estar relacionada com a heterogeneidade dos estudos primários, com o tamanho amostral, com o baixo poder estatístico e/ou com fato de ser pouco provável que um ou alguns loci de susceptibilidade genética confirmem uma grande proporção do risco para HAND e sejam, assim, facilmente detectáveis <sup>182</sup>. Dessa maneira, métodos que permitam a compilação de resultados podem ajudar na identificação dessas variantes e fornecer informações importantes sobre a neuropatogênese, além de auxiliar as diretrizes de tratamento e prevenção <sup>95</sup>.

#### 1.4. Revisão Sistemática e Metanálise

A síntese de informação se torna cada vez mais importante em um contexto onde o grande número de publicações não consegue ser convertido em mudanças de práticas ou em conhecimento aplicável. No âmbito da genética, por exemplo, o advento das tecnologias de genotipagem, permitindo testar muitas variantes genéticas em menos tempo, aumentou a quantidade de estudos de associação publicados consideravelmente nas últimas décadas<sup>183,184</sup> (figura 1). Uma das opções metodológicas para combinar dados de múltiplos estudos é tradicionalmente a revisão narrativa. Um especialista em determinada área aborda estudos associados a uma pergunta, compila os achados e escreve uma conclusão. No entanto, essa metodologia possui algumas limitações que devem ser consideradas<sup>185</sup>. Esse tipo de revisão raramente indica como os estudos primários foram incluídos, qual critério foi utilizado para definir a qualidade desses estudos ou como os achados foram compilados para chegar às conclusões. Dessa maneira, dois autores poderiam fazer uma revisão narrativa para responder uma mesma pergunta e chegar a conclusões diferentes, ou seja, esse tipo de revisão pode dar suporte ou reforçar a visão do autor e não necessariamente estar de acordo com as evidências científicas disponíveis, sendo, portanto, mais propensa à viés e erro<sup>183,186-188</sup>.

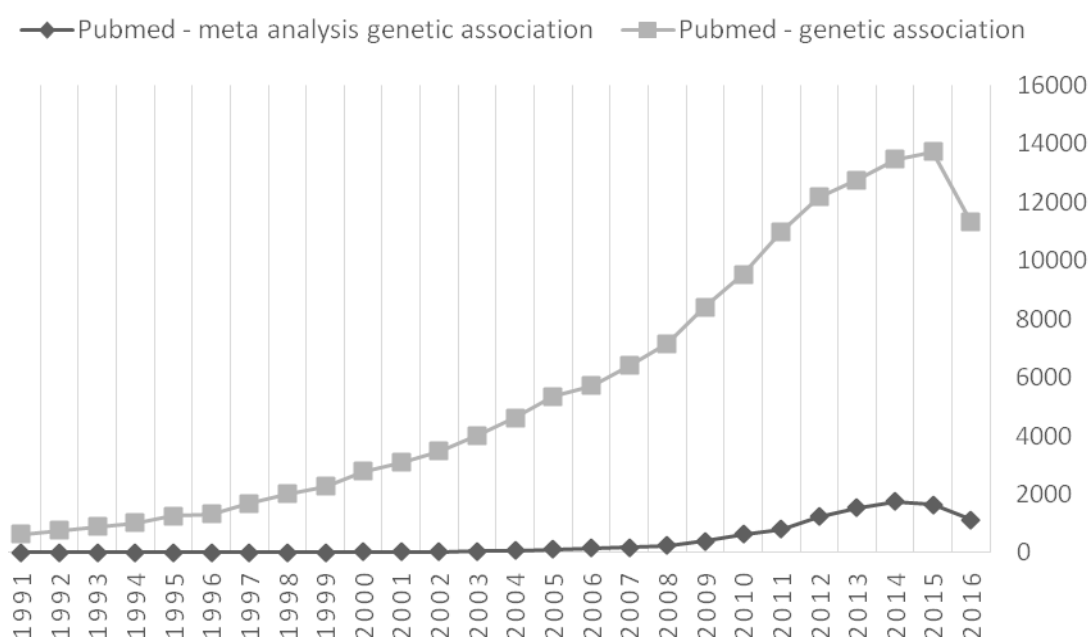


Figura 1. Número de estudos com os termos “meta analysis genetic association” e “genetic association” no banco de dados Pubmed entre 1991 e 2016.

Uma alternativa mais recente é a revisão sistemática. Essa metodologia usa um conjunto claro de regras de modo a fazer uma revisão mais objetiva, transparente e passível de reprodução, ou seja, todas as decisões devem ser especificadas, de maneira que outro autor, ao seguir os mesmos passos, poderá chegar as mesmas conclusões<sup>183,185,187,189</sup>. Os revisores devem



estabelecer os critérios de inclusão e exclusão dos estudos primários previamente, fazendo, posteriormente, a busca por todos os estudos disponíveis, utilizando várias fontes, o que inclui a literatura publicada, materiais suplementares, base de dados online e comunicação com autores dos estudos <sup>186</sup>. Essa medida minimiza o viés de seleção baseado, por exemplo, no resultado ou na repercussão das publicações <sup>183,187</sup>. A qualidade dos estudos incluídos também é avaliada por critérios pré-estabelecidos, como o QUADAS (Quality Assessment of Diagnostic Accuracy Studies)<sup>190</sup>, usado para estudos diagnósticos, a escala de Newcastle Ottawa <sup>191</sup>, para estudos observacionais e o Q-Genie (Quality of genetic association studies)<sup>192</sup>, para estudos de associação genética. Esse último critério é uma ferramenta que, por meio de 11 perguntas que devem ser respondidas em uma escala de 1 a 7 (onde 1 significa qualidade pobre e 7 significa qualidade excelente), avalia a qualidade dos estudos com base nas seguintes dimensões: base científica para o desenvolvimento da pergunta a ser respondida pelo estudo; verificação dos grupos de comparação (casos e controles); classificação técnica e não técnica da variante genética testada; classificação do resultado; discussão das fontes de viés; adequação do tamanho da amostra; descrição das análises estatísticas planejadas; métodos estatísticos utilizados; teste de hipóteses nos estudos genéticos (por exemplo, concordância com o equilíbrio Hardy-Weinberg) e interpretação adequada dos resultados. Além disso, a revisão sistemática pode ter uma abordagem quantitativa e utilizar de metodologia estatística para compilar resultados dos estudos primários incluídos, conhecida como metanálise <sup>183,186</sup>. Essa compilação é feita com base em critérios estatísticos especificados antecipadamente, o que não acontece na revisão narrativa, onde os revisores implicitamente atribuem algum nível de importância a cada estudo <sup>187</sup>. Embora ainda se possa diferir sobre o significado substantivo dos resultados (como se poderia para um estudo primário), a análise estatística fornece um quadro transparente, objetivo e replicável para esta discussão <sup>185</sup>.

Na metanálise é realizada uma média ponderada computada a partir do tamanho do efeito e da variância da estimativa de cada estudo individual, de maneira que, o resultado compilado fornecerá uma estimativa mais precisa <sup>193</sup>. É importante, então, garantir que os estudos individuais estão medindo a mesma coisa e são, portanto, comparáveis e passíveis de terem seus resultados compilados <sup>185,194</sup>. O tamanho do efeito pode ser representado de diferentes formas, sendo que a sua apresentação deve fazer sentido, de acordo com os resultados, isto é, ele deve ser interpretável <sup>185</sup>. Se os estudos primários analisados apresentarem seus dados baseados em médias e desvio padrão nos dois grupos, o tamanho do efeito apropriado será geralmente a diferença bruta entre as médias, a diferença padronizada entre as médias ou a razão de resposta. Se os dados forem baseados em desfechos dicotômicos nos dois grupos (exemplo: evento e não-evento), então o tamanho do efeito apropriado será a razão de

chances, a razão de risco ou a diferença de riscos. Finalmente, se os dados forem correlações entre duas variáveis, o coeficiente de correlação propriamente dito servirá como tamanho de efeito <sup>185</sup>.

A síntese dos efeitos é feita de modo que são atribuídos pesos a cada estudo, geralmente, conferindo maior peso aos estudos mais precisos. As regras para definir como dar os pesos dependem das suposições sobre a distribuição dos efeitos verdadeiros <sup>185</sup>. Se o autor assume que todos os estudos analisados compartilham o mesmo tamanho de efeito verdadeiro, então ele deve usar o modelo de efeito fixo, isto é, espera-se que o efeito de cada estudo seja exatamente o mesmo e a variação observada entre esses efeitos será devido apenas ao erro de amostragem; mas se ele assumir que o tamanho do efeito verdadeiro varia de um estudo para outro, então ele deve usar o modelo de efeitos aleatórios, ou seja, espera-se que exista uma variação entre os efeitos verdadeiros de cada estudo, além da variação devido ao erro de amostragem <sup>185,193,195,196</sup>.

O resultado de uma metanálise pode ser representado por um gráfico, conhecido como forest plot. A figura 2 mostra, como exemplo, uma metanálise da associação entre o genótipo E4/E4 (gene da Apolipoproteína E) e a doença de Alzheimer, na população chinesa <sup>197</sup>.

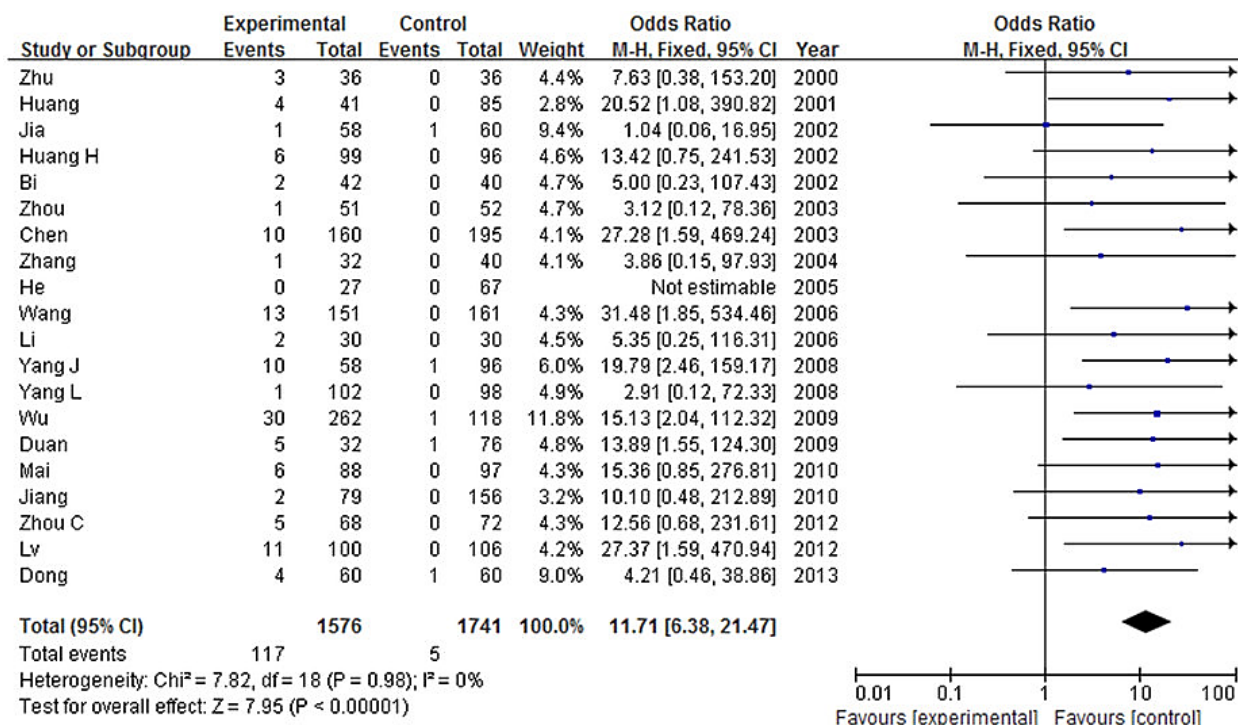


Figura 2. Forest plot de uma metanálise<sup>197</sup>.

Na coluna à esquerda estão listados os estudos primários, seguidos de suas características e resultados. Estes são representados à direita da figura por quadrados, de maneira que a posição central do quadrado representa a estimativa pontual do efeito de cada estudo (a razão de chances, nesse caso), o tamanho desse quadrado representa o peso e a linha horizontal o intervalo de confiança. Se este intervalo incluir o valor um (linha vertical), isso indica que não existe significância, ou seja, o valor  $p$  é maior do que o nível de significância estabelecido. Nesse caso, especificamente, significa que não há associação entre o genótipo analisado e a doença de Alzheimer. Por fim, o resultado da metanálise é representado por um losango (também chamado de diamante), de modo que a sua posição central representa a estimativa pontual do efeito combinado e sua largura representa o intervalo de confiança. No exemplo apresentado, podemos concluir, então, que existe associação entre o genótipo E4/E4 (gene da Apolipoproteína E) e a doença de Alzheimer, na população chinesa, de forma que um indivíduo portador desse genótipo nessa população possui uma chance quase onze vezes maior de ter a doença de Alzheimer se comparado a um indivíduo controle <sup>197</sup>.

Ao explorar a totalidade das evidências, as metanálises oferecem maior poder para detectar associações e maior precisão na estimativa de sua magnitude do que os estudos originais <sup>183</sup>. No exemplo da figura 2, dos vinte estudos analisados, sete tiveram resultados estatisticamente significantes, enquanto onze não foram significativos. Um estudo pode não se mostrar significativo mesmo quando existe efeito verdadeiro (falso negativo ou erro do tipo II), sendo que este pode ser até maior do que em um estudo que se mostrou significativo, se o tamanho da amostra for pequeno e o estudo tiver baixo poder estatístico. Em contrapartida, a metanálise permite combinar os efeitos e avaliar a significância estatística do efeito combinado, aumentando o poder estatístico <sup>185</sup>. Além disso, é importante perceber que a análise focada no valor  $p$ , comumente feita em revisões narrativas, permite responder apenas se existe ou não efeito, enquanto que, uma revisão sistemática com metanálise, permite computar uma estimativa do tamanho do efeito, o que pode fazer mais sentido de ser respondido para uma tomada de decisão <sup>185</sup>. Por exemplo, um estudo encontrou associação entre a doença de Alzheimer e dois polimorfismos diferentes. Para um polimorfismo o teste de hipóteses de associação resultou em  $p = 0,03$  e para o outro  $p = 0,0001$ . Ao analisar o tamanho da magnitude do efeito, o primeiro polimorfismo aumentou em nove vezes a chance de ter a doença, enquanto que o segundo aumentou em duas vezes essa chance. Para a escolha de um biomarcador, por exemplo, conhecer o tamanho do efeito é, portanto, mais importante do que, simplesmente, identificar se a associação é ou não significativa.

Dessa maneira, a melhor precisão da estimativa combinada e o aumento de poder estatístico oferecido por esse tipo de metodologia se tornou especialmente importante e cada vez mais frequente no âmbito da genética (figura 1), já que existe um crescente número de estudos de

associação relacionados à doenças comuns e espera-se que estas sejam associadas a variantes genéticas com efeitos de pequena magnitude <sup>182</sup>. Ademais, quando conduzidas adequadamente, revisões sistemáticas e metanálises são consideradas o nível mais alto de evidência científica, justificando sua utilização, cada vez maior, também, para a tomada de decisão na prática clínica <sup>189</sup>. Desse modo, com o objetivo de ajudar autores a publicarem esse tipo de estudo com maior qualidade, foi elaborado um guia denominado PRISMA (do inglês, Preferred Reporting Items for Systematic reviews and Meta-Analyses)<sup>198</sup>. Este consiste em uma lista de verificação com 27 itens, que incluem desde o título e resumo aos resultados e discussão, além de um diagrama de fluxo com quatro fases. O PRISMA pode ainda ser útil para a avaliação crítica de revisões sistemáticas já publicadas, contudo não é considerado um instrumento para avaliação de qualidade. Portanto, a avaliação da susceptibilidade genética do comprometimento neurocognitivo associado ao HIV nesse trabalho foi realizada por meio de uma revisão sistemática com metanálise utilizando o PRISMA.

**2. CAPÍTULO 1: Artigo “Genetic susceptibility of HIV-associated neurocognitive impairment beyond apolipoprotein E: a PRISMA compliant meta-analysis”**

Genetic susceptibility of HIV-associated neurocognitive impairment beyond  
apolipoprotein E: a PRISMA compliant meta-analysis

Caio S. Poças<sup>a,b</sup>, Renan P. Souza<sup>a,b\*</sup>

<sup>a</sup> Grupo de Pesquisa em Bioestatística e Epidemiologia Molecular, Departamento de  
Biologia Geral, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais

<sup>b</sup> Programa de Pós-graduação em Genética, Instituto de Ciências Biológicas,  
Universidade Federal de Minas Gerais

Corresponding author: Renan P. Souza (renanrps@ufmg.br; renanrps@yahoo.com.br)  
Universidade Federal de Minas Gerais Av. Antonio Carlos, 6627 ICB - Pampulha -  
31270901 - Belo Horizonte - Minas Gerais - Brazil. Phone/Fax: +553134092778

## **Abstract**

Genetic variability is hypothesized to play a role in HIV-associated neurocognitive impairment susceptibility. We have conducted a systematic review followed by a meta-analysis, when possible, to evaluate different genetic polymorphisms associations beyond apolipoprotein E with HIV-associated neurocognitive impairment. Pooled odds ratio (95% confidence intervals) were calculated. Literature search have identified 196 articles. The only polymorphism evaluated in more than three studies was TNF- $\alpha$ -308 (G/A; rs1800629). Included studies (n = 6) were published between 1998 and 2012, and their samples collection were conducted in the USA , Netherlands, Australia, Italy, Austria and Germany totaling 1001 HIV infected patients. Quality assessment using Q-Genie tool indicated issues regarding “the non-technical classification of the exposure”, “sample size and power” and “statistical methods and control for confounding”. Pooled odds ratio indicated no association: 0.69 (0.38-1.24) under allelic model, 0.73 (0.35-1.55) under G-allele recessive model and 1.83 (0.33-10.04) under A-allele recessive model. Our meta-analysis provides no support of association between neurocognitive impairment and TNF- $\alpha$ -308 polymorphism and could not access the role of other polymorphisms reported in primary studies. Hence, genetic testing for any of the evaluated genes has no scientific support at this point in the context of neurocognitive impairment.

**Keywords:** genetic association study, HIV-associated disorder, HIV-associated dementia, tumor necrosis factor, rs1800629

## Introduction

Antiretroviral drugs are responsible for improving health, extending life expectancy and greatly reduction of transmission and mortality rates in HIV-infected patients <sup>199</sup>. AIDS-related illnesses are no longer the primary threat but a new set of HIV-associated complications have emerged (e.g. cardiovascular disease and cancer) which can significantly affect daily activities, antiretroviral therapy adherence and quality of life <sup>19</sup>. Neurological alterations leading to HIV-associated neurocognitive disorder (HAND) can also be presented <sup>200,201</sup>. In fact, HAND remains a major cause of morbidity: 15-55% of HIV-infected individuals are estimated to have HAND <sup>54</sup>.

Genetic variability can notably impact neurocognitive impairment risk, disease course and antiretroviral response. Therefore, genetic factors have received increasing attention both as a mean to identify HAND susceptibility components and to understand its neuropathogenesis <sup>95</sup>. In 1997, Dunlop et al. published the first genetic association study of dementia or encephalitis associated with HIV analyzing apolipoprotein E (*ApoE*) gene variants previously associated with Alzheimer's disease (rs429358 and rs7412) in 132 adult patients with AIDS <sup>120</sup>. No significant association was found. Subsequently, Corder et al, evaluating the same haplotype in 44 adult patients with HIV showed that carriers of the ApoE E4 allele were twice as likely to be diagnosed with dementia <sup>121</sup>. Several other articles have reported results with ApoE since 1997 and other genes, such as tumor necrosis factor alpha (*TNF- $\alpha$* ), *CCR5*, *CCR2*, *MCP-1*, *SDF-1*, *IL-1- $\alpha$* , *IL1  $\beta$* , *COMT*, *MBL-2*, *IL4*, *CCL3*, *CX3CR1*, *DAR-3*, *MOAP1*, *PDE8A*, *SPOCK3*, *UBR7*, *BDNF* and *DAT-3* <sup>95</sup>. Genome-wide approaches have also been carried out and presented no significant results with the most significant associations found in *DYRK1A* <sup>98,181</sup>, *SLC8A1* and *NALCN* genes <sup>98,181</sup>.

Published results of HAND genetics remain scarce and available evidence is not consistent enough to suggest genetic testing in clinical practice <sup>95</sup>. A major limitation of the current studies is small sample sizes and, consequently, low statistical power to detect genetic associations expected to be small. Meta-analysis is a statistical tool for combining results from different studies on the same topic and is a popular method for resolving discrepancies in genetic association studies <sup>202</sup>. Meta-analysis is an objective, quantitative synthesis of research findings, enabling the identification of genuine associations. Thus, we have conducted a systematic review followed by a meta-analysis, when possible, to evaluate different genetic polymorphisms associations with HIV-associated neurocognitive impairment.

## Methods

Preferred Reporting Items for Systematic reviews and Meta-analysis (PRISMA) guideline was adopted to report this systematic review <sup>198</sup>. No review protocol was registered. Study selection was carried out in three phases: identification, screening and eligibility. Identification was carried out using database search (PubMed/MEDLINE, Embase and Scielo). Literature search included all studies published until March 2017, using the following terms: *((neurocognitive [Title/Abstract] AND HIV[Title/Abstract]) OR HIV-associated neurocognitive disorder[Title/Abstract] OR "aids dementia complex"[MeSH Terms]) AND (allele[Title/Abstract] OR genotype[Title/Abstract] OR "genes"[MeSH Terms] OR "polymorphism, genetic"[MeSH Terms] OR "genetic association studies"[MeSH Terms] OR "genotype"[MeSH Terms] OR "genetic predisposition to disease"[MeSH Terms] OR "genetic variation"[MeSH Terms] OR "alleles"[MeSH Terms])*. Genetic association studies of HIV-associated neurocognitive impairment were included except for those only evaluating ApoE polymorphisms since it has been subject of a previous meta-analysis (Mattos et al., personal communication). There was no restriction regarding language, publication date and journal of publication. Reference list of others articles were used to locate additional studies. The second phase, screening, was done reading abstracts and finally eligibility was assessed by reading article full text. All phases of study selection were done by two researchers independently and agreement was achieved. Diagnostic criteria, first author, publication year, country of sample collection, ethnic background, treatment, cohort division, gender and genotyping data were extracted from each study. Authors were contacted to provide missing information.

Study quality was assessed using Q-Genie tool <sup>192</sup>. Q-Genie contains 11 items assessing the following dimensions: scientific basis for development of the research question, ascertainment of comparison groups (i.e., cases and controls), technical and non-technical classification of genetic variant tested, classification of the outcome, discussion of sources of bias, appropriateness of sample size, description of planned statistical analyses, statistical methods used, test of assumptions in the genetic studies (eg, agreement with the Hardy-Weinberg equilibrium) and appropriate interpretation of results <sup>203</sup>. Each question is rated on a 7-point Likert scale.

Meta-analysis was carried out on R (version 3.3.0) using "meta" package. Fixed and random-effects models were evaluated. Heterogeneity between studies was assessed by performing chi-square test. Mantel-Haenszel method of weighted averages was used to obtain pooled odds ratios (O.R.) with 95% confidence interval (C.I.). Meta-



analysis was carried out assuming allelic and genotypic effects (under recessive and dominant models). Significance level was set at 0.05.

## Results

Literature search has identified 196 articles (figure 1). After screening, 158 were excluded because they were not genetic association studies of HIV-associated neurocognitive impairment phenotype. Subsequently during eligibility, 32 were excluded for the following reasons: the described phenotype was not neurocognitive impairment; analyze only ApoE; inability to extract data; and insufficient number of studies analyzing a certain polymorphism (Figure 1). The only polymorphism evaluated in more than three studies was TNF- $\alpha$ -308 (G/A; rs1800629) (Table S2).

Included studies ( $n = 6$ ) were published between 1998 and 2012, and their samples collection were conducted in the USA ( $n = 3$ ), Netherlands, Australia, Italy, Austria and Germany totaling 1001 HIV infected patients. Selected studies showed considerable heterogeneity in the phenotype assessment and treatment methods, most of which were not reported. Age and ethnic background were not reported for most studies, and in the latter case, when reported, ethnic assessment was absent (table 1).

Table S1 presents results for each Q-Genie dimension. Questions five (“the non-technical classification of the exposure”), seven (“sample size and power”) and nine (“statistical methods and control for confounding”) have the poorest results, while questions one (“rationale for study”) and 11 (“appropriateness of inferences drawn from results”) have the best results throughout all included studies.

Initially, allelic effect model was evaluated (Figure 2A). Heterogeneity was observed statistically ( $p = 0.0019$ ) and by observation of primary results. Two samples indicated significant effects of G allele presence decreasing neurocognitive impairment chance while all other five were not significant and showed different allelic trends of association. Pooled OR was 0.69 and its 95% CI was 0.38-1.24 meaning no association was found.

Under G-allele recessive model (Figure 2B), heterogeneity was observed statistically ( $p = 0.0066$ ) and by observation of primary results. One sample indicated significant effect of GG genotype presence decreasing neurocognitive impairment chance while all other four were not significant and showed different genotypic trends of association. Pooled OR was 0.73 and its 95% CI was 0.35-1.55 meaning lack of evidence of genotypic association under G-allele recessive model between TNF-alpha-308 and HIV-associated neurocognitive impairment.

Finally, genotypic effect under A-allele recessive model was analyzed (Figure 2C). No heterogeneity was observed statistically ( $p = 0.1448$ ) and by observation of primary results. One sample indicated significant effect of AA genotype presence increasing neurocognitive impairment chance while all other were not significant and showed different genotypic trends of association. Pooled OR was 1.83 and its 95% CI was 0.33-10.04 meaning no evidence of genotypic association under A-allele recessive model between TNF- $\alpha$ -308 and HIV-associated neurocognitive impairment.

## Discussion

Genetic variability is hypothesized to play a role in HAND susceptibility<sup>95,96</sup>. Although there is lack of twin and other non-molecular epidemiological studies, genetic association studies have been conducted evaluating several different genes mostly using one genetic variant each approach. Due to HAND multifactorial etiology, replication is specially needed once confounders are expected to affect single polymorphism association results. Our results indicate (1) most of the polymorphisms studied do not have enough evidence at the present time to support claims of either existence or lack of association with HIV-associated neurocognitive impairment to make their use worth in the clinical practice; (2) evidence available for TNF- $\alpha$ -308 support no association with HIV-associated neurocognitive impairment; and (3) currently available primary association studies may present methodological issues that should be addressed in the experimental design and analysis of their replications.

Meta-analysis association estimation may be directly influenced by limitations at study and outcome level (e.g., risk of bias), and at review-level (e.g., incomplete retrieval of identified research, reporting bias)<sup>198</sup>. Type I error, lack of power, and publication and reporting biases are common issues among primary association studies. Reporting bias is an issue of particular interest while conducting a meta-analysis because it leads to more frequent publication of significant associations than their counterparts therefore inflating estimated effect sizes<sup>204</sup>. Although there are statistical methods available to address different bias, they require sample sizes (number of studies) greater than what was available in our study<sup>205</sup>. Other intrinsic features of genetic association may also play a role in the observed results and they are often neglected (e.g. population dynamics and structure, linkage disequilibrium, conformity to Hardy-Weinberg Equilibrium, bias, population stratification, statistical heterogeneity, epistatic and environmental interactions, and the choice of statistical models used in the analysis)<sup>206</sup>. Crucial clinical features that may act as confounders are also often not included in the association model (e.g. treatment length, levels of CD4+ T cells, use of illicit drugs, hepatitis C co-infection, cerebrovascular disease risk factors, sleep disorders and psychiatric comorbidity)<sup>54</sup>.

Q-Genie <sup>192</sup> results have demonstrated the need for future studies to address important methodological aspects. First, studies should present whether genotyping was conducted blinded from clinical data and in all participants from the study simultaneously or in smaller batches because both may generate bias on the genetic analysis. Second, regarding sample size and power, a priori power analysis should be conducted and presented. When associated with publication bias effect, underpowered studies could be as, or more, prejudicial than not having genetic association studies for a clinical phenotype. Third, with regard of statistical methods and control for confounding factors, it is important to describe and explain losses of genotyping, since a greater loss in one of the studied groups may be a cause of bias. It is known that missing data could be due completely at random, at random and not at random and each mechanism should be treated differently throughout data analysis.

In conclusion, our meta-analysis provides no support of association between HIV-associated neurocognitive impairment and TNF- $\alpha$ -308 polymorphism and could not access the role of other polymorphisms reported in primary studies. Hence, genetic testing in the context of HIV-associated neurocognitive impairment has no scientific support at this point. Further studies are necessary to identify genetic variants that may be associated with neurocognitive impairment development but it is imperative to observe limitations and criticisms raised in this paper regarding primary genetic association studies before conducting additional replications or exploring new association hypothesis.

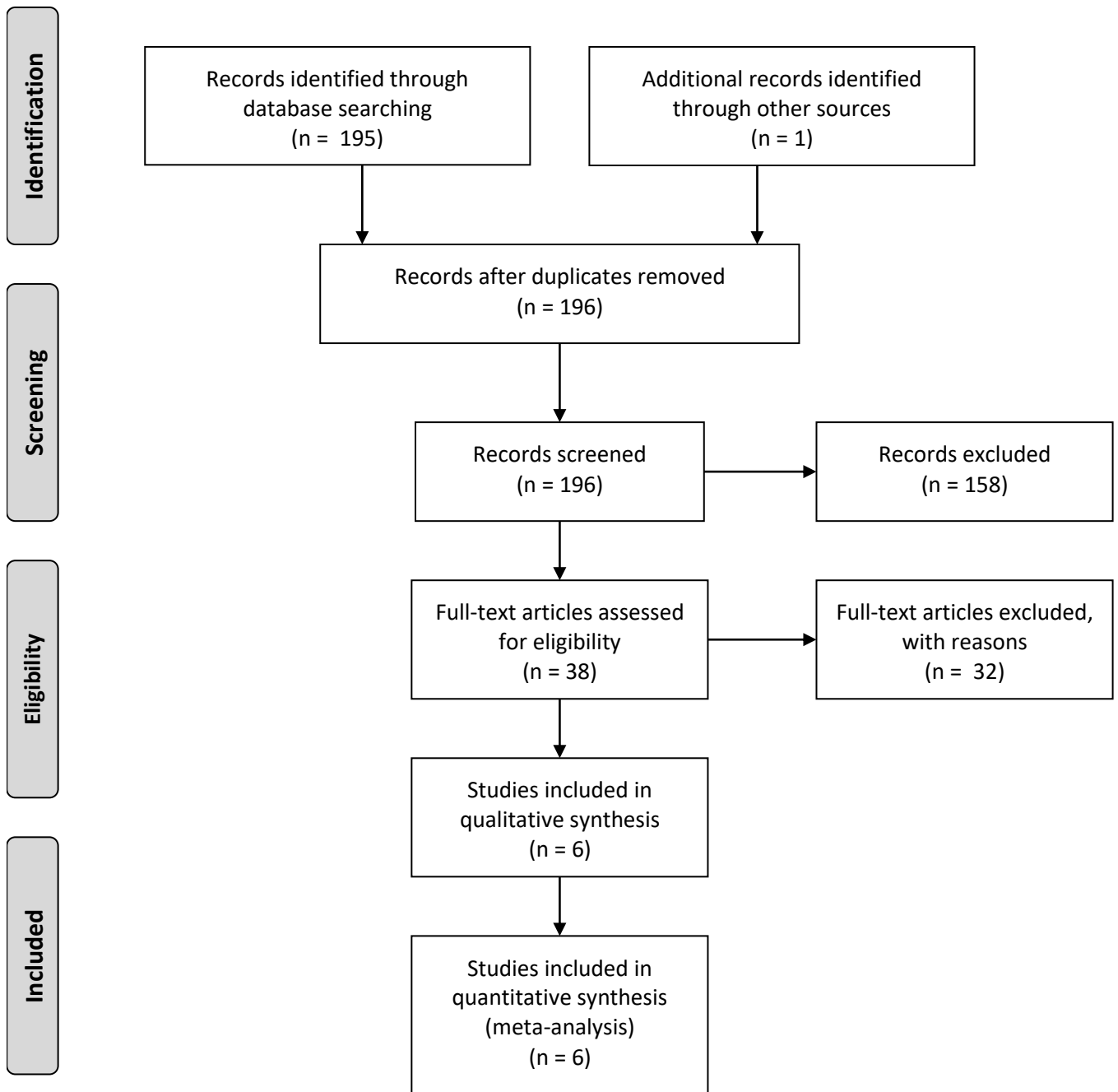


Figure 1. PRISMA flow diagram <sup>12</sup>.

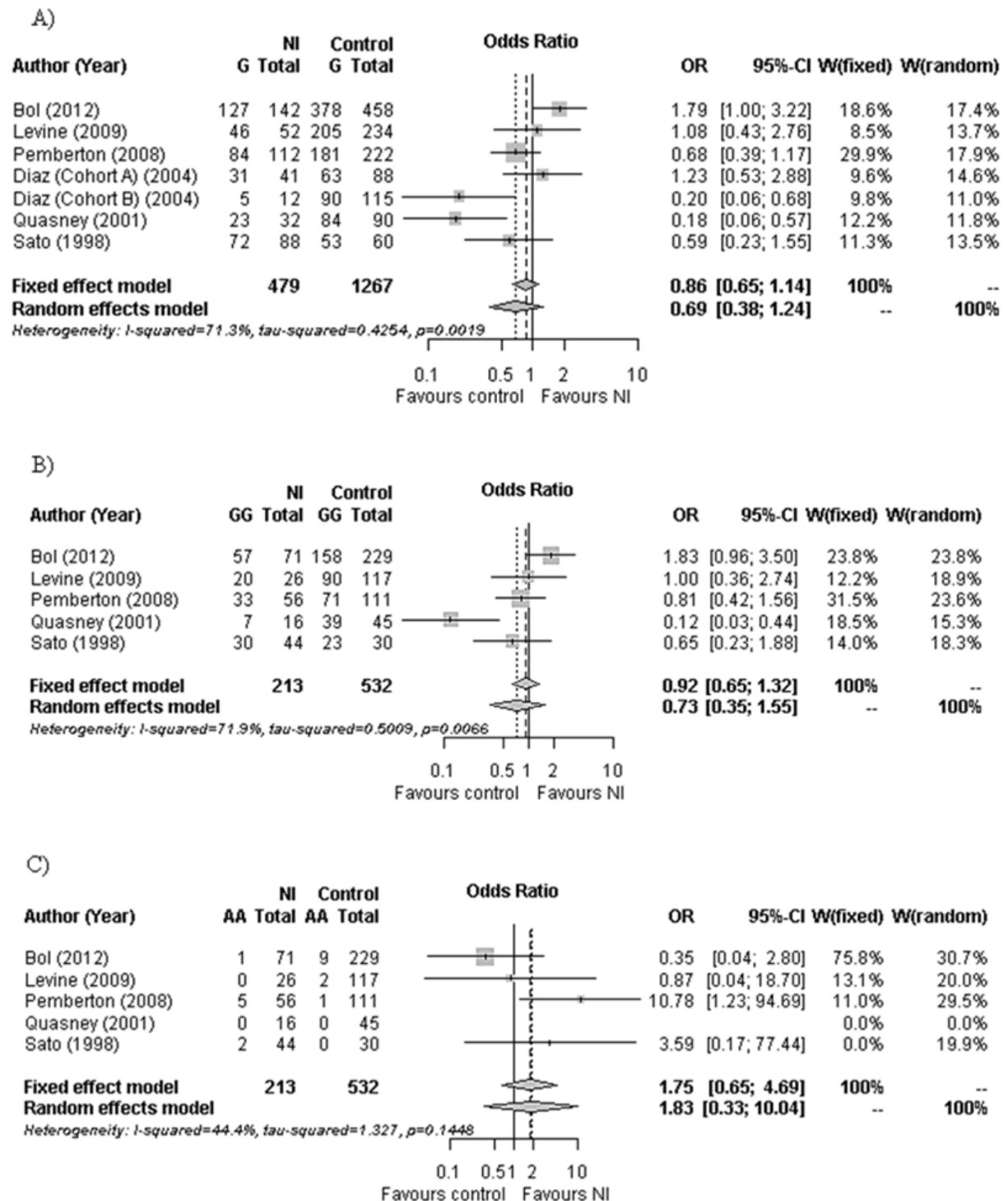


Figure 2. Forest plots. A) Allelic model forest plot. B) G-allele recessive model forest plot. C) A-allele recessive model forest plot. NI: Neurocognitive Impairment.

Table 1. Included studies assessing the association between HIV-associated neurocognitive impairment and TNF-alpha-302 polymorphism selected after eligibility step. AAN: American Academy of Neurology; NTB: Neuropsychological Test Battery; MGN: Microglial Nodules; HIVE/LE: HIV encephalitis (HIVE) and/or HIV leukoencephalopathy (HIVLE); AA: African American; EA: European American; CART; NA: Not available; NI: Neurocognitive Impairment.

<i>Diagnostic Criteria</i>	<i>Author</i>	<i>Year</i>	<i>Qgenie</i>	<i>Sample collection</i>	<i>Ethnic background</i>	<i>Treatment</i>	<i>Cohort division</i>	<i>Diagnosis</i>	<i>Gender</i>	<i>Age (years)</i>	<i>N</i>	<i>Genotypes</i>			<i>Alleles</i>	
												<i>GG</i>	<i>GA</i>	<i>AA</i>	<i>G</i>	<i>A</i>
AAN	Bol et al. <sup>118</sup>	2012	42.69	Netherlands	NA	NA/CART	-	NI	NA	NA	71	57	13	1	127	15
								No NI			229	158	62	9	378	80
NTB	Levine et al <sup>142</sup>	2009	59.70	USA	AA: 25.2% / EA: 64.3%	NA	-	NI	11.5% female	Mean: 45.1 (SD: 7.1).	26	20	6	0	46	6
								No NI	10.5% female	Mean: 44 (SD: 8).	117	90	25	2	205	29
NTB	Pemberton et al. <sup>124</sup>	2008	34.21	Australia	NA	NA	-	NI	NA	Range 19– 64	56	33	18	5	84	28
								No NI			111	71	39	1	181	41
Neuropathologic (MGN +)	Diaz-Arrastia et al. <sup>122</sup>	2004	47.54	USA	NA	Majority monotherapy and dual therapy	Cohort A (1989-93)	NI	NA	NA	41	-	-	-	31	10
								No NI			88	-	-	-	63	25
							Cohort B (1994-96)	NI	NA	NA	12	-	-	-	5	7
								No NI			115	-	-	-	90	25
AAN	Quasney et al. <sup>141</sup>	2001	34.29	USA	Causasian: 61%	NA	-	NI	NA	NA	16	7	9	0	23	9
								No NI			45	39	6	0	84	6
Neuropathologic (HIVE/LE)	Sato-Matsumura et al. <sup>140</sup>	1998	29.29	Italy, Austria and Germany	NA	NA	-	NI	NA	Range 15– 66	44	30	12	2	72	16
								No NI			30	23	7	0	53	7

<b>Studies/Questions</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>6</b>	<b>7</b>	<b>8</b>	<b>9</b>	<b>10</b>	<b>11</b>	<b>Sum</b>	<b>Quality</b>
Bol et al., 2012. <sup>118</sup>	7.00	3.00	2.00	2.86	1.00	7.00	3.00	4.50	4.33	1.00	7.00	42.69	Moderate
Levine et al., 2009 <sup>142</sup>	7.00	4.67	5.50	5.29	1.00	7.00	5.50	4.75	5.00	7.00	7.00	59.70	Good
Pemberton et al., 2008. <sup>124</sup>	7.00	2.33	1.00	2.71	1.00	7.00	1.00	2.50	1.67	1.00	7.00	34.21	Poor
Diaz-Arrastia et al., 2004. <sup>122</sup>	7.00	5.00	2.50	2.29	3.00	7.00	1.00	4.75	1.00	4.00	7.00	44.54	Moderate
Quasney et al., 2001. <sup>141</sup>	7.00	3.00	1.00	2.29	1.00	5.00	1.00	4.00	1.00	4.00	5.00	34.29	Poor
Sato-Matsumura et al., 1998. <sup>140</sup>	7.00	3.00	2.50	2.29	1.00	1.00	1.00	2.50	1.00	4.00	4.00	29.29	Poor
<b>Mean</b>	7.00	3.50	2.42	2.95	1.33	5.67	2.08	3.83	2.33	4.00	6.17	41.29	Moderate

Table S1. Q-Genie scores. Question 1: Rationale for study; Question 2: Selection and definition of outcome of interest; Question 3: Selection and comparability of comparison groups (if applicable); Question 4: Technical classification of the exposure; Question 5: Non-technical classification of the exposure; Question 6: Other sources of bias; Question 7: Sample size and power; Question 8: A priori planning of analyses; Question 9: Statistical methods and control for confounding; Question 10: Testing of assumptions and inferences for genetic analyses; Question 11: Appropriateness of inferences drawn from results. Individual scores equal 1 indicate poor; 3 good, 5 very good and 7 excellent quality. Total Scores  $\leq 35$  indicate poor quality studies,  $>35$  and  $\leq 45$  indicate studies of moderate quality, and  $>45$  indicate good quality studies <sup>13</sup>.

Table S2. Number of studies evaluating singles genetic variants.

Gene	Genetic Variant	Nº Studies
ApoE	rs429358	19
ApoE	rs7412	19
CCL2 (MCP1)	rs1024611 (-2578 or -2518 A/G)	9
TNF- $\alpha$	rs1800629 (-308 G>A)	6
CCR5	rs333 (D32)	6
CCL3 (MIP1- $\alpha$ )	rs1130371	3
CCR2	rs1799864 (CCR2-V64I)	3
DRD2/ANKK1	rs1800497	3
SDF-1	rs1801157 (SDF-1-G/A)	3
DRD3	rs6280	3
CCL3L1	copy number variants	2
CCL3 (MIP1- $\alpha$ )	rs1719134	2
IL-1 $\alpha$	rs17561	2
MBL2	rs1800450	2
MBL2	rs1800451	2
COMT	rs4680 (val158met)	2
MBL2	rs5030737	2
DRD2	rs6277	2
mtDNA haplogroup	-	1
MMP-9	(-1562 C>T)	1
MMP-7	(-181 A>G)	1
DAT	(3'-UTR 40 bp)	1
MMP-2	(-735 C>T)	1
DRD4	48 VNTR	1
BAT1	BAT1 intron 10	1
CCR2	CCR2-180-G/A	1
CCR5	CCR5-59353-T/C	1
CCR5	CCR5-59356-C/T	1
CX3CR1	CX3CR1 849-C/T)	1
HLA	HLA (B*27,57,58,A*03,33)	1
HLA	HLA DR*04	1
IL1B	IL1B*2+	1
IL1RA	IL1RA*2,3,4+ (VNTR)	1
IL1RN	IL1RN*1	1
IL1B	rs 1143634 (IL1B+3953)	1
CCR5	rs 1799987 (CCR5-59029-G/A)	1
CCL2 (MCP1)	rs1024610 (-2136 or -2076 A/T)	1
IL-4	rs1024611 (IL4-589-C/T)	1
MOAP1	rs1046099	1
DYRK1A	rs12483205	1
PDE8A	rs12909130	1
DBH	rs1611115	1



## Continuation

<b>Gene</b>	<b>Genetic Variant</b>	<b>N° Studies</b>
CCL5	rs1719130	1
SPOCK3	rs17519417	1
CCR2	rs1799864 (V64I)	1
CCR5	rs1799987 (59029-G/A)	1
TNF- $\alpha$	rs1800629	1
IL-10	rs1800872	1
CXCL12	rs1801157	1
YWHAE	rs1873827	1
PREP1	rs2839619	1
UBR7	rs2905	1
1L12B	rs3212227 (1L12B 3'UTR)	1
CX3CR1	rs3732379 (745-G/A)	1
YWHAE	rs3752826	1
IL-1 $\alpha$	rs3783525 (IL1 $\alpha$ -889)	1
ApoE	rs429358	1
LMX1A	rs4657412	1
COMT	rs4680	1
YWHAE	rs4790084	1
APOBEC3G-F119F	rs5757465	1
BDNF	rs6265 (val66met)	1
APOBEC3G-H186R	rs8177832	1

## References

1. Barré-Sinoussi, F., Ross, A. L. & Delfraissy, J.-F. Past, present and future: 30 years of HIV research. *Nat. Rev. Microbiol.* **11**, 877–883 (2013).
2. AIDS.gov. A TIMELINE OF HIV/AIDS. *AIDS.gov* (2016).
3. Barré-Sinoussi, F. *et al.* Isolation of a T-lymphotropic retrovirus from a patient at risk for acquired immune deficiency syndrome (AIDS). *Science* **220**, 868–71 (1983).
4. UNAIDS. Global AIDS Update 2016. 1 (2016).
5. WHO. HIV/AIDS - Key facts. (2016).
6. Sharp, P. M. & Hahn, B. H. Origins of HIV and the AIDS Pandemic. *Cold Spring Harb. Perspect. Med.* **1**, a006841–a006841 (2011).
7. Chen, P. *et al.* Virological synapses allow HIV-1 uptake and gene expression in renal tubular epithelial cells. *J. Am. Soc. Nephrol.* **22**, 496–507 (2011).
8. Liu, Y. *et al.* CD4-Independent Infection of Astrocytes by Human Immunodeficiency Virus Type 1 : Requirement for the Human Mannose Receptor CD4-Independent Infection of Astrocytes by Human Immunodeficiency Virus Type 1 : Requirement for the Human Mannose Receptor. *J. Virol.* **78**, 4120–4133 (2004).
9. Maartens, G., Celum, C. & Lewin, S. R. HIV infection: Epidemiology, pathogenesis, treatment, and prevention. *Lancet* **384**, 258–271 (2014).
10. Shaw, G. M. & Hunter, E. HIV Transmission. *Cold Spring Harb. Perspect. Med.* **2**, a006965–a006965 (2012).
11. Lackner, A. A., Lederman, M. M. & Rodriguez, B. HIV Pathogenesis: The Host. *Cold Spring Harb. Perspect. Med.* **2**, a007005–a007005 (2012).
12. Coffin, J. & Swanstrom, R. HIV Pathogenesis: Dynamics and Genetics of Viral Populations and Infected Cells. *Cold Spring Harb. Perspect. Med.* **3**, a012526–a012526 (2013).
13. Schacker, T., Collier, A. C., Hughes, J., Shea, T. & Corey, L. Clinical and epidemiologic features of primary HIV infection. *Ann. Intern. Med.* **125**, 257–64 (1996).

14. Mellors, J. W. *et al.* Prognosis in HIV-1 infection predicted by the quantity of virus in plasma. *Science* **272**, 1167–70 (1996).
15. Mellors, J. W. *et al.* Plasma viral load and CD4+ lymphocytes as prognostic markers of HIV-1 infection. *Ann. Intern. Med.* **126**, 946–54 (1997).
16. Rodríguez, B. *et al.* Predictive Value of Plasma HIV RNA Level on Rate of CD4 T-Cell Decline in Untreated HIV Infection. *JAMA* **296**, 1498 (2006).
17. Giorgi, J. V *et al.* Elevated levels of CD38+ CD8+ T cells in HIV infection add to the prognostic value of low CD4+ T cell levels: results of 6 years of follow-up. The Los Angeles Center, Multicenter AIDS Cohort Study. *J. Acquir. Immune Defic. Syndr.* **6**, 904–12 (1993).
18. Liu, R. *et al.* Homozygous defect in HIV-1 coreceptor accounts for resistance of some multiply-exposed individuals to HIV-1 infection. *Cell* **86**, 367–77 (1996).
19. Deeks, SG; Lewin, SR; Havlir, D. The End of AIDS: HIV Infection as a Chronic Disease. *Lancet* **382**, 1525–1533 (2013).
20. Horton, H., Vogel, T., O'Connor, D., Picker, L. & Watkins, D. I. Analysis of the immune response and viral evolution during the acute phase of SIV infection. *Vaccine* **20**, 1927–1932 (2002).
21. Paranjpe, S. *et al.* Subcompartmentalization of HIV-1 Quasispecies between Seminal Cells and Seminal Plasma Indicates Their Origin in Distinct Genital Tissues. *AIDS Res. Hum. Retroviruses* **18**, 1271–1280 (2002).
22. Ryzhova, E. V *et al.* Simian immunodeficiency virus encephalitis: analysis of envelope sequences from individual brain multinucleated giant cells and tissue samples. *Virology* **297**, 57–67 (2002).
23. González-Scarano, F. & Martín-García, J. The neuropathogenesis of AIDS. *Nat. Rev. Immunol.* **5**, 69–81 (2005).
24. Trautmann, L. *et al.* Upregulation of PD-1 expression on HIV-specific CD8+ T cells leads to reversible immune dysfunction. *Nat. Med.* **12**, 1198–202 (2006).
25. Mehandru, S. *et al.* Mechanisms of gastrointestinal CD4+ T-cell depletion during acute

- and early human immunodeficiency virus type 1 infection. *J. Virol.* **81**, 599–612 (2007).
26. Prendergast, A. *et al.* HIV-1 infection is characterized by profound depletion of CD161+ Th17 cells and gradual decline in regulatory T cells. *AIDS* **24**, 491–502 (2010).
  27. Cosgrove, C. *et al.* Early and nonreversible decrease of CD161++ /MAIT cells in HIV infection. *Blood* **121**, 951–61 (2013).
  28. Brenchley, J. M. *et al.* Microbial translocation is a cause of systemic immune activation in chronic HIV infection. *Nat. Med.* **12**, 1365–71 (2006).
  29. Zeng, M. *et al.* Lymphoid tissue damage in HIV-1 infection depletes naïve T cells and limits T cell reconstitution after antiretroviral therapy. *PLoS Pathog.* **8**, e1002437 (2012).
  30. Janoff, E. N., Breiman, R. F., Daley, C. L. & Hopewell, P. C. Pneumococcal disease during HIV infection. Epidemiologic, clinical, and immunologic perspectives. *Ann. Intern. Med.* **117**, 314–24 (1992).
  31. Lichtfuss, G. F. *et al.* Biomarkers of immune dysfunction following combination antiretroviral therapy for HIV infection. *Biomark. Med.* **5**, 171–86 (2011).
  32. Meier, A. *et al.* Sex differences in the Toll-like receptor-mediated response of plasmacytoid dendritic cells to HIV-1. *Nat. Med.* **15**, 955–9 (2009).
  33. Hsue, P. Y. *et al.* Increased carotid intima-media thickness in HIV patients is associated with increased cytomegalovirus-specific T-cell responses. *AIDS* **20**, 2275–83 (2006).
  34. Kuller, L. H. *et al.* Inflammatory and coagulation biomarkers and mortality in patients with HIV infection. *PLoS Med.* **5**, e203 (2008).
  35. Hsue, P. Y. *et al.* Carotid Intima-Media Thickness Progression in HIV-Infected Adults Occurs Preferentially at the Carotid Bifurcation and Is Predicted by Inflammation. *J. Am. Heart Assoc.* **1**, jah3-e000422-jah3-e000422 (2012).
  36. Marks, M. A. *et al.* Markers of microbial translocation and risk of AIDS-related lymphoma. *AIDS* **27**, 469–74 (2013).
  37. Ancuta, P. *et al.* Microbial translocation is associated with increased monocyte activation and dementia in AIDS patients. *PLoS One* **3**, e2516 (2008).

38. Andrade, B. B. *et al.* Biomarkers of inflammation and coagulation are associated with mortality and hepatitis flares in persons coinfecting with HIV and hepatitis viruses. *J. Infect. Dis.* **207**, 1379–88 (2013).
39. Fischl, M. A. *et al.* The efficacy of azidothymidine (AZT) in the treatment of patients with AIDS and AIDS-related complex. A double-blind, placebo-controlled trial. *N. Engl. J. Med.* **317**, 185–91 (1987).
40. Lemey, P., Rambaut, A. & Pybus, O. G. HIV evolutionary dynamics within and among hosts. *AIDS Rev.* **8**, 125–40
41. Ho, D. D. *et al.* Rapid turnover of plasma virions and CD4 lymphocytes in HIV-1 infection. *Nature* **373**, 123–126 (1995).
42. Wei, X. *et al.* Viral dynamics in human immunodeficiency virus type 1 infection. *Nature* **373**, 117–122 (1995).
43. Hammer, S. M. *et al.* A controlled trial of two nucleoside analogues plus indinavir in persons with human immunodeficiency virus infection and CD4 cell counts of 200 per cubic millimeter or less. AIDS Clinical Trials Group 320 Study Team. *N. Engl. J. Med.* **337**, 725–33 (1997).
44. Palella, F. J. *et al.* Declining morbidity and mortality among patients with advanced human immunodeficiency virus infection. HIV Outpatient Study Investigators. *N. Engl. J. Med.* **338**, 853–60 (1998).
45. Bor, J., Herbst, A. J., Newell, M.-L. & Bärnighausen, T. Increases in adult life expectancy in rural South Africa: valuing the scale-up of HIV treatment. *Science* **339**, 961–5 (2013).
46. Günthard, H. F. *et al.* Antiretroviral Treatment of Adult HIV Infection. *JAMA* **312**, 410 (2014).
47. Ortblad, K. F., Lozano, R. & Murray, C. J. L. The burden of HIV: insights from the GBD 2010. *AIDS 2003–2017* (2013). doi:10.1097/QAD.0b013e328362ba67
48. American Academy of Neurology AIDS Task Force. Nomenclature and research case definitions for neurologic manifestations of human immunodeficiency virus-type 1 (HIV-1) infection. Report of a Working Group of the American Academy of Neurology

- AIDS Task Force. *Neurology* **41**, 778–85 (1991).
49. Antinori, A. *et al.* Updated research nosology for HIV-associated neurocognitive disorders. *Neurology* **69**, 1789–99 (2007).
  50. Navia, B. A., Jordan, B. D. & Price, R. W. The AIDS dementia complex: I. Clinical features. *Ann. Neurol.* **19**, 517–524 (1986).
  51. Bornstein, R. A. *et al.* Neuropsychological performance in symptomatic and asymptomatic HIV infection. *AIDS* **7**, 519–24 (1993).
  52. Gandhi, N. S. *et al.* Comparison of scales to evaluate the progression of HIV-associated neurocognitive disorder. *HIV Ther.* **4**, 371–379 (2010).
  53. Christo, P. P. Alterações cognitivas na infecção pelo hiv e aids. *Rev Assoc Med Bras* 2010; 56(2) 242-7 **56**, 242–247 (2010).
  54. Saylor, D. *et al.* HIV-associated neurocognitive disorder--pathogenesis and prospects for treatment. *Nat. Rev. Neurol.* **12**, 234–48 (2016).
  55. Grant, I. *et al.* Asymptomatic HIV-associated neurocognitive impairment increases risk for symptomatic decline. *Neurology* **82**, 2055–62 (2014).
  56. Heaton, R. K. *et al.* HIV-associated neurocognitive disorders persist in the era of potent antiretroviral therapy: Charter Study. *Neurology* **75**, 2087–2096 (2010).
  57. Ellis, R. J. *et al.* Neurocognitive impairment is an independent risk factor for death in HIV infection. San Diego HIV Neurobehavioral Research Center Group. *Arch. Neurol.* **54**, 416–24 (1997).
  58. Becker, J. T. *et al.* Cohort Profile: Recruitment cohorts in the neuropsychological substudy of the Multicenter AIDS Cohort Study. *Int. J. Epidemiol.* **44**, 1506–16 (2015).
  59. McArthur, J. C. *et al.* Dementia in AIDS patients: incidence and risk factors. Multicenter AIDS Cohort Study. *Neurology* **43**, 2245–52 (1993).
  60. Heaton, R. K. *et al.* HIV-associated neurocognitive disorders before and during the era of combination antiretroviral therapy: differences in rates, nature, and predictors. *J. Neurovirol.* **17**, 3–16 (2011).

61. Sacktor, N. *et al.* HIV-associated cognitive impairment before and after the advent of combination therapy. *J. Neurovirol.* **8**, 136–42 (2002).
62. Nath, A. *et al.* Evolution of HIV dementia with HIV infection. *Int. Rev. Psychiatry* **20**, 25–31 (2008).
63. Heaton, R. K. *et al.* Neuropsychological impairment in human immunodeficiency virus-infection: implications for employment. HNRC Group. HIV Neurobehavioral Research Center. *Psychosom. Med.* **56**, 8–17
64. Liu, N. Q. *et al.* Human immunodeficiency virus type 1 enters brain microvascular endothelia by macropinocytosis dependent on lipid rafts and the mitogen-activated protein kinase signaling pathway. *J. Virol.* **76**, 6689–700 (2002).
65. Koenig, S. *et al.* Detection of AIDS virus in macrophages in brain tissue from AIDS patients with encephalopathy. *Science* **233**, 1089–93 (1986).
66. Williams, K. C. & Hickey, W. F. Central nervous system damage, monocytes and macrophages, and neurological disorders in AIDS. *Annu. Rev. Neurosci.* **25**, 537–62 (2002).
67. González-Scarano, F. & Martín-García, J. The neuropathogenesis of AIDS. *Nat. Rev. Immunol.* **5**, 69–81 (2005).
68. Kaul, M., Zheng, J., Okamoto, S., Gendelman, H. E. & Lipton, S. A. HIV-1 infection and AIDS: consequences for the central nervous system. *Cell Death Differ.* **12 Suppl 1**, 878–92 (2005).
69. Gannon, P., Khan, M. Z. & Kolson, D. L. Current understanding of HIV-associated neurocognitive disorders pathogenesis. *Curr. Opin. Neurol.* **24**, 275–283 (2011).
70. McArthur, J. C., Steiner, J., Sacktor, N. & Nath, A. Human immunodeficiency virus-associated neurocognitive disorders: Mind the gap. *Ann. Neurol.* **67**, 699–714 (2010).
71. Kaul, M. & Lipton, S. A. Mechanisms of neuroimmunity and neurodegeneration associated with HIV-1 infection and AIDS. *J. Neuroimmune Pharmacol.* **1**, 138–51 (2006).
72. Kraft-Terry, S. D., Buch, S. J., Fox, H. S. & Gendelman, H. E. A Coat of Many Colors:

- Neuroimmune Crosstalk in Human Immunodeficiency Virus Infection. *Neuron* **64**, 133–145 (2009).
73. Grovit-Ferbas, K. & Harris-White, M. E. Thinking about HIV: the intersection of virus, neuroinflammation and cognitive dysfunction. *Immunol. Res.* **48**, 40–58 (2010).
  74. Masliah, E. *et al.* Dendritic injury is a pathological substrate for human immunodeficiency virus-related cognitive disorders. HNRC Group. The HIV Neurobehavioral Research Center. *Ann. Neurol.* **42**, 963–72 (1997).
  75. Budka, H. Neuropathology of human immunodeficiency virus infection. *Brain Pathol.* **1**, 163–75 (1991).
  76. Anthony, I. C. & Bell, J. E. The Neuropathology of HIV/AIDS. *Int. Rev. Psychiatry* **20**, 15–24 (2008).
  77. Everall, I. P., Luthert, P. J. & Lantos, P. L. Neuronal loss in the frontal cortex in HIV infection. *Lancet (London, England)* **337**, 1119–21 (1991).
  78. Ketzler, S., Weis, S., Haug, H. & Budka, H. Loss of neurons in the frontal cortex in AIDS brains. *Acta Neuropathol.* **80**, 92–94 (1990).
  79. Reyes, M. G., Faraldi, F., Senseng, C. S., Flowers, C. & Fariello, R. Nigral degeneration in acquired immune deficiency syndrome (AIDS). *Acta Neuropathol.* **82**, 39–44 (1991).
  80. Graus, F. *et al.* Subacute cerebellar syndrome as the first manifestation of AIDS dementia complex. *Acta Neurol. Scand.* **81**, 118–120 (2009).
  81. Everall, I., Luthert, P. & Lantos, P. A review of neuronal damage in human immunodeficiency virus infection: its assessment, possible mechanism and relationship to dementia. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* **52**, 561–6 (1993).
  82. Boissé, L., Gill, M. J. & Power, C. HIV infection of the central nervous system: clinical features and neuropathogenesis. *Neurol. Clin.* **26**, 799–819, x (2008).
  83. Brew, B. J., Crowe, S. M., Landay, A., Cysique, L. A. & Guillemin, G. Neurodegeneration and ageing in the HAART era. *J. Neuroimmune Pharmacol.* **4**, 163–74 (2009).
  84. Glass, J. D., Fedor, H., Wesselingh, S. L. & McArthur, J. C. Immunocytochemical



- quantitation of human immunodeficiency virus in the brain: correlations with dementia. *Ann. Neurol.* **38**, 755–62 (1995).
85. Cassol, E., Misra, V., Morgello, S. & Gabuzda, D. Applications and limitations of inflammatory biomarkers for studies on neurocognitive impairment in HIV infection. *J. Neuroimmune Pharmacol.* **8**, 1087–97 (2013).
  86. Naylor, S. Biomarkers: current perspectives and future prospects. *Expert Rev. Mol. Diagn.* **3**, 525–9 (2003).
  87. Brew, B. J., Pemberton, L., Cunningham, P. & Law, M. G. Levels of human immunodeficiency virus type 1 RNA in cerebrospinal fluid correlate with AIDS dementia stage. *J. Infect. Dis.* **175**, 963–6 (1997).
  88. Ellis, R. J. *et al.* Cerebrospinal fluid human immunodeficiency virus type 1 RNA levels are elevated in neurocognitively impaired individuals with acquired immunodeficiency syndrome. HIV Neurobehavioral Research Center Group. *Ann. Neurol.* **42**, 679–88 (1997).
  89. McArthur, J. C. *et al.* Relationship between human immunodeficiency virus-associated dementia and viral load in cerebrospinal fluid and brain. *Ann. Neurol.* **42**, 689–98 (1997).
  90. Enting, R. H. *et al.* Cerebrospinal fluid beta2-microglobulin, monocyte chemotactic protein-1, and soluble tumour necrosis factor alpha receptors before and after treatment with lamivudine plus zidovudine or stavudine. *J. Neuroimmunol.* **102**, 216–21 (2000).
  91. Ryan, L. A. *et al.* Plasma levels of soluble CD14 and tumor necrosis factor-alpha type II receptor correlate with cognitive dysfunction during human immunodeficiency virus type 1 infection. *J. Infect. Dis.* **184**, 699–706 (2001).
  92. Gartner, S. & Liu, Y. Insights into the role of immune activation in HIV neuropathogenesis. *J. Neurovirol.* **8**, 69–75 (2002).
  93. Heaton, R. K. *et al.* Neurocognitive change in the era of HIV combination antiretroviral therapy: the longitudinal CHARTER study. *Clin. Infect. Dis.* **60**, 473–80 (2015).
  94. Fox, H. S. Biomarkers for NeuroAIDS: Recent Progress in the Field. *J. Neuroimmune Pharmacol.* **8**, 1055–1058 (2013).

95. Levine, A. J., Panos, S. E. & Horvath, S. Genetic, transcriptomic, and epigenetic studies of HIV-associated neurocognitive disorder. *J. Acquir. Immune Defic. Syndr.* **65**, 481–503 (2014).
96. Kallianpur, A. R. & Levine, A. J. Host genetic factors predisposing to HIV-associated neurocognitive disorder. *Curr. HIV/AIDS Rep.* **11**, 336–352 (2014).
97. Patnala, R., Clements, J. & Batra, J. Candidate gene association studies: a comprehensive guide to useful in silico tools. *BMC Genet.* **14**, 39 (2013).
98. Levine, A. J. *et al.* Genome-wide association study of neurocognitive impairment and dementia in HIV-infected adults. *Am. J. Med. Genet. B. Neuropsychiatr. Genet.* **159B**, 669–83 (2012).
99. Liu, C.-C., Liu, C.-C., Kanekiyo, T., Xu, H. & Bu, G. Apolipoprotein E and Alzheimer disease: risk, mechanisms and therapy. *Nat. Rev. Neurol.* **9**, 106–18 (2013).
100. Farrer, L. A. *et al.* Effects of age, sex, and ethnicity on the association between apolipoprotein E genotype and Alzheimer disease. A meta-analysis. APOE and Alzheimer Disease Meta Analysis Consortium. *JAMA* **278**, 1349–56
101. Novelli, G., Ciccacci, C., Borgiani, P., Papaluca Amati, M. & Abadie, E. Genetic tests and genomic biomarkers: regulation, qualification and validation. *Clin. Cases Miner. Bone Metab.* **5**, 149–54 (2008).
102. Becker, J. T., Lopez, O. L., Dew, M. A. & Aizenstein, H. J. Prevalence of cognitive disorders differs as a function of age in HIV virus infection. *AIDS* **18 Suppl 1**, S11-8 (2004).
103. Cherner, M. *et al.* Effects of HIV-1 infection and aging on neurobehavioral functioning: preliminary findings. *AIDS* **18 Suppl 1**, S27-34 (2004).
104. Valcour, V. G., Shikuma, C. M., Watters, M. R. & Sacktor, N. C. Cognitive impairment in older HIV-1-seropositive individuals: prevalence and potential mechanisms. *AIDS* **18 Suppl 1**, S79-86 (2004).
105. Qureshi, A. I., Hanson, D. L., Jones, J. L. & Janssen, R. S. Estimation of the temporal probability of human immunodeficiency virus (HIV) dementia after risk stratification for HIV-infected persons. *Neurology* **50**, 392–7 (1998).

106. Cherner, M. *et al.* Hepatitis C augments cognitive deficits associated with HIV infection and methamphetamine. *Neurology* **64**, 1343–7 (2005).
107. Tozzi, V. *et al.* Prevalence and risk factors for human immunodeficiency virus-associated neurocognitive impairment, 1996 to 2002: results from an urban observational cohort. *J. Neurovirol.* **11**, 265–73 (2005).
108. Valcour, V. G. *et al.* Diabetes, insulin resistance, and dementia among HIV-1-infected patients. *J. Acquir. Immune Defic. Syndr.* **38**, 31–6 (2005).
109. Lin, K. *et al.* Effects of traumatic brain injury on cognitive functioning and cerebral metabolites in HIV-infected individuals. *J. Clin. Exp. Neuropsychol.* **33**, 326–34 (2011).
110. Rippeth, J. D. *et al.* Methamphetamine dependence increases risk of neuropsychological impairment in HIV infected persons. *J. Int. Neuropsychol. Soc.* **10**, 1–14 (2004).
111. Levine, A. J. *et al.* The effect of recent stimulant use on sustained attention in HIV-infected adults. *J. Clin. Exp. Neuropsychol.* **28**, 29–42 (2006).
112. Martin-Thormeyer, E. M. & Paul, R. H. Drug Abuse and Hepatitis C Infection as Comorbid Features of HIV Associated Neurocognitive Disorder: Neurocognitive and Neuroimaging Features. *Neuropsychol. Rev.* **19**, 215–231 (2009).
113. Bashirova, A. A. *et al.* LILRB2 interaction with HLA class I correlates with control of HIV-1 infection. *PLoS Genet.* **10**, e1004196 (2014).
114. Guergnon, J. *et al.* Single-nucleotide polymorphism-defined class I and class III major histocompatibility complex genetic subregions contribute to natural long-term nonprogression in HIV infection. *J. Infect. Dis.* **205**, 718–24 (2012).
115. Naicker, D. D. *et al.* Association of IL-10-promoter genetic variants with the rate of CD4 T-cell loss, IL-10 plasma levels, and breadth of cytotoxic T-cell lymphocyte response during chronic HIV-1 infection. *Clin. Infect. Dis.* **54**, 294–302 (2012).
116. Burt, T. D. *et al.* Apolipoprotein (apo) E4 enhances HIV-1 cell entry in vitro, and the APOE epsilon4/epsilon4 genotype accelerates HIV disease progression. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **105**, 8718–23 (2008).
117. Rappaport, J. & Berger, J. R. Genetic testing and HIV dementia: teasing out the

- molecular mechanisms of disease. *AIDS* **24**, 1585–7 (2010).
118. Bol, S. M. *et al.* Single nucleotide polymorphism in gene encoding transcription factor prep1 is associated with HIV-1-associated dementia. *PLoS One* **7**, 1–7 (2012).
  119. Letendre, S. L. *et al.* Chemokines in cerebrospinal fluid correlate with cerebral metabolite patterns in HIV-infected individuals. *J. Neurovirol.* **17**, 63–9 (2011).
  120. Dunlop, O. *et al.* HIV dementia and apolipoprotein E. *Acta Neurol. Scand.* **95**, 315–8 (1997).
  121. Corder, E. H. *et al.* HIV-infected subjects with the E4 allele for APOE have excess dementia and peripheral neuropathy. *Nat. Med.* **4**, 1182–4 (1998).
  122. Diaz-Arrastia, R., Gong, Y., Kelly, C. J. & Gelman, B. B. Host genetic polymorphisms in human immunodeficiency virus-related neurologic disease. *J. Neurovirol.* **10 Suppl 1**, 67–73 (2004).
  123. Cutler, R. G. *et al.* Dysregulation of sphingolipid and sterol metabolism by ApoE4 in HIV dementia. *Neurology* **63**, 626–30 (2004).
  124. Pemberton, L. A., Stone, E., Price, P., Van Bockxmeer, F. & Brew, B. J. The relationship between ApoE, TNFA, IL1a, IL1b and IL12b genes and HIV-1-associated dementia. *HIV Med.* **9**, 677–680 (2008).
  125. Pomara, N., Belzer, K. D., Silva, R., Cooper, T. B. & Sidtis, J. J. The apolipoprotein E epsilon4 allele and memory performance in HIV-1 seropositive subjects: differences at baseline but not after acute oral lorazepam challenge. *Psychopharmacology (Berl)*. **201**, 125–35 (2008).
  126. Joska, J. A. *et al.* Association between apolipoprotein E4 genotype and human immunodeficiency virus-associated dementia in younger adults starting antiretroviral therapy in South Africa. *J. Neurovirol.* **16**, 377–83 (2010).
  127. Spector, S. A. *et al.* APOE  $\epsilon$ 4 and MBL-2 O/O genotypes are associated with neurocognitive impairment in HIV-infected plasma donors. *AIDS* **24**, 1471–1479 (2010).
  128. Sun, B. *et al.* Peripheral biomarkers do not correlate with cognitive impairment in highly active antiretroviral therapy-treated subjects with human immunodeficiency virus type 1

- infection. *J. Neurovirol.* **16**, 115–24 (2010).
129. Andres, M. A. *et al.* APOE  $\epsilon$ 4 allele and CSF APOE on Cognition in HIV-Infected Subjects. *J. Neuroimmune Pharmacol.* **6**, 389–398 (2011).
  130. Chang, L. *et al.* Impact of apolipoprotein E  $\epsilon$ 4 and HIV on cognition and brain atrophy: Antagonistic pleiotropy and premature brain aging. *Neuroimage* **58**, 1081–1089 (2011).
  131. Soontornniyomkij, V. *et al.* Cerebral  $\beta$ -amyloid deposition predicts HIV-associated neurocognitive disorders in APOE  $\epsilon$ 4 carriers. *AIDS* **26**, 2327–2335 (2012).
  132. Panos, S. *et al.* Apolipoprotein-E genotype and human immunodeficiency virus-associated neurocognitive disorder: the modulating effects of older age and disease severity. *Neurobehav. HIV Med.* **11** (2013). doi:10.2147/NBHIV.S39573
  133. Morgan, E. E. *et al.* Apolipoprotein E4 genotype does not increase risk of HIV-associated neurocognitive disorders. *J. Neurovirol.* **19**, 150–6 (2013).
  134. Hoare, J. *et al.* Relationship between apolipoprotein E4 genotype and white matter integrity in HIV-positive young adults in South Africa. *Eur. Arch. Psychiatry Clin. Neurosci.* **263**, 189–95 (2013).
  135. Cysique, L. A. *et al.* APOE  $\epsilon$ 4 moderates abnormal CSF- $\beta$ 42 levels, while neurocognitive impairment is associated with abnormal CSF tau levels in HIV+ individuals ? a cross-sectional observational study. *BMC Neurol.* **15**, 51 (2015).
  136. Levine, A. J. *et al.* Multilevel analysis of neuropathogenesis of neurocognitive impairment in HIV. *J. Neurovirol.* **22**, 431–441 (2016).
  137. Valcour, V. *et al.* Age, apolipoprotein E4, and the risk of HIV dementia: the Hawaii Aging with HIV Cohort. *J. Neuroimmunol.* **157**, 197–202 (2004).
  138. Vitek, M. P., Brown, C. M. & Colton, C. A. APOE genotype-specific differences in the innate immune response. *Neurobiol. Aging* **30**, 1350–60 (2009).
  139. Kuhlmann, I., Minihane, A., Huebbe, P., Nebel, A. & Rimbach, G. Apolipoprotein E genotype and hepatitis C, HIV and herpes simplex disease risk: a literature review. *Lipids Health Dis.* **9**, 8 (2010).
  140. Sato-Matsumura, K. C., Berger, J., Hainfellner, J. A., Mazal, P. & Budka, H.

- Development of HIV encephalitis in AIDS and TNF-?? regulatory elements. *J. Neuroimmunol.* **91**, 89–92 (1998).
141. Quasney, M. W. *et al.* Increased frequency of the tumor necrosis factor- $\alpha$ -308 A allele in adults with human immunodeficiency virus dementia. *Ann. Neurol.* **50**, 157–62 (2001).
  142. Levine, A. J. *et al.* CCL3 genotype and current depression increase risk of HIV-associated dementia. *Neurobehav. HIV Med.* **1**, 1–7 (2009).
  143. Levine, A. J. *et al.* The longitudinal and interactive effects of HIV status, stimulant use, and host genotype upon neurocognitive functioning. *J. Neurovirol.* **20**, 243–257 (2014).
  144. Wesselingh, S. L. *et al.* Cellular localization of tumor necrosis factor mRNA in neurological tissue from HIV-infected patients by combined reverse transcriptase/polymerase chain reaction in situ hybridization and immunohistochemistry. *J. Neuroimmunol.* **74**, 1–8 (1997).
  145. Yeh, M. W. *et al.* Cytokine-stimulated, but not HIV-infected, human monocyte-derived macrophages produce neurotoxic levels of l-cysteine. *J. Immunol.* **164**, 4265–70 (2000).
  146. Louis, E. *et al.* Tumour necrosis factor (TNF) gene polymorphism influences TNF- $\alpha$  production in lipopolysaccharide (LPS)-stimulated whole blood cell culture in healthy humans. *Clin. Exp. Immunol.* **113**, 401–6 (1998).
  147. Wesselingh, S. L. *et al.* Intracerebral cytokine messenger RNA expression in acquired immunodeficiency syndrome dementia. *Ann. Neurol.* **33**, 576–82 (1993).
  148. Achim, C. L., Heyes, M. P. & Wiley, C. A. Quantitation of human immunodeficiency virus, immune activation factors, and quinolinic acid in AIDS brains. *J. Clin. Invest.* **91**, 2769–75 (1993).
  149. Tyor, W. R. *et al.* Cytokine expression in the brain during the acquired immunodeficiency syndrome. *Ann. Neurol.* **31**, 349–60 (1992).
  150. Chao, C. C. & Hu, S. Tumor necrosis factor- $\alpha$  potentiates glutamate neurotoxicity in human fetal brain cell cultures. *Dev. Neurosci.* **16**, 172–9 (1994).
  151. Benos, D. J., McPherson, S., Hahn, B. H., Chaikin, M. A. & Benveniste, E. N. Cytokines

- and HIV envelope glycoprotein gp120 stimulate Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> exchange in astrocytes. *J. Biol. Chem.* **269**, 13811–6 (1994).
152. Selmaj, K. & Raine, C. S. Tumor necrosis factor mediates myelin damage in organotypic cultures of nervous tissue. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **540**, 568–70 (1988).
  153. Brabers, N. A. C. H. & Nottet, H. S. L. M. Role of the pro-inflammatory cytokines TNF- $\alpha$  and IL-1 $\beta$  in HIV-associated dementia. *Eur. J. Clin. Invest.* **36**, 447–58 (2006).
  154. Boven, L. A., van der Bruggen, T., van Asbeck, B. S., Marx, J. J. & Nottet, H. S. Potential role of CCR5 polymorphism in the development of AIDS dementia complex. *FEMS Immunol. Med. Microbiol.* **26**, 243–7 (1999).
  155. van Rij, R. P. *et al.* Reduced prevalence of the CCR5 delta32 heterozygous genotype in human immunodeficiency virus-infected individuals with AIDS dementia complex. *J. Infect. Dis.* **180**, 854–7 (1999).
  156. Singh, K. K. *et al.* Genetic influence of CCR5, CCR2, and SDF1 variants on human immunodeficiency virus 1 (HIV-1)-related disease progression and neurological impairment, in children with symptomatic HIV-1 infection. *J. Infect. Dis.* **188**, 1461–72 (2003).
  157. Singh, K. K. *et al.* CCR2 polymorphisms affect neuropsychological impairment in HIV-1-infected adults. *J. Neuroimmunol.* **157**, 185–92 (2004).
  158. Samson, M. *et al.* Resistance to HIV-1 infection in caucasian individuals bearing mutant alleles of the CCR-5 chemokine receptor gene. *Nature* **382**, 722–5 (1996).
  159. Gonzalez, E. *et al.* HIV-1 infection and AIDS dementia are influenced by a mutant MCP-1 allele linked to increased monocyte infiltration of tissues and MCP-1 levels. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **99**, 13795–13800 (2002).
  160. Shiramizu, B., Lau, E., Tamamoto, A., Uniatowski, J. & Troelstrup, D. Feasibility assessment of cerebrospinal fluid from HIV-1-infected children for HIV proviral DNA and monocyte chemoattractant protein 1 alleles. *J. Investig. Med.* **54**, 468–72 (2006).
  161. Thames, A. D. *et al.* The role of chemokine C-C motif ligand 2 genotype and cerebrospinal fluid chemokine C-C motif ligand 2 in neurocognition among HIV-infected patients. *AIDS* **29**, 1483–91 (2015).

162. McDermott, D. H. *et al.* CCL2 polymorphisms are associated with serum monocyte chemoattractant protein-1 levels and myocardial infarction in the Framingham Heart Study. *Circulation* **112**, 1113–20 (2005).
163. Letendre, S. *et al.* The monocyte chemotactic protein-1 -2578G allele is associated with elevated MCP-1 concentrations in cerebrospinal fluid. *J. Neuroimmunol.* **157**, 193–6 (2004).
164. Spector, S. A. *et al.* APOE epsilon4 and MBL-2 O/O genotypes are associated with neurocognitive impairment in HIV-infected plasma donors. *AIDS* **24**, 1471–9 (2010).
165. Agace, W. W. *et al.* Constitutive expression of stromal derived factor-1 by mucosal epithelia and its role in HIV transmission and propagation. *Curr. Biol.* **10**, 325–8 (2000).
166. Zheng, J. *et al.* Intracellular CXCR4 signaling, neuronal apoptosis and neuropathogenic mechanisms of HIV-1-associated dementia. *J. Neuroimmunol.* **98**, 185–200 (1999).
167. Kaul, M. & Lipton, S. A. Chemokines and activated macrophages in HIV gp120-induced neuronal apoptosis. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **96**, 8212–8216 (1999).
168. Schmidtmayerova, H. *et al.* Human immunodeficiency virus type 1 infection alters chemokine beta peptide expression in human monocytes: implications for recruitment of leukocytes into brain and lymph nodes. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **93**, 700–4 (1996).
169. Modi, W. S. *et al.* Genetic Variation in the CCL18-CCL3-CCL4 Chemokine Gene Cluster Influences HIV Type 1 Transmission and AIDS Disease Progression. *Am. J. Hum. Genet.* **79**, 120–128 (2006).
170. Davies, J. *et al.* HIV-associated brain pathology in the United Kingdom: an epidemiological study. *AIDS* **11**, 1145–50 (1997).
171. Nath, A., Maragos, W. F., Avison, M. J., Schmitt, F. A. & Berger, J. R. Acceleration of HIV dementia with methamphetamine and cocaine. *J. Neurovirol.* **7**, 66–71 (2001).
172. Cristiani, S. A., Pukay-Martin, N. D. & Bornstein, R. A. Marijuana use and cognitive function in HIV-infected people. *J. Neuropsychiatry Clin. Neurosci.* **16**, 330–5 (2004).
173. Burdo, T. H., Katner, S. N., Taffe, M. A. & Fox, H. S. Neuroimmunity, Drugs of Abuse, and neuroAIDS. *J. Neuroimmune Pharmacol.* **1**, 41–49 (2006).



174. Ferris, M. J., Mactutus, C. F. & Booze, R. M. Neurotoxic profiles of HIV, psychostimulant drugs of abuse, and their concerted effect on the brain: current status of dopamine system vulnerability in NeuroAIDS. *Neurosci. Biobehav. Rev.* **32**, 883–909 (2008).
175. Gaskill, P. J. *et al.* Human Immunodeficiency Virus (HIV) Infection of Human Macrophages Is Increased by Dopamine. *Am. J. Pathol.* **175**, 1148–1159 (2009).
176. Bousman, C. A. *et al.* COMT Val158Met Polymorphism, Executive Dysfunction, and Sexual Risk Behavior in the Context of HIV Infection and Methamphetamine Dependence. *Interdiscip. Perspect. Infect. Dis.* **2010**, 678648 (2010).
177. Levine, A. J., Sinsheimer, J. S., Bilder, R., Shapshak, P. & Singer, E. J. Functional polymorphisms in dopamine-related genes: effect on neurocognitive functioning in HIV+ adults. *J. Clin. Exp. Neuropsychol.* **34**, 78–91 (2012).
178. Chang, L. *et al.* Decreased brain dopamine transporters are related to cognitive deficits in HIV patients with or without cocaine abuse. *Neuroimage* **42**, 869–78 (2008).
179. Guillin, O. *et al.* BDNF controls dopamine D3 receptor expression and triggers behavioural sensitization. *Nature* **411**, 86–9 (2001).
180. Mössner, R. *et al.* Serotonin transporter function is modulated by brain-derived neurotrophic factor (BDNF) but not nerve growth factor (NGF). *Neurochem. Int.* **36**, 197–202 (2000).
181. Bol, S. M. *et al.* Genome-wide association study identifies single nucleotide polymorphism in DYRK1A associated with replication of HIV-1 in monocyte-derived macrophages. *PLoS One* **6**, e17190 (2011).
182. Khoury, M. J., Little, J., Gwinn, M. & Ioannidis, J. P. A. On the synthesis and interpretation of consistent but weak gene-disease associations in the era of genome-wide association studies. *Int. J. Epidemiol.* **36**, 439–45 (2007).
183. Sagoo, G. S., Little, J. & Higgins, J. P. T. Systematic Reviews of Genetic Association Studies. *PLoS Med.* **6**, e1000028 (2009).
184. Khoury, M. J., Millikan, R., Little, J. & Gwinn, M. The emergence of epidemiology in the genomics age. *Int. J. Epidemiol.* **33**, 936–44 (2004).

185. Michael Borenstein, Larry V. Hedges, J. P. T. H. and H. R. R. *Introduction to Meta-Analysis. Introduction to Meta-Analysis* (John Wiley & Sons, Ltd, 2009). doi:10.1002/9780470743386.refs
186. Uman, L. S. Systematic reviews and meta-analyses. *J. Can. Acad. Child Adolesc. Psychiatry* **20**, 57–9 (2011).
187. Pae, C.-U. Why Systematic Review rather than Narrative Review? *Psychiatry Investig.* **12**, 417 (2015).
188. Cipriani, A. & Geddes, J. Comparison of systematic and narrative reviews: the example of the atypical antipsychotics. *Epidemiol. Psychiatr. Soc.* **12**, 146–53
189. Kaczorowski, J. Standing on the shoulders of giants: Introduction to systematic reviews and meta-analyses. *Can. Fam. Physician* **55**, 1155–6 (2009).
190. Whiting, P., Rutjes, A. W., Reitsma, J. B., Bossuyt, P. M. & Kleijnen, J. The development of QUADAS: a tool for the quality assessment of studies of diagnostic accuracy included in systematic reviews. *BMC Med. Res. Methodol.* **3**, 25 (2003).
191. Wells GA, Shea B, O’Connell D, Peterson J, Welch V, Losos M, et al. The Newcastle-Ottawa Scale (NOS) for assessing the quality of nonrandomised studies in meta-analyses. Available < [http://www.ohri.ca/programs/clinical\\_epidemiology/oxford.asp](http://www.ohri.ca/programs/clinical_epidemiology/oxford.asp)>. (2013).
192. Sohani, Z. N. *et al.* Assessing the quality of published genetic association studies in meta-analyses: the quality of genetic studies (Q-Genie) tool. *BMC Genet.* **16**, 50 (2015).
193. Haidich, A. B. Meta-analysis in medical research. *Hippokratia* **14**, 29–37 (2010).
194. Akobeng, A. K. Understanding systematic reviews and meta-analysis. *Arch. Dis. Child.* **90**, 845–848 (2005).
195. Nikolakopoulou, A., Mavridis, D. & Salanti, G. How to interpret meta-analysis models: fixed effect and random effects meta-analyses. *Evid. Based. Ment. Health* **17**, 64 (2014).
196. Lee, Y. H. Meta-Analysis of Genetic Association Studies. *Ann. Lab. Med.* **35**, 283 (2015).
197. Liu, M., Bian, C., Zhang, J. & Wen, F. Apolipoprotein E gene polymorphism and

- Alzheimer's disease in Chinese population: a meta-analysis. *Sci. Rep.* **4**, 4383 (2015).
198. Moher, D., Liberati, A., Tetzlaff, J., Altman, D. G. & PRISMA Group. Preferred reporting items for systematic reviews and meta-analyses: the PRISMA statement. *PLoS Med.* **6**, e1000097 (2009).
  199. Günthard, H. F. *et al.* Antiretroviral Drugs for Treatment and Prevention of HIV Infection in Adults: 2016 Recommendations of the International Antiviral Society-USA Panel. *JAMA* **316**, 191–210 (2016).
  200. Scott, J. C. *et al.* Neurocognitive consequences of HIV infection in older adults: An evaluation of the 'Cortical' hypothesis. *AIDS Behav.* **15**, 1187–1196 (2011).
  201. Scott, J. C. *et al.* A neuropsychological investigation of multitasking in HIV infection: Implications for everyday functioning. *Neuropsychology* **25**, 511–519 (2011).
  202. Trikalinos, T. A., Salanti, G., Zintzaras, E. & Ioannidis, J. P. A. in 311–334 (2008). doi:10.1016/S0065-2660(07)00413-0
  203. Sohani, Z. N. *et al.* Empirical evaluation of the Q-Genie tool: a protocol for assessment of effectiveness. *BMJ Open* **6**, e010403 (2016).
  204. Munafò, M. R., Stothart, G. & Flint, J. Bias in genetic association studies and impact factor. *Mol. Psychiatry* **14**, 119–20 (2009).
  205. Sterne, J. A., Gavaghan, D. & Egger, M. Publication and related bias in meta-analysis: power of statistical tests and prevalence in the literature. *J. Clin. Epidemiol.* **53**, 1119–29 (2000).
  206. Salanti, G., Sanderson, S. & Higgins, J. P. T. Obstacles and opportunities in meta-analysis of genetic association studies. *Genet. Med.* **7**, 13–20 (2005).
  207. Sampaio, M. . *et al.* . Estudos de revisão sistemática: Um guia para síntese criteriosa da evidência científica. *Rev. Bras. Fisioter.* (2007).
  208. Gisslén, M., Price, R. W. & Nilsson, S. The definition of HIV-associated neurocognitive disorders: are we overestimating the real prevalence? *BMC Infect. Dis.* **11**, 356 (2011).
  209. Lohmueller, K. E., Pearce, C. L., Pike, M., Lander, E. S. & Hirschhorn, J. N. Meta-analysis of genetic association studies supports a contribution of common variants to

- susceptibility to common disease. *Nat. Genet.* **33**, 177–82 (2003).
210. Elbaz, A. & Alperovitch, A. Bias in association studies resulting from gene-environment interactions and competing risks. *Am. J. Epidemiol.* **155**, 265–72 (2002).
  211. Sauerland, S. & Seiler, C. M. Role of systematic reviews and meta-analysis in evidence-based medicine. *World J. Surg.* **29**, 582–7 (2005).
  212. Thompson, S. G. Why sources of heterogeneity in meta-analysis should be investigated. *BMJ* **309**, 1351–5 (1994).
  213. L. Fazeli, P. *et al.* Cognitive Functioning In Adults Aging With HIV: A Cross-Sectional Analysis Of Cognitive Subtypes And Influential Factors. *J. Clin. Res. HIV AIDS Prev.* **1**, 54–68 (2014).
  214. Valcour, V. *et al.* Higher frequency of dementia in older HIV-1 individuals: the Hawaii Aging with HIV-1 Cohort. *Neurology* **63**, 822–7 (2004).
  215. Focà, E. *et al.* Screening for Neurocognitive Impairment in HIV-Infected Individuals at First Contact after HIV Diagnosis: The Experience of a Large Clinical Center in Northern Italy. *Int. J. Mol. Sci.* **17**, 434 (2016).
  216. Tang, H. *et al.* Genetic Structure, Self-Identified Race/Ethnicity, and Confounding in Case-Control Association Studies. *Am. J. Hum. Genet.* **76**, 268–275 (2005).
  217. Bamshad, M. J. *et al.* Human Population Genetic Structure and Inference of Group Membership. *Am. J. Hum. Genet.* **72**, 578–589 (2003).
  218. Lander, E. S. & Schork, N. J. Genetic dissection of complex traits. *Science* **265**, 2037–48 (1994).
  219. Pritchard, J. K. & Rosenberg, N. A. Use of unlinked genetic markers to detect population stratification in association studies. *Am. J. Hum. Genet.* **65**, 220–8 (1999).
  220. Choudhry, S. *et al.* Dissecting complex diseases in complex populations: asthma in latino americans. *Proc. Am. Thorac. Soc.* **4**, 226–33 (2007).
  221. Choudhry, S. *et al.* Population stratification confounds genetic association studies among Latinos. *Hum. Genet.* **118**, 652–64 (2006).

222. Letendre, S. L. *et al.* ING116070: a study of the pharmacokinetics and antiviral activity of dolutegravir in cerebrospinal fluid in HIV-1-infected, antiretroviral therapy-naive subjects. *Clin. Infect. Dis.* **59**, 1032–7 (2014).
223. Etherton, M. R., Lyons, J. L. & Ard, K. L. HIV-associated Neurocognitive Disorders and Antiretroviral Therapy: Current Concepts and Controversies. *Curr. Infect. Dis. Rep.* **17**, 485 (2015).
224. Robertson, K., Liner, J. & Meeker, R. B. Antiretroviral neurotoxicity. *J. Neurovirol.* **18**, 388–99 (2012).
225. Eisfeld, C., Reichelt, D., Evers, S. & Husstedt, I. CSF penetration by antiretroviral drugs. *CNS Drugs* **27**, 31–55 (2013).
226. Glasziou, P. P. & Sanders, S. L. Investigating causes of heterogeneity in systematic reviews. *Stat. Med.* **21**, 1503–11 (2002).
227. Thompson, S. G. & Higgins, J. P. T. How should meta-regression analyses be undertaken and interpreted? *Stat. Med.* **21**, 1559–73 (2002).
228. Nakaoka, H. & Inoue, I. Meta-analysis of genetic association studies: methodologies, between-study heterogeneity and winner’s curse. *J. Hum. Genet.* **54**, 615–23 (2009).
229. Trikalinos, T. A., Ntzani, E. E., Contopoulos-Ioannidis, D. G. & Ioannidis, J. P. Establishment of genetic associations for complex diseases is independent of early study findings. *Eur. J. Hum. Genet.* **12**, 762–769 (2004).
230. Egger, M., Davey Smith, G., Schneider, M. & Minder, C. Bias in meta-analysis detected by a simple, graphical test. *BMJ* **315**, 629–34 (1997).
231. Sterne, J. A. & Egger, M. Funnel plots for detecting bias in meta-analysis: guidelines on choice of axis. *J. Clin. Epidemiol.* **54**, 1046–55 (2001).
232. Owens, D. K. *et al.* AHRQ series paper 5: grading the strength of a body of evidence when comparing medical interventions--agency for healthcare research and quality and the effective health-care program. *J. Clin. Epidemiol.* **63**, 513–23 (2010).
233. Ioannidis, J. P. A. The Mass Production of Redundant, Misleading, and Conflicted Systematic Reviews and Meta-analyses. *Milbank Q.* **94**, 485–514 (2016).

234. Ioannidis, J. P. A., Chang, C. Q., Lam, T. K., Schully, S. D. & Khoury, M. J. The Geometric Increase in Meta-Analyses from China in the Genomic Era. *PLoS One* **8**, e65602 (2013).

### 3. DISCUSSÃO

O presente trabalho analisou a susceptibilidade genética associada ao HAND. Para isso, estudos primários que realizaram testes de associação para variantes genéticas e esse fenótipo foram verificados por meio de uma revisão sistemática com metanálise. As variantes abordadas no maior número de estudos estão no gene ApoE (rs7412 e rs429358) e já foram analisadas anteriormente por metanálise (Mattos et al., comunicação pessoal). O restante das variantes foi abordado por um número menor de estudos, que apresentavam muitas vezes significativa heterogeneidade entre eles, além de comprometimentos metodológicos. Desse modo, a realização de metanálises para essas variantes se tornou inviável, com exceção de uma variante no gene TNF-  $\alpha$  (rs1800629). Esta foi avaliada por seis estudos, em sete amostras, que foram compiladas neste trabalho.

Uma revisão sistemática, assim como qualquer estudo secundário, depende da qualidade dos estudos primários <sup>207</sup>. Assim, é importante ressaltar limitações encontradas nos estudos analisados por essa revisão, para que os próximos estudos se atentem e melhores evidências sejam produzidas. Primeiro, foi observada uma considerável heterogeneidade, principalmente com relação à avaliação fenotípica, entre esses estudos, o que compromete a capacidade de comparação e compilação dos resultados <sup>95</sup>. Alguns caracterizaram o comprometimento neurocognitivo de suas amostras por meio de critérios neuropatológicos, outros por baterias de testes neuropsicológicos, dentre outras diferentes formas de avaliação. A metodologia baseada em testes neuropsicológicos, por exemplo, pode resultar em diagnósticos excessivos de pacientes com formas menos graves de comprometimento neurocognitivo, como o ANI <sup>208</sup>. Se uma quantidade significativa de indivíduos é considerada com HAND, quando na verdade não possui esse fenótipo, as estimativas de tamanho do efeito serão comprometidas. Segundo, a caracterização clínico-demográfica das amostras foi muitas vezes insuficiente, o que pode ser reflexo de comprometimentos relacionados ao desenho experimental. HAND é um fenótipo comum na população de indivíduos HIV positivos, sendo caracterizado como multifatorial. Dessa maneira, o desenvolvimento de HAND seria afetado por genes (provavelmente não por apenas um com grande efeito, mas por vários com contribuições menores) e por fatores ambientais <sup>95,101,182,209</sup>. Desenhos experimentais voltados para heranças monogênicas, ou seja, que são planejados para encontrar uma variante genética que explique consideravelmente o fenótipo sozinha, não serão, portanto, os mais eficientes para analisar associações com fenótipos que se espera ser multifatorial. Interações entre genes ou destes com o ambiente podem gerar viés na avaliação da associação entre uma variante genética e o fenótipo, quando fatores que afetam significativamente a chance de desenvolver o fenótipo são ignorados, sejam eles outros genes ou fatores ambientais <sup>210</sup>. Se

um fator que, por exemplo, aumenta a chance de desenvolver o fenótipo, é representado em maior quantidade no grupo teste, em comparação ao controle (de um estudo que busca avaliar a associação entre determinada variante genética e um fenótipo específico), a estimação do tamanho de efeito será comprometida, com maior possibilidade de falsos positivos, ou seja, será esperado observar a presença de associação, quando, na verdade, ela pode não existir. Sendo assim, esses fatores de risco e confundidores, que podem afetar o fenótipo analisado, deveriam ser controlados ou, no mínimo, descritos nos estudos primários <sup>211,212</sup>. No entanto, alguns importantes fatores não foram controlados ou suficientemente descritos nos estudos analisados por essa revisão. Dentre eles estão:

- a idade. Indivíduos com idades mais avançadas estão associados a um risco maior de desenvolver HAND <sup>54,213</sup>. Por exemplo, adultos HIV positivos com idade superior a 50 anos tiveram chance duas vezes maior de desenvolver HAD, se comparados com indivíduos HIV positivos mais jovens, em uma coorte no Hawaii <sup>214</sup>;

- o gênero. Diferenças entre homens e mulheres podem afetar o risco de desenvolver HAND <sup>52,215</sup>. Por exemplo, uma regressão logística multivariada realizada a partir de 206 pacientes HIV positivos mostrou que o gênero masculino está associado com o fenótipo HAND e que poderia ser considerado um fator de risco <sup>215</sup> embora outro estudo indique que o gênero feminino possui maior chance de apresentar HAND <sup>52</sup>.

- a etnia. A estrutura genética das populações pode ser confundidor em estudos de associação genética <sup>216</sup>, já que indivíduos de uma população compartilham algumas variantes genéticas mais frequentemente com indivíduos da mesma população do que com indivíduos de populações distintas <sup>217</sup> e, caso essa variante afete o fenótipo, a maior frequência de indivíduos de uma população específica no grupo teste ou no controle poderá resultar em associações espúrias <sup>218,219</sup>. Portanto, a etnia da amostra deve ser caracterizada e descrita. Além disso deve-se atentar ao modo como a etnia foi determinada, pois quando um indivíduo define sua própria etnia é possível que ela esteja em desacordo com a estruturação genética das populações <sup>220,221</sup>;

- o tratamento. Diferentes medicamentos possuem, por exemplo, variações associadas a neurotoxicidade e, também, uma capacidade variável de ultrapassar a barreira hematoencefálica, de maneira que podem ser mais ou menos efetivos no controle da viremia no sistema nervoso central <sup>222,223</sup>. Variações no grau de toxicidade ou na penetração do medicamento no sistema nervoso central podem afetar o desenvolvimento de HAND <sup>224,225</sup>. Portanto, o tratamento é um possível confundidor e muitas vezes sua descrição foi insuficiente para caracterização de quais medicamentos foram efetivamente usados;



- a presença de comorbidades. Co-infecções virais (HCV, HIV-2, HTLV-I), abuso de álcool e outras substâncias, déficits cognitivos relacionados à idade, deficiências nutricionais, aterosclerose acelerada, lesão cerebral traumática, distúrbios do sono e doenças psiquiátricas são exemplos de comorbidades que devem ser consideradas, pois são capazes de afetar a chance de desenvolver HAND, além de serem confundidores para o diagnóstico desse fenótipo.<sup>54</sup>

A avaliação da influência de possíveis fatores de risco ou confundidores no resultado da metanálise pode ser feita por meio de teste de sensibilidade, como a metaregressão, ao proporcionar comparação entre subgrupos, por exemplo<sup>226,227</sup>. No entanto, a pequena amostra desse trabalho, assim como a indisponibilidade de dados clínico-demográficos inviabilizou a realização desse tipo de teste.

Mesmo partindo do pressuposto que os estudos primários não apresentam heterogeneidade que comprometa a comparação e síntese de seus resultados, e que os fatores citados acima foram devidamente controlados e suficientemente descritos, problemas metodológicos podem comprometer a identificação de associações verdadeiras. Em uma suposição, 60 estudos foram realizados para testar a associação entre um polimorfismo genético e um fenótipo. Antes de serem executados, uma análise estatística calculou um poder (probabilidade de encontrar associação, quando ela existe. Em um estudo de baixo poder, espera-se falsos negativos, ou seja, espera-se que associações que, de fato, existam não sejam encontradas) de 50% para esses testes. Depois de serem realizados e publicados, 30 estudos mostraram resultados significativos, apontando uma associação entre o polimorfismo genético e o fenótipo, e os outros 30 não mostraram resultados significativos, apontando inexistência de associação, o que poderia levar a conclusão de que esses resultados são inconsistentes e que não seria válido investir nesse polimorfismo. No entanto, esses resultados estão coerentes com o poder estatístico dos testes e seriam esperados, mesmo que exista, de fato, uma associação entre essa variante genética e o polimorfismo, ou seja, os 30 estudos poderiam ter resultados não significativos apenas porque não havia poder o suficiente para identificar a associação<sup>185</sup>. Portanto, é importante que os estudos primários estimem e apresentem os resultados dessa estimativa do poder, e publiquem seus resultados mesmo que não seja encontrada associação significativa, já que esses resultados contribuem para o corpo de evidência e a publicação apenas dos que se mostram significativos geraria um viés de publicação, que pode culminar em revisões com resultados espúrios<sup>193,196</sup>.

Uma revisão sistemática com metanálise que incluísse esses 60 estudos poderia, ao proporcionar aumento do poder, evidenciar a existência de associação entre o polimorfismo e o fenótipo em questão<sup>183,185</sup>. Analisar resultados não significativos, como no exemplo citado,

pode ser especialmente importante se os estudos primários apontam para uma mesma direção, o que é percebido pela análise do tamanho dos efeitos. As implicações seriam diferentes se a estimativa do tamanho do efeito compilado apontasse que o polimorfismo diminui em 30% a chance de desenvolver o fenótipo, em uma situação que alguns estudos individuais apontassem que o polimorfismo reduz a chance em 40% e outros apontassem que essa variante aumenta em 60% a chance de desenvolver o fenótipo; se comparada a uma situação em que todos os estudos individuais apontam que o polimorfismo diminui a chance de desenvolver o fenótipo, mesmo que com valores de razão de chances distintos.

Quando os primeiros estudos que avaliam uma determinada associação mostram resultados significativos, existe um efeito de estímulo para a publicação de mais estudos avaliando essa associação, se comparado a uma situação em que os primeiros estudos mostraram associação não significativa <sup>228</sup>. Trikalinos e col., ao examinarem 55 metanálises (totalizando 579 estudos primários), observaram que a taxa média de publicações subsequente a um primeiro estudo com resultado significativo é 17% maior do que quando o primeiro estudo possui resultado não significativo; e perceberam que os resultados dessas metanálises foram independentes da significância dos primeiros trabalhos publicados <sup>229</sup>. Incluir mais estudos com resultados significativos do que o contrário, como consequência do fato de os primeiros terem maior probabilidade de serem publicados (viés de publicação), leva a estimação aumentada do tamanho de efeito e, assim, a resultados falsos positivos <sup>193,196</sup>. Além disso, muitas associações genuínas podem não ser detectadas se pesquisas forem abandonadas depois de estudos primários iniciais apontarem resultados não significativos. Testes, como o gráfico do funil, podem ser úteis para avaliar e detectar o viés de publicação <sup>230,231</sup>. No entanto, a pequena quantidade de amostras da nossa revisão inviabilizou sua construção.

Quando realizadas adequadamente, revisões sistemáticas com metanálise podem ser consideradas a mais forte das evidências científicas <sup>189,232</sup>. No entanto, análises da crescente quantidade de metanálises publicadas mostraram que erros podem levar a publicações desnecessárias e a evidências sub-ótimas ou até mesmo enganosas, o que é especialmente alarmante dado o maior prestígio e influência que esses tipos de estudos adquiriram <sup>233</sup>. Por exemplo, uma avaliação das metanálises de estudos de associação realizadas na China (país que atualmente produz a maior quantidade de metanálises nessa área) e publicadas entre 1995 e 2012 (n = 34.238), concluiu que a maioria desses estudos provavelmente chegou a resultados enganosos <sup>234</sup>. A escolha da hipótese a ser avaliada, a definição dos estudos elegíveis, a seleção de comparações, populações e resultados de interesse, os tipos de dados extraídos, os métodos estatísticos utilizados, juntamente com outros fatores, permitem uma diversidade substancial nos resultados finais de metanálises que analisaram o mesmo corpo de evidência disponível <sup>233</sup>.

A utilização de guias com lista de verificação pode auxiliar autores a publicarem revisões sistemáticas com metanálise de maior qualidade, além de poder ainda ser útil à avaliação crítica de revisões já publicadas. Dessa maneira, a revisão sistemática com metanálise de estudos primários que avaliaram a associação entre variantes genéticas e o comprometimento neurocognitivo associado ao HIV foi realizada utilizando o guia denominado PRISMA.

#### 4. CONCLUSÃO

A revisão sistemática com metanálise realizada fornece evidência de que a variante genética TNF- $\alpha$ -308 (rs1800629) não está associada ao comprometimento neurocognitivo associado ao HIV. Os resultados apresentados mostraram, também, que não existe suporte científico suficiente para sustentar a afirmação da presença ou ausência de associação entre as demais variantes estudadas e o fenótipo analisado. Dessa maneira, os resultados disponíveis no momento não são suficientes para justificar testes genéticos na prática clínica nesse contexto e, portanto, mais estudos são necessários à identificação de variantes genéticas que possam estar associadas a esse tipo de comprometimento neurocognitivo. No entanto, não basta simplesmente produzir novos estudos em quantidade. É muito importante que os futuros estudos se atentem às limitações discutidas para que melhores evidências sejam produzidas.

## 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Barré-Sinoussi, F., Ross, A. L. & Delfraissy, J.-F. Past, present and future: 30 years of HIV research. *Nat. Rev. Microbiol.* **11**, 877–883 (2013).
2. AIDS.gov. A TIMELINE OF HIV/AIDS. *AIDS.gov* (2016).
3. Barré-Sinoussi, F. *et al.* Isolation of a T-lymphotropic retrovirus from a patient at risk for acquired immune deficiency syndrome (AIDS). *Science* **220**, 868–71 (1983).
4. UNAIDS. Global AIDS Update 2016. 1 (2016).
5. WHO. HIV/AIDS - Key facts. (2016).
6. Sharp, P. M. & Hahn, B. H. Origins of HIV and the AIDS Pandemic. *Cold Spring Harb. Perspect. Med.* **1**, a006841–a006841 (2011).
7. Chen, P. *et al.* Virological synapses allow HIV-1 uptake and gene expression in renal tubular epithelial cells. *J. Am. Soc. Nephrol.* **22**, 496–507 (2011).
8. Liu, Y. *et al.* CD4-Independent Infection of Astrocytes by Human Immunodeficiency Virus Type 1: Requirement for the Human Mannose Receptor CD4-Independent Infection of Astrocytes by Human Immunodeficiency Virus Type 1: Requirement for the Human Mannose Receptor. *J. Virol.* **78**, 4120–4133 (2004).
9. Maartens, G., Celum, C. & Lewin, S. R. HIV infection: Epidemiology, pathogenesis, treatment, and prevention. *Lancet* **384**, 258–271 (2014).
10. Shaw, G. M. & Hunter, E. HIV Transmission. *Cold Spring Harb. Perspect. Med.* **2**, a006965–a006965 (2012).
11. Lackner, A. A., Lederman, M. M. & Rodriguez, B. HIV Pathogenesis: The Host. *Cold Spring Harb. Perspect. Med.* **2**, a007005–a007005 (2012).
12. Coffin, J. & Swanstrom, R. HIV Pathogenesis: Dynamics and Genetics of Viral Populations and Infected Cells. *Cold Spring Harb. Perspect. Med.* **3**, a012526–a012526 (2013).
13. Schacker, T., Collier, A. C., Hughes, J., Shea, T. & Corey, L. Clinical and epidemiologic features of primary HIV infection. *Ann. Intern. Med.* **125**, 257–64 (1996).
14. Mellors, J. W. *et al.* Prognosis in HIV-1 infection predicted by the quantity of virus in plasma. *Science* **272**, 1167–70 (1996).

15. Mellors, J. W. *et al.* Plasma viral load and CD4+ lymphocytes as prognostic markers of HIV-1 infection. *Ann. Intern. Med.* **126**, 946–54 (1997).
16. Rodríguez, B. *et al.* Predictive Value of Plasma HIV RNA Level on Rate of CD4 T-Cell Decline in Untreated HIV Infection. *JAMA* **296**, 1498 (2006).
17. Giorgi, J. V *et al.* Elevated levels of CD38+ CD8+ T cells in HIV infection add to the prognostic value of low CD4+ T cell levels: results of 6 years of follow-up. The Los Angeles Center, Multicenter AIDS Cohort Study. *J. Acquir. Immune Defic. Syndr.* **6**, 904–12 (1993).
18. Liu, R. *et al.* Homozygous defect in HIV-1 coreceptor accounts for resistance of some multiply-exposed individuals to HIV-1 infection. *Cell* **86**, 367–77 (1996).
19. Deeks, SG; Lewin, SR; Havlir, D. The End of AIDS: HIV Infection as a Chronic Disease. *Lancet* **382**, 1525–1533 (2013).
20. Horton, H., Vogel, T., O'Connor, D., Picker, L. & Watkins, D. I. Analysis of the immune response and viral evolution during the acute phase of SIV infection. *Vaccine* **20**, 1927–1932 (2002).
21. Paranjpe, S. *et al.* Subcompartmentalization of HIV-1 Quasispecies between Seminal Cells and Seminal Plasma Indicates Their Origin in Distinct Genital Tissues. *AIDS Res. Hum. Retroviruses* **18**, 1271–1280 (2002).
22. Ryzhova, E. V *et al.* Simian immunodeficiency virus encephalitis: analysis of envelope sequences from individual brain multinucleated giant cells and tissue samples. *Virology* **297**, 57–67 (2002).
23. González-Scarano, F. & Martín-García, J. The neuropathogenesis of AIDS. *Nat. Rev. Immunol.* **5**, 69–81 (2005).
24. Trautmann, L. *et al.* Upregulation of PD-1 expression on HIV-specific CD8+ T cells leads to reversible immune dysfunction. *Nat. Med.* **12**, 1198–202 (2006).
25. Mehandru, S. *et al.* Mechanisms of gastrointestinal CD4+ T-cell depletion during acute and early human immunodeficiency virus type 1 infection. *J. Virol.* **81**, 599–612 (2007).
26. Prendergast, A. *et al.* HIV-1 infection is characterized by profound depletion of CD161+ Th17 cells and gradual decline in regulatory T cells. *AIDS* **24**, 491–502 (2010).
27. Cosgrove, C. *et al.* Early and nonreversible decrease of CD161++ /MAIT cells in HIV infection. *Blood* **121**, 951–61 (2013).

28. Brenchley, J. M. *et al.* Microbial translocation is a cause of systemic immune activation in chronic HIV infection. *Nat. Med.* **12**, 1365–71 (2006).
29. Zeng, M. *et al.* Lymphoid tissue damage in HIV-1 infection depletes naïve T cells and limits T cell reconstitution after antiretroviral therapy. *PLoS Pathog.* **8**, e1002437 (2012).
30. Janoff, E. N., Breiman, R. F., Daley, C. L. & Hopewell, P. C. Pneumococcal disease during HIV infection. Epidemiologic, clinical, and immunologic perspectives. *Ann. Intern. Med.* **117**, 314–24 (1992).
31. Lichtfuss, G. F. *et al.* Biomarkers of immune dysfunction following combination antiretroviral therapy for HIV infection. *Biomark. Med.* **5**, 171–86 (2011).
32. Meier, A. *et al.* Sex differences in the Toll-like receptor-mediated response of plasmacytoid dendritic cells to HIV-1. *Nat. Med.* **15**, 955–9 (2009).
33. Hsue, P. Y. *et al.* Increased carotid intima-media thickness in HIV patients is associated with increased cytomegalovirus-specific T-cell responses. *AIDS* **20**, 2275–83 (2006).
34. Kuller, L. H. *et al.* Inflammatory and coagulation biomarkers and mortality in patients with HIV infection. *PLoS Med.* **5**, e203 (2008).
35. Hsue, P. Y. *et al.* Carotid Intima-Media Thickness Progression in HIV-Infected Adults Occurs Preferentially at the Carotid Bifurcation and Is Predicted by Inflammation. *J. Am. Heart Assoc.* **1**, jah3-e000422-jah3-e000422 (2012).
36. Marks, M. A. *et al.* Markers of microbial translocation and risk of AIDS-related lymphoma. *AIDS* **27**, 469–74 (2013).
37. Ancuta, P. *et al.* Microbial translocation is associated with increased monocyte activation and dementia in AIDS patients. *PLoS One* **3**, e2516 (2008).
38. Andrade, B. B. *et al.* Biomarkers of inflammation and coagulation are associated with mortality and hepatitis flares in persons coinfecting with HIV and hepatitis viruses. *J. Infect. Dis.* **207**, 1379–88 (2013).
39. Fischl, M. A. *et al.* The efficacy of azidothymidine (AZT) in the treatment of patients with AIDS and AIDS-related complex. A double-blind, placebo-controlled trial. *N. Engl. J. Med.* **317**, 185–91 (1987).
40. Lemey, P., Rambaut, A. & Pybus, O. G. HIV evolutionary dynamics within and among hosts. *AIDS Rev.* **8**, 125–40
41. Ho, D. D. *et al.* Rapid turnover of plasma virions and CD4 lymphocytes in HIV-1

- infection. *Nature* **373**, 123–126 (1995).
42. Wei, X. *et al.* Viral dynamics in human immunodeficiency virus type 1 infection. *Nature* **373**, 117–122 (1995).
  43. Hammer, S. M. *et al.* A controlled trial of two nucleoside analogues plus indinavir in persons with human immunodeficiency virus infection and CD4 cell counts of 200 per cubic millimeter or less. AIDS Clinical Trials Group 320 Study Team. *N. Engl. J. Med.* **337**, 725–33 (1997).
  44. Palella, F. J. *et al.* Declining morbidity and mortality among patients with advanced human immunodeficiency virus infection. HIV Outpatient Study Investigators. *N. Engl. J. Med.* **338**, 853–60 (1998).
  45. Bor, J., Herbst, A. J., Newell, M.-L. & Bärnighausen, T. Increases in adult life expectancy in rural South Africa: valuing the scale-up of HIV treatment. *Science* **339**, 961–5 (2013).
  46. Günthard, H. F. *et al.* Antiretroviral Treatment of Adult HIV Infection. *JAMA* **312**, 410 (2014).
  47. Ortblad, K. F., Lozano, R. & Murray, C. J. L. The burden of HIV: insights from the GBD 2010. *AIDS* 2003–2017 (2013). doi:10.1097/QAD.0b013e328362ba67
  48. American Academy of Neurology AIDS Task Force. Nomenclature and research case definitions for neurologic manifestations of human immunodeficiency virus-type 1 (HIV-1) infection. Report of a Working Group of the American Academy of Neurology AIDS Task Force. *Neurology* **41**, 778–85 (1991).
  49. Antinori, A. *et al.* Updated research nosology for HIV-associated neurocognitive disorders. *Neurology* **69**, 1789–99 (2007).
  50. Navia, B. A., Jordan, B. D. & Price, R. W. The AIDS dementia complex: I. Clinical features. *Ann. Neurol.* **19**, 517–524 (1986).
  51. Bornstein, R. A. *et al.* Neuropsychological performance in symptomatic and asymptomatic HIV infection. *AIDS* **7**, 519–24 (1993).
  52. Gandhi, N. S. *et al.* Comparison of scales to evaluate the progression of HIV-associated neurocognitive disorder. *HIV Ther.* **4**, 371–379 (2010).
  53. Christo, P. P. Alterações cognitivas na infecção pelo hiv e aids. *Rev Assoc Med Bras* 2010; 56(2) 242-7 **56**, 242–247 (2010).
  54. Saylor, D. *et al.* HIV-associated neurocognitive disorder--pathogenesis and prospects



- for treatment. *Nat. Rev. Neurol.* **12**, 234–48 (2016).
55. Grant, I. *et al.* Asymptomatic HIV-associated neurocognitive impairment increases risk for symptomatic decline. *Neurology* **82**, 2055–62 (2014).
  56. Heaton, R. K. *et al.* HIV-associated neurocognitive disorders persist in the era of potent antiretroviral therapy: Charter Study. *Neurology* **75**, 2087–2096 (2010).
  57. Ellis, R. J. *et al.* Neurocognitive impairment is an independent risk factor for death in HIV infection. San Diego HIV Neurobehavioral Research Center Group. *Arch. Neurol.* **54**, 416–24 (1997).
  58. Becker, J. T. *et al.* Cohort Profile: Recruitment cohorts in the neuropsychological substudy of the Multicenter AIDS Cohort Study. *Int. J. Epidemiol.* **44**, 1506–16 (2015).
  59. McArthur, J. C. *et al.* Dementia in AIDS patients: incidence and risk factors. Multicenter AIDS Cohort Study. *Neurology* **43**, 2245–52 (1993).
  60. Heaton, R. K. *et al.* HIV-associated neurocognitive disorders before and during the era of combination antiretroviral therapy: differences in rates, nature, and predictors. *J. Neurovirol.* **17**, 3–16 (2011).
  61. Sacktor, N. *et al.* HIV-associated cognitive impairment before and after the advent of combination therapy. *J. Neurovirol.* **8**, 136–42 (2002).
  62. Nath, A. *et al.* Evolution of HIV dementia with HIV infection. *Int. Rev. Psychiatry* **20**, 25–31 (2008).
  63. Heaton, R. K. *et al.* Neuropsychological impairment in human immunodeficiency virus-infection: implications for employment. HNRC Group. HIV Neurobehavioral Research Center. *Psychosom. Med.* **56**, 8–17
  64. Liu, N. Q. *et al.* Human immunodeficiency virus type 1 enters brain microvascular endothelia by macropinocytosis dependent on lipid rafts and the mitogen-activated protein kinase signaling pathway. *J. Virol.* **76**, 6689–700 (2002).
  65. Koenig, S. *et al.* Detection of AIDS virus in macrophages in brain tissue from AIDS patients with encephalopathy. *Science* **233**, 1089–93 (1986).
  66. Williams, K. C. & Hickey, W. F. Central nervous system damage, monocytes and macrophages, and neurological disorders in AIDS. *Annu. Rev. Neurosci.* **25**, 537–62 (2002).
  67. González-Scarano, F. & Martín-García, J. The neuropathogenesis of AIDS. *Nat. Rev.*

- Immunol.* **5**, 69–81 (2005).
68. Kaul, M., Zheng, J., Okamoto, S., Gendelman, H. E. & Lipton, S. A. HIV-1 infection and AIDS: consequences for the central nervous system. *Cell Death Differ.* **12 Suppl 1**, 878–92 (2005).
  69. Gannon, P., Khan, M. Z. & Kolson, D. L. Current understanding of HIV-associated neurocognitive disorders pathogenesis. *Curr. Opin. Neurol.* **24**, 275–283 (2011).
  70. McArthur, J. C., Steiner, J., Sacktor, N. & Nath, A. Human immunodeficiency virus-associated neurocognitive disorders: Mind the gap. *Ann. Neurol.* **67**, 699–714 (2010).
  71. Kaul, M. & Lipton, S. A. Mechanisms of neuroimmunity and neurodegeneration associated with HIV-1 infection and AIDS. *J. Neuroimmune Pharmacol.* **1**, 138–51 (2006).
  72. Kraft-Terry, S. D., Buch, S. J., Fox, H. S. & Gendelman, H. E. A Coat of Many Colors: Neuroimmune Crosstalk in Human Immunodeficiency Virus Infection. *Neuron* **64**, 133–145 (2009).
  73. Grovit-Ferbas, K. & Harris-White, M. E. Thinking about HIV: the intersection of virus, neuroinflammation and cognitive dysfunction. *Immunol. Res.* **48**, 40–58 (2010).
  74. Masliah, E. *et al.* Dendritic injury is a pathological substrate for human immunodeficiency virus-related cognitive disorders. HNRC Group. The HIV Neurobehavioral Research Center. *Ann. Neurol.* **42**, 963–72 (1997).
  75. Budka, H. Neuropathology of human immunodeficiency virus infection. *Brain Pathol.* **1**, 163–75 (1991).
  76. Anthony, I. C. & Bell, J. E. The Neuropathology of HIV/AIDS. *Int. Rev. Psychiatry* **20**, 15–24 (2008).
  77. Everall, I. P., Luthert, P. J. & Lantos, P. L. Neuronal loss in the frontal cortex in HIV infection. *Lancet (London, England)* **337**, 1119–21 (1991).
  78. Ketzler, S., Weis, S., Haug, H. & Budka, H. Loss of neurons in the frontal cortex in AIDS brains. *Acta Neuropathol.* **80**, 92–94 (1990).
  79. Reyes, M. G., Faraldi, F., Senseng, C. S., Flowers, C. & Fariello, R. Nigral degeneration in acquired immune deficiency syndrome (AIDS). *Acta Neuropathol.* **82**, 39–44 (1991).
  80. Graus, F. *et al.* Subacute cerebellar syndrome as the first manifestation of AIDS dementia complex. *Acta Neurol. Scand.* **81**, 118–120 (2009).

81. Overall, I., Luthert, P. & Lantos, P. A review of neuronal damage in human immunodeficiency virus infection: its assessment, possible mechanism and relationship to dementia. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* **52**, 561–6 (1993).
82. Boissé, L., Gill, M. J. & Power, C. HIV infection of the central nervous system: clinical features and neuropathogenesis. *Neurol. Clin.* **26**, 799–819, x (2008).
83. Brew, B. J., Crowe, S. M., Landay, A., Cysique, L. A. & Guillemin, G. Neurodegeneration and ageing in the HAART era. *J. Neuroimmune Pharmacol.* **4**, 163–74 (2009).
84. Glass, J. D., Fedor, H., Wesselingh, S. L. & McArthur, J. C. Immunocytochemical quantitation of human immunodeficiency virus in the brain: correlations with dementia. *Ann. Neurol.* **38**, 755–62 (1995).
85. Cassol, E., Misra, V., Morgello, S. & Gabuzda, D. Applications and limitations of inflammatory biomarkers for studies on neurocognitive impairment in HIV infection. *J. Neuroimmune Pharmacol.* **8**, 1087–97 (2013).
86. Naylor, S. Biomarkers: current perspectives and future prospects. *Expert Rev. Mol. Diagn.* **3**, 525–9 (2003).
87. Brew, B. J., Pemberton, L., Cunningham, P. & Law, M. G. Levels of human immunodeficiency virus type 1 RNA in cerebrospinal fluid correlate with AIDS dementia stage. *J. Infect. Dis.* **175**, 963–6 (1997).
88. Ellis, R. J. *et al.* Cerebrospinal fluid human immunodeficiency virus type 1 RNA levels are elevated in neurocognitively impaired individuals with acquired immunodeficiency syndrome. HIV Neurobehavioral Research Center Group. *Ann. Neurol.* **42**, 679–88 (1997).
89. McArthur, J. C. *et al.* Relationship between human immunodeficiency virus-associated dementia and viral load in cerebrospinal fluid and brain. *Ann. Neurol.* **42**, 689–98 (1997).
90. Enting, R. H. *et al.* Cerebrospinal fluid beta2-microglobulin, monocyte chemotactic protein-1, and soluble tumour necrosis factor alpha receptors before and after treatment with lamivudine plus zidovudine or stavudine. *J. Neuroimmunol.* **102**, 216–21 (2000).
91. Ryan, L. A. *et al.* Plasma levels of soluble CD14 and tumor necrosis factor-alpha type II receptor correlate with cognitive dysfunction during human immunodeficiency virus type 1 infection. *J. Infect. Dis.* **184**, 699–706 (2001).
92. Gartner, S. & Liu, Y. Insights into the role of immune activation in HIV neuropathogenesis. *J. Neurovirol.* **8**, 69–75 (2002).

93. Heaton, R. K. *et al.* Neurocognitive change in the era of HIV combination antiretroviral therapy: the longitudinal CHARTER study. *Clin. Infect. Dis.* **60**, 473–80 (2015).
94. Fox, H. S. Biomarkers for NeuroAIDS: Recent Progress in the Field. *J. Neuroimmune Pharmacol.* **8**, 1055–1058 (2013).
95. Levine, A. J., Panos, S. E. & Horvath, S. Genetic, transcriptomic, and epigenetic studies of HIV-associated neurocognitive disorder. *J. Acquir. Immune Defic. Syndr.* **65**, 481–503 (2014).
96. Kallianpur, A. R. & Levine, A. J. Host genetic factors predisposing to HIV-associated neurocognitive disorder. *Curr. HIV/AIDS Rep.* **11**, 336–352 (2014).
97. Patnala, R., Clements, J. & Batra, J. Candidate gene association studies: a comprehensive guide to useful in silico tools. *BMC Genet.* **14**, 39 (2013).
98. Levine, A. J. *et al.* Genome-wide association study of neurocognitive impairment and dementia in HIV-infected adults. *Am. J. Med. Genet. B. Neuropsychiatr. Genet.* **159B**, 669–83 (2012).
99. Liu, C.-C., Liu, C.-C., Kanekiyo, T., Xu, H. & Bu, G. Apolipoprotein E and Alzheimer disease: risk, mechanisms and therapy. *Nat. Rev. Neurol.* **9**, 106–18 (2013).
100. Farrer, L. A. *et al.* Effects of age, sex, and ethnicity on the association between apolipoprotein E genotype and Alzheimer disease. A meta-analysis. APOE and Alzheimer Disease Meta Analysis Consortium. *JAMA* **278**, 1349–56
101. Novelli, G., Ciccacci, C., Borgiani, P., Papaluca Amati, M. & Abadie, E. Genetic tests and genomic biomarkers: regulation, qualification and validation. *Clin. Cases Miner. Bone Metab.* **5**, 149–54 (2008).
102. Becker, J. T., Lopez, O. L., Dew, M. A. & Aizenstein, H. J. Prevalence of cognitive disorders differs as a function of age in HIV virus infection. *AIDS* **18 Suppl 1**, S11-8 (2004).
103. Cherner, M. *et al.* Effects of HIV-1 infection and aging on neurobehavioral functioning: preliminary findings. *AIDS* **18 Suppl 1**, S27-34 (2004).
104. Valcour, V. G., Shikuma, C. M., Watters, M. R. & Sacktor, N. C. Cognitive impairment in older HIV-1-seropositive individuals: prevalence and potential mechanisms. *AIDS* **18 Suppl 1**, S79-86 (2004).
105. Qureshi, A. I., Hanson, D. L., Jones, J. L. & Janssen, R. S. Estimation of the temporal probability of human immunodeficiency virus (HIV) dementia after risk stratification for

- HIV-infected persons. *Neurology* **50**, 392–7 (1998).
106. Cherner, M. *et al.* Hepatitis C augments cognitive deficits associated with HIV infection and methamphetamine. *Neurology* **64**, 1343–7 (2005).
  107. Tozzi, V. *et al.* Prevalence and risk factors for human immunodeficiency virus-associated neurocognitive impairment, 1996 to 2002: results from an urban observational cohort. *J. Neurovirol.* **11**, 265–73 (2005).
  108. Valcour, V. G. *et al.* Diabetes, insulin resistance, and dementia among HIV-1-infected patients. *J. Acquir. Immune Defic. Syndr.* **38**, 31–6 (2005).
  109. Lin, K. *et al.* Effects of traumatic brain injury on cognitive functioning and cerebral metabolites in HIV-infected individuals. *J. Clin. Exp. Neuropsychol.* **33**, 326–34 (2011).
  110. Rippeth, J. D. *et al.* Methamphetamine dependence increases risk of neuropsychological impairment in HIV infected persons. *J. Int. Neuropsychol. Soc.* **10**, 1–14 (2004).
  111. Levine, A. J. *et al.* The effect of recent stimulant use on sustained attention in HIV-infected adults. *J. Clin. Exp. Neuropsychol.* **28**, 29–42 (2006).
  112. Martin-Thormeyer, E. M. & Paul, R. H. Drug Abuse and Hepatitis C Infection as Comorbid Features of HIV Associated Neurocognitive Disorder: Neurocognitive and Neuroimaging Features. *Neuropsychol. Rev.* **19**, 215–231 (2009).
  113. Bashirova, A. A. *et al.* LILRB2 interaction with HLA class I correlates with control of HIV-1 infection. *PLoS Genet.* **10**, e1004196 (2014).
  114. Guergnon, J. *et al.* Single-nucleotide polymorphism-defined class I and class III major histocompatibility complex genetic subregions contribute to natural long-term nonprogression in HIV infection. *J. Infect. Dis.* **205**, 718–24 (2012).
  115. Naicker, D. D. *et al.* Association of IL-10-promoter genetic variants with the rate of CD4 T-cell loss, IL-10 plasma levels, and breadth of cytotoxic T-cell lymphocyte response during chronic HIV-1 infection. *Clin. Infect. Dis.* **54**, 294–302 (2012).
  116. Burt, T. D. *et al.* Apolipoprotein (apo) E4 enhances HIV-1 cell entry in vitro, and the APOE epsilon4/epsilon4 genotype accelerates HIV disease progression. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **105**, 8718–23 (2008).
  117. Rappaport, J. & Berger, J. R. Genetic testing and HIV dementia: teasing out the molecular mechanisms of disease. *AIDS* **24**, 1585–7 (2010).

118. Bol, S. M. *et al.* Single nucleotide polymorphism in gene encoding transcription factor prep1 is associated with HIV-1-associated dementia. *PLoS One* **7**, 1–7 (2012).
119. Letendre, S. L. *et al.* Chemokines in cerebrospinal fluid correlate with cerebral metabolite patterns in HIV-infected individuals. *J. Neurovirol.* **17**, 63–9 (2011).
120. Dunlop, O. *et al.* HIV dementia and apolipoprotein E. *Acta Neurol. Scand.* **95**, 315–8 (1997).
121. Corder, E. H. *et al.* HIV-infected subjects with the E4 allele for APOE have excess dementia and peripheral neuropathy. *Nat. Med.* **4**, 1182–4 (1998).
122. Diaz-Arrastia, R., Gong, Y., Kelly, C. J. & Gelman, B. B. Host genetic polymorphisms in human immunodeficiency virus-related neurologic disease. *J. Neurovirol.* **10 Suppl 1**, 67–73 (2004).
123. Cutler, R. G. *et al.* Dysregulation of sphingolipid and sterol metabolism by ApoE4 in HIV dementia. *Neurology* **63**, 626–30 (2004).
124. Pemberton, L. A., Stone, E., Price, P., Van Bockxmeer, F. & Brew, B. J. The relationship between ApoE, TNFA, IL1a, IL1b and IL12b genes and HIV-1-associated dementia. *HIV Med.* **9**, 677–680 (2008).
125. Pomara, N., Belzer, K. D., Silva, R., Cooper, T. B. & Sidtis, J. J. The apolipoprotein E epsilon4 allele and memory performance in HIV-1 seropositive subjects: differences at baseline but not after acute oral lorazepam challenge. *Psychopharmacology (Berl)*. **201**, 125–35 (2008).
126. Joska, J. A. *et al.* Association between apolipoprotein E4 genotype and human immunodeficiency virus-associated dementia in younger adults starting antiretroviral therapy in South Africa. *J. Neurovirol.* **16**, 377–83 (2010).
127. Spector, S. A. *et al.* APOE  $\epsilon$ 4 and MBL-2 O/O genotypes are associated with neurocognitive impairment in HIV-infected plasma donors. *AIDS* **24**, 1471–1479 (2010).
128. Sun, B. *et al.* Peripheral biomarkers do not correlate with cognitive impairment in highly active antiretroviral therapy-treated subjects with human immunodeficiency virus type 1 infection. *J. Neurovirol.* **16**, 115–24 (2010).
129. Andres, M. A. *et al.* APOE  $\epsilon$ 4 allele and CSF APOE on Cognition in HIV-Infected Subjects. *J. Neuroimmune Pharmacol.* **6**, 389–398 (2011).
130. Chang, L. *et al.* Impact of apolipoprotein E  $\epsilon$ 4 and HIV on cognition and brain atrophy: Antagonistic pleiotropy and premature brain aging. *Neuroimage* **58**, 1081–1089 (2011).

131. Soontornniyomkij, V. *et al.* Cerebral  $\beta$ -amyloid deposition predicts HIV-associated neurocognitive disorders in APOE  $\epsilon$ 4 carriers. *AIDS* **26**, 2327–2335 (2012).
132. Panos, S. *et al.* Apolipoprotein-E genotype and human immunodeficiency virus-associated neurocognitive disorder: the modulating effects of older age and disease severity. *Neurobehav. HIV Med.* **11** (2013). doi:10.2147/NBHIV.S39573
133. Morgan, E. E. *et al.* Apolipoprotein E4 genotype does not increase risk of HIV-associated neurocognitive disorders. *J. Neurovirol.* **19**, 150–6 (2013).
134. Hoare, J. *et al.* Relationship between apolipoprotein E4 genotype and white matter integrity in HIV-positive young adults in South Africa. *Eur. Arch. Psychiatry Clin. Neurosci.* **263**, 189–95 (2013).
135. Cysique, L. A. *et al.* APOE  $\epsilon$ 4 moderates abnormal CSF- $\beta$ 42 levels, while neurocognitive impairment is associated with abnormal CSF tau levels in HIV+ individuals ? a cross-sectional observational study. *BMC Neurol.* **15**, 51 (2015).
136. Levine, A. J. *et al.* Multilevel analysis of neuropathogenesis of neurocognitive impairment in HIV. *J. Neurovirol.* **22**, 431–441 (2016).
137. Valcour, V. *et al.* Age, apolipoprotein E4, and the risk of HIV dementia: the Hawaii Aging with HIV Cohort. *J. Neuroimmunol.* **157**, 197–202 (2004).
138. Vitek, M. P., Brown, C. M. & Colton, C. A. APOE genotype-specific differences in the innate immune response. *Neurobiol. Aging* **30**, 1350–60 (2009).
139. Kuhlmann, I., Minihane, A., Huebbe, P., Nebel, A. & Rimbach, G. Apolipoprotein E genotype and hepatitis C, HIV and herpes simplex disease risk: a literature review. *Lipids Health Dis.* **9**, 8 (2010).
140. Sato-Matsumura, K. C., Berger, J., Hainfellner, J. A., Mazal, P. & Budka, H. Development of HIV encephalitis in AIDS and TNF- $\alpha$  regulatory elements. *J. Neuroimmunol.* **91**, 89–92 (1998).
141. Quasney, M. W. *et al.* Increased frequency of the tumor necrosis factor- $\alpha$ -308 A allele in adults with human immunodeficiency virus dementia. *Ann. Neurol.* **50**, 157–62 (2001).
142. Levine, A. J. *et al.* CCL3 genotype and current depression increase risk of HIV-associated dementia. *Neurobehav. HIV Med.* **1**, 1–7 (2009).
143. Levine, A. J. *et al.* The longitudinal and interactive effects of HIV status, stimulant use, and host genotype upon neurocognitive functioning. *J. Neurovirol.* **20**, 243–257 (2014).

144. Wesselingh, S. L. *et al.* Cellular localization of tumor necrosis factor mRNA in neurological tissue from HIV-infected patients by combined reverse transcriptase/polymerase chain reaction in situ hybridization and immunohistochemistry. *J. Neuroimmunol.* **74**, 1–8 (1997).
145. Yeh, M. W. *et al.* Cytokine-stimulated, but not HIV-infected, human monocyte-derived macrophages produce neurotoxic levels of I $\gamma$ -cysteine. *J. Immunol.* **164**, 4265–70 (2000).
146. Louis, E. *et al.* Tumour necrosis factor (TNF) gene polymorphism influences TNF-alpha production in lipopolysaccharide (LPS)-stimulated whole blood cell culture in healthy humans. *Clin. Exp. Immunol.* **113**, 401–6 (1998).
147. Wesselingh, S. L. *et al.* Intracerebral cytokine messenger RNA expression in acquired immunodeficiency syndrome dementia. *Ann. Neurol.* **33**, 576–82 (1993).
148. Achim, C. L., Heyes, M. P. & Wiley, C. A. Quantitation of human immunodeficiency virus, immune activation factors, and quinolinic acid in AIDS brains. *J. Clin. Invest.* **91**, 2769–75 (1993).
149. Tyor, W. R. *et al.* Cytokine expression in the brain during the acquired immunodeficiency syndrome. *Ann. Neurol.* **31**, 349–60 (1992).
150. Chao, C. C. & Hu, S. Tumor necrosis factor-alpha potentiates glutamate neurotoxicity in human fetal brain cell cultures. *Dev. Neurosci.* **16**, 172–9 (1994).
151. Benos, D. J., McPherson, S., Hahn, B. H., Chaikin, M. A. & Benveniste, E. N. Cytokines and HIV envelope glycoprotein gp120 stimulate Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> exchange in astrocytes. *J. Biol. Chem.* **269**, 13811–6 (1994).
152. Selmaj, K. & Raine, C. S. Tumor necrosis factor mediates myelin damage in organotypic cultures of nervous tissue. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **540**, 568–70 (1988).
153. Brabers, N. A. C. H. & Nottet, H. S. L. M. Role of the pro-inflammatory cytokines TNF-alpha and IL-1beta in HIV-associated dementia. *Eur. J. Clin. Invest.* **36**, 447–58 (2006).
154. Boven, L. A., van der Bruggen, T., van Asbeck, B. S., Marx, J. J. & Nottet, H. S. Potential role of CCR5 polymorphism in the development of AIDS dementia complex. *FEMS Immunol. Med. Microbiol.* **26**, 243–7 (1999).
155. van Rij, R. P. *et al.* Reduced prevalence of the CCR5 delta32 heterozygous genotype in human immunodeficiency virus-infected individuals with AIDS dementia complex. *J. Infect. Dis.* **180**, 854–7 (1999).



156. Singh, K. K. *et al.* Genetic influence of CCR5, CCR2, and SDF1 variants on human immunodeficiency virus 1 (HIV-1)-related disease progression and neurological impairment, in children with symptomatic HIV-1 infection. *J. Infect. Dis.* **188**, 1461–72 (2003).
157. Singh, K. K. *et al.* CCR2 polymorphisms affect neuropsychological impairment in HIV-1-infected adults. *J. Neuroimmunol.* **157**, 185–92 (2004).
158. Samson, M. *et al.* Resistance to HIV-1 infection in caucasian individuals bearing mutant alleles of the CCR-5 chemokine receptor gene. *Nature* **382**, 722–5 (1996).
159. Gonzalez, E. *et al.* HIV-1 infection and AIDS dementia are influenced by a mutant MCP-1 allele linked to increased monocyte infiltration of tissues and MCP-1 levels. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **99**, 13795–13800 (2002).
160. Shiramizu, B., Lau, E., Tamamoto, A., Uniatowski, J. & Troelstrup, D. Feasibility assessment of cerebrospinal fluid from HIV-1-infected children for HIV proviral DNA and monocyte chemoattractant protein 1 alleles. *J. Investig. Med.* **54**, 468–72 (2006).
161. Thames, A. D. *et al.* The role of chemokine C-C motif ligand 2 genotype and cerebrospinal fluid chemokine C-C motif ligand 2 in neurocognition among HIV-infected patients. *AIDS* **29**, 1483–91 (2015).
162. McDermott, D. H. *et al.* CCL2 polymorphisms are associated with serum monocyte chemoattractant protein-1 levels and myocardial infarction in the Framingham Heart Study. *Circulation* **112**, 1113–20 (2005).
163. Letendre, S. *et al.* The monocyte chemotactic protein-1 -2578G allele is associated with elevated MCP-1 concentrations in cerebrospinal fluid. *J. Neuroimmunol.* **157**, 193–6 (2004).
164. Spector, S. A. *et al.* APOE epsilon4 and MBL-2 O/O genotypes are associated with neurocognitive impairment in HIV-infected plasma donors. *AIDS* **24**, 1471–9 (2010).
165. Agace, W. W. *et al.* Constitutive expression of stromal derived factor-1 by mucosal epithelia and its role in HIV transmission and propagation. *Curr. Biol.* **10**, 325–8 (2000).
166. Zheng, J. *et al.* Intracellular CXCR4 signaling, neuronal apoptosis and neuropathogenic mechanisms of HIV-1-associated dementia. *J. Neuroimmunol.* **98**, 185–200 (1999).
167. Kaul, M. & Lipton, S. A. Chemokines and activated macrophages in HIV gp120-induced neuronal apoptosis. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **96**, 8212–8216 (1999).
168. Schmidtayerova, H. *et al.* Human immunodeficiency virus type 1 infection alters

- chemokine beta peptide expression in human monocytes: implications for recruitment of leukocytes into brain and lymph nodes. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **93**, 700–4 (1996).
169. Modi, W. S. *et al.* Genetic Variation in the CCL18-CCL3-CCL4 Chemokine Gene Cluster Influences HIV Type 1 Transmission and AIDS Disease Progression. *Am. J. Hum. Genet.* **79**, 120–128 (2006).
  170. Davies, J. *et al.* HIV-associated brain pathology in the United Kingdom: an epidemiological study. *AIDS* **11**, 1145–50 (1997).
  171. Nath, A., Maragos, W. F., Avison, M. J., Schmitt, F. A. & Berger, J. R. Acceleration of HIV dementia with methamphetamine and cocaine. *J. Neurovirol.* **7**, 66–71 (2001).
  172. Cristiani, S. A., Pukay-Martin, N. D. & Bornstein, R. A. Marijuana use and cognitive function in HIV-infected people. *J. Neuropsychiatry Clin. Neurosci.* **16**, 330–5 (2004).
  173. Burdo, T. H., Katner, S. N., Taffe, M. A. & Fox, H. S. Neuroimmunity, Drugs of Abuse, and neuroAIDS. *J. Neuroimmune Pharmacol.* **1**, 41–49 (2006).
  174. Ferris, M. J., Mactutus, C. F. & Booze, R. M. Neurotoxic profiles of HIV, psychostimulant drugs of abuse, and their concerted effect on the brain: current status of dopamine system vulnerability in NeuroAIDS. *Neurosci. Biobehav. Rev.* **32**, 883–909 (2008).
  175. Gaskill, P. J. *et al.* Human Immunodeficiency Virus (HIV) Infection of Human Macrophages Is Increased by Dopamine. *Am. J. Pathol.* **175**, 1148–1159 (2009).
  176. Bousman, C. A. *et al.* COMT Val158Met Polymorphism, Executive Dysfunction, and Sexual Risk Behavior in the Context of HIV Infection and Methamphetamine Dependence. *Interdiscip. Perspect. Infect. Dis.* **2010**, 678648 (2010).
  177. Levine, A. J., Sinsheimer, J. S., Bilder, R., Shapshak, P. & Singer, E. J. Functional polymorphisms in dopamine-related genes: effect on neurocognitive functioning in HIV+ adults. *J. Clin. Exp. Neuropsychol.* **34**, 78–91 (2012).
  178. Chang, L. *et al.* Decreased brain dopamine transporters are related to cognitive deficits in HIV patients with or without cocaine abuse. *Neuroimage* **42**, 869–78 (2008).
  179. Guillin, O. *et al.* BDNF controls dopamine D3 receptor expression and triggers behavioural sensitization. *Nature* **411**, 86–9 (2001).
  180. Mössner, R. *et al.* Serotonin transporter function is modulated by brain-derived neurotrophic factor (BDNF) but not nerve growth factor (NGF). *Neurochem. Int.* **36**, 197–202 (2000).

181. Bol, S. M. *et al.* Genome-wide association study identifies single nucleotide polymorphism in DYRK1A associated with replication of HIV-1 in monocyte-derived macrophages. *PLoS One* **6**, e17190 (2011).
182. Khoury, M. J., Little, J., Gwinn, M. & Ioannidis, J. P. A. On the synthesis and interpretation of consistent but weak gene-disease associations in the era of genome-wide association studies. *Int. J. Epidemiol.* **36**, 439–45 (2007).
183. Sagoo, G. S., Little, J. & Higgins, J. P. T. Systematic Reviews of Genetic Association Studies. *PLoS Med.* **6**, e1000028 (2009).
184. Khoury, M. J., Millikan, R., Little, J. & Gwinn, M. The emergence of epidemiology in the genomics age. *Int. J. Epidemiol.* **33**, 936–44 (2004).
185. Michael Borenstein, Larry V. Hedges, J. P. T. H. and H. R. R. *Introduction to Meta-Analysis. Introduction to Meta-Analysis* (John Wiley & Sons, Ltd, 2009). doi:10.1002/9780470743386.refs
186. Uman, L. S. Systematic reviews and meta-analyses. *J. Can. Acad. Child Adolesc. Psychiatry* **20**, 57–9 (2011).
187. Pae, C.-U. Why Systematic Review rather than Narrative Review? *Psychiatry Investig.* **12**, 417 (2015).
188. Cipriani, A. & Geddes, J. Comparison of systematic and narrative reviews: the example of the atypical antipsychotics. *Epidemiol. Psychiatr. Soc.* **12**, 146–53
189. Kaczorowski, J. Standing on the shoulders of giants: Introduction to systematic reviews and meta-analyses. *Can. Fam. Physician* **55**, 1155–6 (2009).
190. Whiting, P., Rutjes, A. W., Reitsma, J. B., Bossuyt, P. M. & Kleijnen, J. The development of QUADAS: a tool for the quality assessment of studies of diagnostic accuracy included in systematic reviews. *BMC Med. Res. Methodol.* **3**, 25 (2003).
191. Wells GA, Shea B, O'Connell D, Peterson J, Welch V, Losos M, et al. The Newcastle-Ottawa Scale (NOS) for assessing the quality of nonrandomised studies in meta-analyses. Available < [http://www.ohri.ca/programs/clinical\\_epidemiology/oxford.asp](http://www.ohri.ca/programs/clinical_epidemiology/oxford.asp)>. (2013).
192. Sohani, Z. N. *et al.* Assessing the quality of published genetic association studies in meta-analyses: the quality of genetic studies (Q-Genie) tool. *BMC Genet.* **16**, 50 (2015).
193. Haidich, A. B. Meta-analysis in medical research. *Hippokratia* **14**, 29–37 (2010).

194. Akobeng, A. K. Understanding systematic reviews and meta-analysis. *Arch. Dis. Child.* **90**, 845–848 (2005).
195. Nikolakopoulou, A., Mavridis, D. & Salanti, G. How to interpret meta-analysis models: fixed effect and random effects meta-analyses. *Evid. Based. Ment. Health* **17**, 64 (2014).
196. Lee, Y. H. Meta-Analysis of Genetic Association Studies. *Ann. Lab. Med.* **35**, 283 (2015).
197. Liu, M., Bian, C., Zhang, J. & Wen, F. Apolipoprotein E gene polymorphism and Alzheimer's disease in Chinese population: a meta-analysis. *Sci. Rep.* **4**, 4383 (2015).
198. Moher, D., Liberati, A., Tetzlaff, J., Altman, D. G. & PRISMA Group. Preferred reporting items for systematic reviews and meta-analyses: the PRISMA statement. *PLoS Med.* **6**, e1000097 (2009).
199. Günthard, H. F. *et al.* Antiretroviral Drugs for Treatment and Prevention of HIV Infection in Adults: 2016 Recommendations of the International Antiviral Society-USA Panel. *JAMA* **316**, 191–210 (2016).
200. Scott, J. C. *et al.* Neurocognitive consequences of HIV infection in older adults: An evaluation of the 'Cortical' hypothesis. *AIDS Behav.* **15**, 1187–1196 (2011).
201. Scott, J. C. *et al.* A neuropsychological investigation of multitasking in HIV infection: Implications for everyday functioning. *Neuropsychology* **25**, 511–519 (2011).
202. Trikalinos, T. A., Salanti, G., Zintzaras, E. & Ioannidis, J. P. A. in 311–334 (2008). doi:10.1016/S0065-2660(07)00413-0
203. Sohani, Z. N. *et al.* Empirical evaluation of the Q-Genie tool: a protocol for assessment of effectiveness. *BMJ Open* **6**, e010403 (2016).
204. Munafò, M. R., Stothart, G. & Flint, J. Bias in genetic association studies and impact factor. *Mol. Psychiatry* **14**, 119–20 (2009).
205. Sterne, J. A., Gavaghan, D. & Egger, M. Publication and related bias in meta-analysis: power of statistical tests and prevalence in the literature. *J. Clin. Epidemiol.* **53**, 1119–29 (2000).
206. Salanti, G., Sanderson, S. & Higgins, J. P. T. Obstacles and opportunities in meta-analysis of genetic association studies. *Genet. Med.* **7**, 13–20 (2005).
207. Sampaio, M. . *et al.* . Estudos de revisão sistemática: Um guia para síntese criteriosa da evidência científica. *Rev. Bras. Fisioter.* (2007).

208. Gisslén, M., Price, R. W. & Nilsson, S. The definition of HIV-associated neurocognitive disorders: are we overestimating the real prevalence? *BMC Infect. Dis.* **11**, 356 (2011).
209. Lohmueller, K. E., Pearce, C. L., Pike, M., Lander, E. S. & Hirschhorn, J. N. Meta-analysis of genetic association studies supports a contribution of common variants to susceptibility to common disease. *Nat. Genet.* **33**, 177–82 (2003).
210. Elbaz, A. & Alperovitch, A. Bias in association studies resulting from gene-environment interactions and competing risks. *Am. J. Epidemiol.* **155**, 265–72 (2002).
211. Sauerland, S. & Seiler, C. M. Role of systematic reviews and meta-analysis in evidence-based medicine. *World J. Surg.* **29**, 582–7 (2005).
212. Thompson, S. G. Why sources of heterogeneity in meta-analysis should be investigated. *BMJ* **309**, 1351–5 (1994).
213. L. Fazeli, P. *et al.* Cognitive Functioning In Adults Aging With HIV: A Cross-Sectional Analysis Of Cognitive Subtypes And Influential Factors. *J. Clin. Res. HIV AIDS Prev.* **1**, 54–68 (2014).
214. Valcour, V. *et al.* Higher frequency of dementia in older HIV-1 individuals: the Hawaii Aging with HIV-1 Cohort. *Neurology* **63**, 822–7 (2004).
215. Focà, E. *et al.* Screening for Neurocognitive Impairment in HIV-Infected Individuals at First Contact after HIV Diagnosis: The Experience of a Large Clinical Center in Northern Italy. *Int. J. Mol. Sci.* **17**, 434 (2016).
216. Tang, H. *et al.* Genetic Structure, Self-Identified Race/Ethnicity, and Confounding in Case-Control Association Studies. *Am. J. Hum. Genet.* **76**, 268–275 (2005).
217. Bamshad, M. J. *et al.* Human Population Genetic Structure and Inference of Group Membership. *Am. J. Hum. Genet.* **72**, 578–589 (2003).
218. Lander, E. S. & Schork, N. J. Genetic dissection of complex traits. *Science* **265**, 2037–48 (1994).
219. Pritchard, J. K. & Rosenberg, N. A. Use of unlinked genetic markers to detect population stratification in association studies. *Am. J. Hum. Genet.* **65**, 220–8 (1999).
220. Choudhry, S. *et al.* Dissecting complex diseases in complex populations: asthma in latino americans. *Proc. Am. Thorac. Soc.* **4**, 226–33 (2007).
221. Choudhry, S. *et al.* Population stratification confounds genetic association studies among Latinos. *Hum. Genet.* **118**, 652–64 (2006).

222. Letendre, S. L. *et al.* ING116070: a study of the pharmacokinetics and antiviral activity of dolutegravir in cerebrospinal fluid in HIV-1-infected, antiretroviral therapy-naive subjects. *Clin. Infect. Dis.* **59**, 1032–7 (2014).
223. Etherton, M. R., Lyons, J. L. & Ard, K. L. HIV-associated Neurocognitive Disorders and Antiretroviral Therapy: Current Concepts and Controversies. *Curr. Infect. Dis. Rep.* **17**, 485 (2015).
224. Robertson, K., Liner, J. & Meeker, R. B. Antiretroviral neurotoxicity. *J. Neurovirol.* **18**, 388–99 (2012).
225. Einfeld, C., Reichelt, D., Evers, S. & Husstedt, I. CSF penetration by antiretroviral drugs. *CNS Drugs* **27**, 31–55 (2013).
226. Glasziou, P. P. & Sanders, S. L. Investigating causes of heterogeneity in systematic reviews. *Stat. Med.* **21**, 1503–11 (2002).
227. Thompson, S. G. & Higgins, J. P. T. How should meta-regression analyses be undertaken and interpreted? *Stat. Med.* **21**, 1559–73 (2002).
228. Nakaoka, H. & Inoue, I. Meta-analysis of genetic association studies: methodologies, between-study heterogeneity and winner's curse. *J. Hum. Genet.* **54**, 615–23 (2009).
229. Trikalinos, T. A., Ntzani, E. E., Contopoulos-Ioannidis, D. G. & Ioannidis, J. P. Establishment of genetic associations for complex diseases is independent of early study findings. *Eur. J. Hum. Genet.* **12**, 762–769 (2004).
230. Egger, M., Davey Smith, G., Schneider, M. & Minder, C. Bias in meta-analysis detected by a simple, graphical test. *BMJ* **315**, 629–34 (1997).
231. Sterne, J. A. & Egger, M. Funnel plots for detecting bias in meta-analysis: guidelines on choice of axis. *J. Clin. Epidemiol.* **54**, 1046–55 (2001).
232. Owens, D. K. *et al.* AHRQ series paper 5: grading the strength of a body of evidence when comparing medical interventions--agency for healthcare research and quality and the effective health-care program. *J. Clin. Epidemiol.* **63**, 513–23 (2010).
233. Ioannidis, J. P. A. The Mass Production of Redundant, Misleading, and Conflicted Systematic Reviews and Meta-analyses. *Milbank Q.* **94**, 485–514 (2016).
234. Ioannidis, J. P. A., Chang, C. Q., Lam, T. K., Schully, S. D. & Khoury, M. J. The Geometric Increase in Meta-Analyses from China in the Genomic Era. *PLoS One* **8**, e65602 (2013).

