UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
INSTITUTO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM IMUNOLOGIA

TRABALHO DE TESE

DETERMINAÇÃO QUANTITATIVA DE CÉLULAS E CITOCINAS DA RESPOSTA IMUNE EM PACIENTES PROGRESSORES LENTOS INFECTADOS PELO HIV

ANDRÉIA DE SOUSA ROCHA BARRETO

Salvador - Bahia

2017

UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
INSTITUTO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM IMUNOLOGIA

TRABALHO DE TESE

DETERMINAÇÃO QUANTITATIVA DE CÉLULAS E CITOCINAS DA RESPOSTA IMUNE EM PACIENTES PROGRESSORES LENTOS INFECTADOS PELO HIV

ANDRÉIA DE SOUSA ROCHA BARRETO

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Imunologia, da Universidade Federal da Bahia como requisito parcial para obtenção do título de Doutor em Imunologia.

Orientador: Prof. Dr. Alex José Leite Torres

Salvador - Bahia

2017

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Universitária de Saúde, SIBI - UFBA.

B 273 Barreto, Andréia de Sousa Rocha

Determinação quantitativa de células e citocinas da resposta imune em pacientes progressores lentos infectados pelo HIV/Andréia de Sousa Rocha Barreto. – Salvador, 2017.

102 f.

Orientador: Prof. Dr. Aléx José Leite Torress.

Tese (Doutorado) – Universidade Federal da Bahia. Instituto de Ciência da Saúde, 2017.

1. HIV. 2. Progressores lentos. 3. Citometria de fluxo. I. Torres, Alex José Leite. II. Universidade Federal da Bahia. III. Título.

CDU 612.112:616.98: 578.828 HIV

Dedico a Deus todo poderoso,
A minha mãe símbolo de amor eterno e muita dedicação, ao meu querido esposo Cláudio Silveira pelo apoio incondicional, paciência e amor constante e a meu pai (in memorian) pelos ensinamentos baseados em respeito e honestidade, deixados como herança.

"O sucesso nasce do querer, da determinação e persistência em se chegar a um objetivo. Mesmo não atingindo o alvo, quem busca e vence obstáculos, no mínimo fará coisas admiráveis."

(José de Alencar)

AGRADECIMENTOS

A Deus**,** por ter me presenteado com a vida.

Ao meu esposo Cláudio Silveira, pela paciência, amor, carinho, companheirismo, dedicação e por sempre acreditar em mim.

Ao meu querido orientador Profº. Dr. Alex Torres, um ser humano exemplar, um excelente professor e pesquisador além de muito dedicado e apaixonado pela profissão que escolheu, possui um conhecimento infinitamente admirável, humilde, enumero aqui apenas algumas de suas qualidades, me presenteou com a oportunidade de crescer profissionalmente, sinto um imenso orgulho de ser sua aluna, serei eternamente grata por tudo. ***UM MUITO OBRIGADO.***

Ao colega do Laboratório de Infectologia **- LAPI – HUPES, Augusto Santana,** que me ensinou e auxiliou em todas as etapas da fase experimental do meu trabalho, esteve ao meu lado em todos os momentos de dúvidas e dificuldades, com toda paciência e disponibilidade, foi muito gratificante ter tido a oportunidade de aprender com ele, foi fundamental para meu desenvolvimento prático. ***UM MUITO OBRIGADO.***

A colega e amiga do LABIMUNO **- Evelin Bomfim,** que me auxiliou durante a construção da escrita deste trabalho, pelas palavras de positivismo, nunca me deixou desistir, sou imensamente grata pela maravilhosa convivência, alegria e total disponibilidade concedidas, e tão importantes para meu sucesso. ***UM MUITO OBRIGADO.***

A aluna de Medicina e Iniciação Científica Clarissa Maia*,* pela colaboração na realização dos experimentos na primeira etapa do projeto, bastante colaborativa e dedicada.

A colega do LABIMUNO Samanta Queiroz**,** pela colaboração na realização do experimento, análises em citometria de fluxo (CBA) e confecção dos gráficos, essenciais para a conclusão do meu trabalho.

Aos colegas do Laboratório de Infectologia LAPI - HUPES**, Carlos Saldanha, Nádja Pacheco, Márcia Paz, Maurina Alcântara, Marcos Costa** pelo harmonioso convívio e apoio total ao projeto.

Aos colegas e funcionários do CEDAP – pela acolhida, além do aprendizado adquirido e da agradável convivência ao longo projeto.

Ao Programa de Pós-Graduação em Imunologia– PpGim, pela qualidade dos professores, infra-estrutura, pesquisadores e funcionários.

A Secretaria do PpGim, Dilcea Reis - pela atenção, responsabilidade e disponibilidade das informações tão necessárias para a conclusão do curso.

A todos os professores do programa, e em especial: Maria de Fátima Dias Costa, Lucas Pedreira de Carvalho, Roberto José Meyer Nascimento, Songeli Menezes Freire, e Carlos Roberto Brites Alves pela contribuição científica na minha vida acadêmica.

Aos pacientes, pois sem eles a pesquisa não teria sentido.

Aos Órgãos Financiadores**,** indispensáveis para a realização deste trabalho.

Ao Coordenador do Laboratório de Infectologia LAPI - HUPES**,** ***Professor Dr. Carlos Brites*****,** pelo excelente trabalho desenvolvido, nos proporcionado um ambiente diverso, em várias áreas de conhecimento científico.

SUMÁRIO

RESUMO **16**

1. INTRODUÇÃO **20**

2. REVISÃO DE LITERATURA **22**

2.1. Epidemiologia HIV/AIDS **22**

2.2. Vírus da Imunodeficiência Humana **23**

2.3. Mecanismos da infecção viral em células humanas **24**

2.4. Resposta imune na infecção pelo HIV **27**

2.5. Imunidade Inata **29**

2.6. Resposta imune adaptativa **30**

2.7. Indivíduos progressores lentos **34**

3. JUSTIFICATIVA **37**

4. OBJETIVOS **39**

4.1 Objetivo principal **39**

4.2 Objetivos específicos **39**

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO **40**

Dados sumarizados em 2 artigos **40**

5.1 CAPITULO 1: ARTIGO CIENTÍFICO 1: AVALIAÇÃO COMPARATIVA DA QUANTIFICAÇÃO DE CÉLULAS DA RESPOSTA IMUNE INATA EM PACIENTES HIV PROGRESSORES LENTOS **41**

RESUMO **41**

5.1 INTRODUÇÃO **44**

5.2 MATERIAIS E MÉTODOS **45**

5.2.1 População em estudo **45**

5.2.2 Coleta de amostra de sangue e análise em citometria de fluxo **46**

5.2.3 Análise estatística..... **47**

5.3 RESULTADOS..... **47**

5.3.1 Características demográficas dos grupos **47**

5.3.2 Comparação entre valores de Linfócitos T **49**

5.3.3 Células da resposta imune inata **51**

5.3.4 Avaliação de células da resposta imune por faixa etária..... **52**

5.4 DISCUSSÃO **53**

5.5 CONCLUSÃO **57**

5.6 AGRADECIMENTOS..... **57**

5.7 CONFLITOS DE INTERESSE **57**

5.8 REFERÊNCIAS..... **57**

6. CAPITULO 2 : ARTIGO CIENTÍFICO 2: AVALIAÇÃO DO PERFIL DE CITOCINAS EM PACIENTES HIV-1 PROGRESSORES LENTOS E NÃO PROGRESSORES..... **60**

6.1 INTRODUÇÃO **63**

6.2 MATERIAIS E MÉTODOS **64**

6.2.1 População em estudo..... **64**

6.2.2 Análise das citocinas em citometria de fluxo **65**

6.2.3 Análise estatística..... **66**

6.3 RESULTADOS..... **67**

6.3.1 Características demográficas dos grupos **67**

6.3.2 Perfil de citocinas entre os grupos de pacientes **67**

6.4 DISCUSSÃO **72**

6.5 CONCLUSÃO **74**

6.6 AGRADECIMENTOS..... **75**

6.7 CONFLITOS DE INTERESSES **75**

6.8 REFERENCIAS **75**

7. RESUMO DE RESULTADOS **78**

- Determinação do perfil celular da resposta imune inata em pacientes HIV progressores lentos **78**
- Comparação das células da imunidade inata e perfil de citocinas em pacientes HIV-1 com e sem progressão lenta **78**

7. CONCLUSÃO **79**

8. REFERÊNCIAS **80**

ANEXO **94**

APÊNDICE **98**

LISTA DE FIGURAS

Figura 01 - ANATOMIA DO VÍRUS DA IMUNODEFICIÊNCIA HUMANA**. 23**

Figura 02 - VISÃO GERAL DA ENTRADA DO HIV **..... 25**

Figura 03 - OS DIVERSOS MECANISMOS DE ATIVIDADE ANTIVIRAL NA IMUNIDADE INATA**..... 28**

Figura 04 - FATORES POTENCIAIS QUE INFLUENCIAM AS CLTs CONTROLAR A INFECÇÃO PELO HIV **..... 32**

Figura 05 - RELAÇÃO ENTRE LTNP E CONTROLADORES DE ELITE **35**

CAPITULO 1: ARTIGO CIENTÍFICO 1: AVALIAÇÃO COMPARATIVA DA QUANTIFICAÇÃO DE CÉLULAS DA RESPOSTA IMUNE INATA EM PACIENTES HIV PROGRESSORES LENTOS

Figura 01 - PERFIL DE MARCAÇÃO DE CONTROLE ISOTÍPICO POR CITOMETRIA DE FLUXO. **. 48**

Figura 02 - COMPARAÇÃO ENTRE VALORES DE LINFÓCITOS T ENTRE OS GRUPOS: PROGRESSSORES LENTOS, HIV/AIDS E CONTROLE.**. 50**

Figura 03 - CÉLULAS DA RESPOSTA IMUNE INATA ENTRE OS GRUPOS: PROGRESSORES LENTOS, HIV/AIDS E CONTROLE. **..... 52**

CAPITULO 2 : ARTIGO CIENTÍFICO 2: AVALIAÇÃO DO PERFIL DE CITOCINAS EM PACIENTES HIV-1 PROGRESSORES LENTOS E NÃO PROGRESSORES

Figura 01 - PERFIL DE MARCAÇÃO DOS TESTES CBA POR CITOMETRIA DE FLUXO. **..... 66**

Figura 02 - DISTRIBUIÇÕES DAS CITOCINAS ENTRE OS GRUPOS: PROGRESSORES LENTOS, HIV/AIDS E CONTROLE.**. 71**

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - AVALIAÇÃO DE CÉLULAS DA RESPOSTA IMUNE POR FAIXA ETÁRIA.....**53**

LISTA DE ABREVIATURAS

AIDS	Síndrome da Imunodeficiência Humana, (do inglês,*Acquired Immunodeficiency Vírus*)
ADCC	do inglês, *antibody dependente cell citotoxicity*
APC	Células apresentadoras de antígenos
ART	Terapia anti-Retroviral
CCL2	do inglês, chemokine (C-C motif) ligand 2
CCL3	do inglês, chemokine (C-C motif) ligand 3
CCL4	do inglês, chemokine (C-C motif) ligand
CCL5	do inglês, chemokine (C-C motif) ligand
CCR5	Motivo C-C receptor de quimiocina do tipo 5
CD4	Proteína receptora 4 (do inglês, *Cluster of differentiation 4*)
cDNA	DNA complementar
CPE	efeito citopático
cpz	chimpanzés, *pan troglodytes troglodytes*
CTLs	Linfócitos T citotóxico ou citolíticas, linfócitos TCD8+
CXCR4	Motivo C-X receptor de quimiocina do tipo 4
DCs	Células Dendriticas
DNA	Ácido desoxiribonucleico
gp	Glicoproteína
Gp120	Glicoproteína do tipo 120
gp41	Glicoproteína 41
HIV	Vírus da Imunodeficiência Humana, (do inglês, *Human Immunodeficiency Virus*)
HIV-1	do inglês, *Human immunodeficiency virus 1*
HIV-2	do inglês, *Human immunodeficiency virus 2*
HLA	do inglês, *Human leukocyte antigen*
IFN-g	Interferon gama
IFN-I	Interferon do tipo I
IL -1	Interleucina do tipo 1
IL -15	Interleucina do tipo 15
IL -8	Interleucina do tipo 8

IL-10	Interleucina do tipo 10
IL-17	Interleucina tipo 17
IL-1a	Interleucina do tipo 1a
IL-2	Interleucina do tipo 2
IL-4	Interleucina do tipo 4
IL-5	Interleucina do tipo 5
IL-6	Interleucina do tipo 6
IN	Integrasse
LB	Linfócito B
LT	Linfócitos T
LT	Linfócito T
LTh	Linfócito T *helper*
LTNP	Progressores am longo prazo (do inglês - *Long term non-progressor*)
MHC	do inglês, *major histocompatibility complex*
ml	Mililitro
NAbs	anticorpos neutralizantes
nef	fator de regulação negativa
NK	do inglês, *Natural Killer*
OMS	Organização Mundial de Saúde
PAMPs	*Pathogen-associated molecular patterns*
pH	Potencial Hidrogeniônico
PRRs	receptores de reconhecimento de patógenos
RNA	*Ácido ribonucleic*
SIV	Vírus da imunodeficiência Símia *(do inglês Simian Immunodeficiency Vírus)*
tat	do inglês, Transactivator Protein
TNF	Fator de Necrose Tumoral
TR	transcriptase Reversa
Treg	Linfócito T regulatório
UNAIDS	Programa das Nações Unidas contra AIDS (do inglês, *Joint United Nations Programon HIV/AIDS*)
ver	do inglês, *RNA Splicing-regulator*

vif	fator de infectividade viral
vpr	proteína de vírus r
vpu	proteína de vírus única

RESUMO

RACIONAL: Os pacientes não-progressores de longo prazo (LTNP) do HIV, constituem um subgrupo de infectados que permanecem com nível sérico viral indetectável, ou seja, abaixo de 5000 cópias de RNA/mL, por um período superior a 10 anos de infecção, sem terapia anti-retroviral (ART). A técnica de imunofenotipagem para análise celular, e a citometria de fluxo são importantes ferramentas para acompanhamento da patogênese viral, assim como, identificação de células que podem demonstrar uma resposta imune peculiar, frente a um microorganismo que desafia a ciência. **OBJETIVOS:** Determinar e comparar o padrão de células da resposta imune inata em pacientes HIV-1 positivos com e sem progressão lenta. Associando, a influência quantitativa das células da resposta imune inata na produção de citocinas em pacientes HIV-1 positivos e comparando o perfil destas citocinas nos pacientes infectados com e sem progressão lenta. **MÉTODOS:** Para análise celular, foram avaliados 42 indivíduos soropositivos para o HIV-1, atendido no Hospital Universitário Professor Edgard Santos, onde, 20 destes pacientes eram LTNP, 22 HIV crônicos e também 20 indivíduos voluntários hígidos. Amostras de sangue periférico foram submetidas à marcação através de anticorpos monoclonais anti-CD3+, anti-CD4+, anti-CD8+, anti-CD45+, anti-CD45RA+, anti-CD45+RO, anti-CD5+/CD19+,anti-CD16+/CD56+ anti-CD4+/CD25+ e anti-CD11c/CD40 para a avaliação da imunofenotipagem celular e técnica de CBA para as citocinas IL-2,IL-6, IL-10, TNF,IL-1a e IFN-g. **RESULTADOS:** Pacientes LTNP apresentaram uma equivalência em relação às médias das linfócitos $TCD4^+$ $LTCD8^+$, DCs, NK e monócitos em comparação ao grupo de indivíduos hígidos. Houve significância estatística nas variações dos LT-näive, LT- memória, LB e Treg nos pacientes LTNP, quando comparados ao grupo de indivíduos hígidos como também, as variações no LT-näive, LT- memória, LB e Treg, monócitos, utilizando um $p<0,05$, em relação às médias das células do grupo de pacientes HIV/AIDS e as células do grupo de indivíduos controle. Foram avaliados em todos os grupos, os parâmetros de faixa etária e contagem de células, no entanto, não houve interferência estatística para esta avaliação. Com relação às citocinas, o valor médio de IL-2 com diferença significante em comparação aos grupos HIV/AIDS e controle. Nas citocinas IL-2 e IL-6, houve diferença

estatística em comparação a progressores lentos e indivíduos hígidos. Todavia, entre IL-10, TNF, IL-1a e IFN-g não houve significância estatística entre os grupos estudados. **CONCLUSÃO:** Indivíduos LTNP, apresentaram uma frequência de $LTCD4^+$ em níveis da normalidade, como também a expressão das DCs, Treg e NK. Alterações na produção de $LTCD8^+$ foram observadas em análises citometricas em pacientes HIV/AIDS e o valor de LTCD4+ interfere na produção de IL-2 em progressores lentos e IL-6 em HIV/AIDS.

PALAVRAS CHAVE: HIV, LTNP, IMUNOFENOTIPAGEM, CITOMETRIA DE FLUXO.

ABSTRACT

BACKGROUND: The long-term non-progressor (LTNP) patients with HIV, also known as elite controllers, are a subgroup of infected individuals who remain with an undetectable viral serum level, ie below 5000 copies RNA / ml, for a period greater than 10 years of infection, without antiretroviral therapy (ART).The immunophenotyping technique for cell analysis and flow cytometry are important tools for monitoring viral pathogenesis, as well as identifying cells that may demonstrate a peculiar immune response to a microorganism that challenges science. **OBJECTIVES:** To determine and compare the cell pattern of the innate immune response in HIV-1 positive patients with and without long-term non-progressor. Associating the quantitative influence of innate immune cells on cytokine production in HIV-1 positive patients and comparing the profile of these cytokines in patients with and without long-term non-progressor. **METHODS:** A total of 42 HIV-1 seropositive individuals were evaluated at the University Hospital Professor Edgard Santos, where 20 of these patients were LTNP, 22 were HIV-positive and 20 were healthy volunteers. Samples were subjected to labeling by anti-CD3 +, anti-CD4 +, anti-CD8 +, anti-CD45 +, anti-CD45RA +, anti-CD45 + RO, anti-CD5 + / CD19 +, anti-CD16 + CD25 + and anti-CD11c / CD40 for the evaluation of cellular immunophenotyping and CBA technique for cytokines IL-2, IL-6, IL-10, TNF, IL-1a and IFN-g. **RESULTS:** LTNP patients had an equivalence in relation to T lymphocytes CD4 + and LTCD8 +, DCs, NK and monocytes compared to the healthy individuals group. There were statistically significant differences in LT-naive, LT-memory, LB and Treg in LTNP patients, when compared to the healthy individuals group, as well as variations in LT-naive, LT-memory, LB and Treg, monocytes using a $p < 0.05$ in relation to the means of the cells of the group of patients HIV / AIDS and the cells of the group of control individuals. All groups, age group parameters and cell counts were evaluated; however, there was no statistical interference for this evaluation. Regarding the cytokines, the mean value of IL-2 with significant difference in comparison to the HIV/AIDS and control groups. In IL-2 and IL-6 cytokines, there was a statistical difference compared to LTNP patients and healthy individuals.

However, between IL-10, TNF, IL-1a and IFN-g there was no statistical significance between the groups studied. **CONCLUSION:** LTNP patients showed a production of LTCD4 + at normal levels, as well as the expression of DCs, Treg and NK. Changes in LTCD8 + production have been observed in cytometic analyzes in HIV/AIDS patients and the value of LTCD4 + interferes in the production of IL-2 in LTNP patients and IL-6 in HIV / AIDS.

KEYWORDS: HIV, LTNP, IMMUNOPHENOTYPING, FLOW CYTOMETRY.

1. INTRODUÇÃO

O vírus da imunodeficiência humana (HIV) continua a ser um dos desafios de saúde pública mais significativa do mundo. Conforme dados de 2016 da organização mundial da saúde (OMS), existem cerca de 37 milhões de pessoas infectadas com o HIV no mundo, com maior destaque, em países de baixa e média renda. Como resultado dos recentes avanços no acesso à terapia anti-retroviral (ART), as pessoas soropositivas vivem vidas mais longas e saudáveis. Além disso, existem evidências que a ART reduz a transmissão do HIV (WHO, 2017).

Na infecção causada pelo HIV há uma replicação do vírus aumentada na ausência das respostas do sistema imune adaptativo, o que caracteriza esta condição em infecção aguda, onde os níveis plasmáticos de cópias virais podem ultrapassar a marca de 100 milhões de cópias/ml. Entretanto, estes níveis elevados de viremia permanecem por um curto período de tempo, indicando que o sistema imune é capaz de gerar resposta imunológica que controla a replicação viral (MELLORS, 1995; SANTOS *et al.*, 2008).

Esta resposta envolve inicialmente mecanismos inespecíficos e também está associada à resposta humoral que ocorre com a produção de anticorpos, que surgem em algumas semanas após a infecção. Alguns estudos evidenciam que a maioria dos anticorpos seja dirigida contra restos de vírus que foram degradados, uma parte destes, podem neutralizar as partículas virais integrais pela ligação das glicoproteínas na superfície dos vírus ou depois da ligação glicoproteína (gp) 120 ao receptor de membrana CD4 das células, impedindo a fusão (MELLORS, 1995; SANTOS *et al.*, 2008).

Além disso, outros estudos mostram envolvimento de atividade celular citotóxica mediada por anticorpos (*antibody dependente cell citotoxicity* – ADCC), linfócitos T citotóxico $CD8^+$ (CTLs) e linfócitos $TCD4^+$ auxiliares, importantes na limitação da replicação do HIV, células existentes nas infecções agudas até os estágios iniciais da AIDS (MELLORS, 1995; SANTOS *et al.*, 2008).

As citocinas e quimiocinas têm um papel mais influente na patogênese do HIV-1, podem aumentar ou inibir a replicação viral. Durante a ativação de células imunitárias ocorre um aumento da produção destas moléculas, a exemplo de TNF-alfa, IL-1, IL-2, IL-4, IL-8, IL-6, IL-10, IL-15, IFN gama (GUHA & AYYAVOO, 2013).

A proteína do envelope viral gp120 desencadeia a produção de quimiocinas como: CCL2, CCL3, CCL4 e CCL5 que são quimicamente atrativas para as células dendríticas (DCs), macrófagos e linfócitos (GUHA & AYYAVOO, 2013).

Em relação à manifestação clínica, pode-se observar que os indivíduos progressores lentos do HIV permanecem com nível sérico viral, abaixo de 5000 cópias de RNA/mL, por um período superior a 10 anos de infecção (CASADO *et al*.,2010). Neste grupo também são considerados os pacientes com carga viral abaixo de 1000 cópias/ml de sangue e quantitativo de linfócitos $TCD4^{+}$ que não indiquem início de terapia anti-retroviral. Dentro deste grupo, existem aqueles pacientes que não se infectam devido à homozigose do Delta 32. Estes pacientes representam em média, apenas 1% da população infectada pelo HIV-1 (CASADO *et al*., 2010; PERNAS, *et al.,* 2012).

A imunidade inata é um tema de crescente interesse para as pesquisas do HIV, porque recentes trabalhos têm demonstrado resposta efetiva destas células contra o vírus, pois, anteriormente a resposta baseava-se apenas em cobrir as barreiras biológicas, sistemas celulares, fatores solúveis e vias de sinalização, sendo aplicados de forma inconsistente. (RAUSELL, MCLAREN & TELENTI, 2013).

Portanto, um maior conhecimento dos mecanismos da imunidade inata ante a infecção do HIV-1, deverá contribuir no desenvolvimento de pesquisas que visam principalmente no controle, mesmo que em longo prazo desta viremia.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Epidemiologia HIV/AIDS

De acordo com o conhecimento atual, a propagação do HIV começou no início do século XX. Transmissão zoonótica de SIVcpz (vírus da imunodeficiência símia de chimpanzés - *pan troglodytes troglodytes*) ocorreu para HIV-1 grupo M e grupo O em 1920 e para HIV-1 grupo N em 1960 (MOUREZ *et al.,* 2013; LOCATELLI & PEETERS, 2012), na África Central e Ocidental. O HIV-2 foi transmitido zoonoticamente de mangabey de fuligem (*Cercocebus atys*) para humanos na África Ocidental em torno de 1940 (LEMEY *et al*., 2003).

Análise genética molecular sugere que o HIV-1 foi exportado para o Haiti provavelmente em 1966 e chegou à América do Norte aproximadamente dois anos depois. Desde meados da década de 1980, os diferentes subtipos de HIV-1 se espalharam levando a uma pandemia global. Em contraste ao HIV-1, o HIV-2 inicialmente permaneceu restrito à África Ocidental devido à sua característica de menor infectividade (ROBBINS *et al.*, 2003; FARIA *et al.*, 2014).

Segundo estimativas da Organização Mundial da Saúde (2016), aproximadamente 2.3 milhões de pessoas vivem com o HIV. Atualmente a epidemia estabilizou-se graças à vasta expansão da antirretroviral (ART), que reduziu o número global de óbitos resultantes de causas relacionadas com este vírus.

O aumento do número de indivíduos vivendo com o vírus em relação aos anos anteriores, se deve ao fato da vasta expansão de pessoas recebendo tratamento antiretroviral, reduzindo assim, o número global de óbitos resultantes de causas relacionadas com a infecção pelo HIV (WHO, 2017).

A OMS sugere que em 2020 existirão aproximadamente 50 milhões de pessoas infectadas pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV) no panorama mundial (WHO, 2016).

No Brasil, foram notificados no SINAN, 136.945 casos de infecção pelo HIV-1 no ano de 2007 até junho de 2016, sendo 71.396 no Sudeste (52,1%), 28.879 no Sul (21,1%), 18.840 no Nordeste (13,8%), 9.152 no Centro-Oeste (6,7%) e 6.868 na Região Norte (6,3%). Apenas no ano de 2015 foram notificados 32.321 casos de infecção relacionadas com o vírus, sendo 2.988 casos na região Norte (9,2%), 6.435 casos na região Nordeste (19,9%), 13.059 na região Sudeste (40,4%), 7.265 na região Sul (22,5%) e 2.574 na região Centro- Oeste (8,0%) (UNAIDS, 2016).

2.2. Vírus da Imunodeficiência Humana

O HIV-1, o agente etiológico da síndrome da imunodeficiência adquirida (SIDA ou AIDS – *acquired immunodeficienty syndrome)* membro da família *Retroviridae* e agrupado para o gênero *Lentivirus* pertencendo à subfamília *Orthoretrovirinae* (SHARP, 1999) (figura 1).

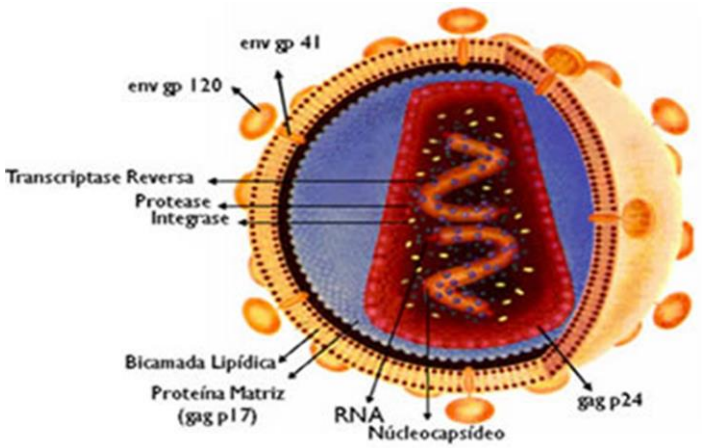

Figura 1 - ANATOMIA DO VÍRUS DA IMUNODEFICIÊNCIA HUMANA.

Fonte: BISMARA. et al, 2006

O genoma do HIV-1 possui aproximadamente 10.000 nucleotídeos, composto por duas moléculas de RNA (do inglês - *ribonucleic acid*) idênticas de

cadeia simples não complementares, que se encontram associadas à enzima transcriptase reversa (TR). A grande variabilidade genética encontrada no HIV-1 é principalmente remetida às altas taxas de incorreções da enzima TR no processo de incorporação de nucleotídeos na etapa de transcrição reversa durante a replicação viral (RAMBAUT *et al*., 2004).

O HIV-1 é capaz de codificar em seu genoma, proteínas estruturais como: tat (do inglês, *Transactivator Protein*) e ver (inglês RNA *Splicing-regulator*) são necessários para o início da replicação do HIV, enquanto as outras proteínas reguladoras, nef (fator de regulação negativa), vif (fator de infectividade viral), vpr (proteína de vírus r) e vpu (proteína de vírus única) têm um impacto sobre replicação viral e outras funções, incluindo o escape do sistema imunológico (MALIM & EMERMAN, 2008).

Para superar as funções efetoras do sistema imune, os vírus incluindo retrovírus, utilizam-se de algumas estratégias para neutralizar e/ou subverter a resposta imune. Um dos mecanismos utilizados pelo qual o HIV-1 consegue debelar a resposta imune do hospedeiro é por meio de modificações de seus padrões moleculares associados a patógenos (PAMPs) alterando ou escondendo seus ácidos nucléicos no capsídeo viral e desta forma, mostrando maior semelhança com uma célula do hospedeiro (SHARP, 1999; PEETERS *et al.,* 2000).

Além disso, outra estratégia de evasão imunológica para o vírus é a capacidade de variabilidade genética. O HIV-1 por ser um vírus com material genético constituído por RNA possui altas taxas de mutação aleatória devido às falhas ocorridas na transcrição viral, o que ajuda no mecanismo de escape viral durante reconhecimento imunológico pelo hospedeiro. Ao evitar tal reconhecimento, o HIV-1 ultrapassa vários pontos de controle na defesa imune inata e adaptativa (GOTO *et al.*, 1994; SERRA-MORENO *et al.,* 2011).

2.3. Mecanismos da infecção viral em células humanas

Os passos iniciais da infecção viral são caracterizados por complexas interações proteína-proteína, na qual para a infecção pelo HIV as proteínas virais necessárias são: a glicoproteína de superfície gp120 e a transmembrana

gp41 contidas na partícula madura do HIV. Essas glicoproteínas são essenciais durante o primeiro contato do vírus com a célula hospedeira, pois estas irão ligar-se ao receptor CD4 e aos co-receptores localizados na membrana plasmática de linfócitos T *helper* (LTh), macrófagos, monócitos e DCs (FRANKEL & YOUNG, 1998).

Após o receptor CD4 interagir com alta afinidade com a gp120 através do seu domínio C4, ocorre uma mudança conformacional que induz a exposição de gp41, a qual é responsável por uma ligação secundária, associando-se ao co-receptor de superfície celular, receptor de quimiocina 5 (CCR5) ou receptor de quimiocina 4 (CXCR4), conforme demonstrado na figura 2. A extremidade da cadeia polipeptídica N-terminal de gp41 (que é uma glicoproteína transmembrânica) é apresentado na membrana viral formando um canal e devido à sua alta hidrofobicidade promove a fusão da membrana viral à membrana plasmática da célula alvo (LUCIW PA, 1996; ARCHIN *et al.,* 2014).

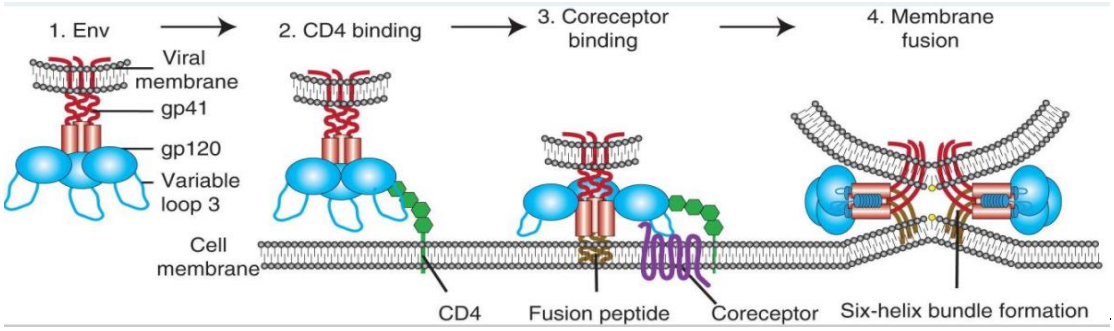

Figura 2 - VISÃO GERAL DA ENTRADA DO HIVFonte: WILEN *et al.,* 2012

Fonte: WILEN *et al.,* 2012

A fusão da membrana viral e celular leva à translocação da capsídeo viral no citoplasma. O capsídeo é envolto por um fagossoma e uma mudança no valor do pH, induz a liberação do conteúdo do capsídeo no citoplasma. A ativação da TR ocorre no citoplasma, transcrevendo o genoma de RNA do HIV de cadeia simples em DNA ou cDNA (do inglês - *complementary DNA*)(WEI X, *et al*., 2003).

Este DNA proviral é transportado via núcleo celular na forma de um complexo de pré intenção que consiste da integrase (IN) e DNA proviral linear ou circular e imposto a celulares. A IN então insere aleatoriamente o genoma viral no genoma das células hospedeiras humanas. A integração do DNA proviral inicia a infecção do HIV na célula e o possível estabelecimento de uma persistente infecção. O genoma proviral pode ser replicado juntamente como parte do genoma da célula hospedeira durante o processo de divisão celular (WEI X, *et al,*. 2003).

A infecção das partículas do HIV nos linfócitos é variável, indicando que o vírus pode replicar, como também, serem inativados. Segundo estudos de Archin *et al.,*(2014) a inativação do vírus HIV foi demonstrada em experimento de células cultivadas após 2 dias, sugerindo que o HIV tenha sido inativado apenas após a incubação de várias semanas sob temperatura de 4 °C, mas em células dendríticas (DCs) o HIV permaneceu infeccioso por várias semanas e não só em 2 dias como foi apresentado na cultura dos linfócitos (ZENG *et al.,* 2012).

O processo de ligação/infecção do HIV a uma célula $CD4^+$ ocorre em um tempo aproximado de 30 minutos a 2 horas. A transcrição do genoma do RNA viral em DNA proviral é completada após aproximadamente 6 horas e a integração os no genoma do hospedeiro leva mais 6 horas. Após a integração, primeiros virions detectáveis em aproximadamente de 12 horas (PAULS *et al.,* 2013).

O vírus HIV-1 quando transmitido por contato sexual, infecta primeiramente as células dendríticas (DCs) - por exemplo, células de Langherans - ou macrófagos e/ou monócitos usando o co-receptor CCR5; para cepas virais do tipo R5. Dependendo da cepa viral apresentará um tropismo diferente ou o tropismo duplo (R5/X4) sendo inserido à cepa do vírus (PAULS *et al.,* 2013; MENG *et al.,* 2002). A infecção do HIV pode resultar na infecção direta de LTh e a transmissão de vírus R5 e X4 (usando o receptor CXC4 como co-receptor) (ARRILDT *et al.* 2012).

2.4. Resposta imune na infecção pelo HIV

Em pacientes com AIDS as principais infecções oportunistas são relacionadas a agentes intracelulares, tais como: *Mycobacterium tuberculosis, Citomegalovírus, Candida albicans e Criptosporidium.* Como na infecção pelo HIV os linfócitos B (LB) são induzidos a produzir anticorpos, no entanto, essa maior susceptibilidade para infecções bacterianas extracelulares nestes pacientes, pode também induzir a produção de linfócitos B (LB) (MACHADO *et al*., 2004).

Em crianças infectadas, o comportamento da resposta imune é ineficiente, uma vez que a alteração do funcionamento das células $TCD4^+$ é mínima, como também mostrando anormalidades na síntese de anticorpos. É por isso, que infecções por bactérias extracelulares são comuns em todas pelo HIV crianças (MACHADO *et al*., 2004).

Os componentes do sistema imune inespecíficos são ativados precocemente, logo após a infecção e se encarregam de limitar e restringir a taxa de replicação viral até que os mecanismos da imunidade adquirida sejam desencadeados. Na resposta imune inata contra vírus, encontram-se determinados grupos celulares, componentes ativos do sistema complemento, células *natural killer* e principalmente as células DCs, e o interferon do tipo I (IFN-I) (CHADHA *et al*., 2004; ABBAS *et al.,* 2005; 2008).

A imunidade adaptativa contra antígenos virais atua com a ativação de células $TCD8^+$ que exercem citotoxicidade ao reconhecerem antígenos virais via MHC (do inglês - *major histocompatibility complex*) nas células, com o resultado da liberação de granzimas e perforinas atuando como as células *Natural Killer* (NK), no entanto de forma direcional. Estes desempenham um papel importante na luta contra as infecções virais apesar de estarem montando uma resposta imune a agentes intracelulares. E na fase extracelular, os anticorpos podem se ligar ao vírus (TOMARAS *et al*., 2008; SANTOS *et al*., 2008).

A ativação celular NK é controlada pela integração de sinais de ativação e receptores inibitórios, como mostrado na figura 3:

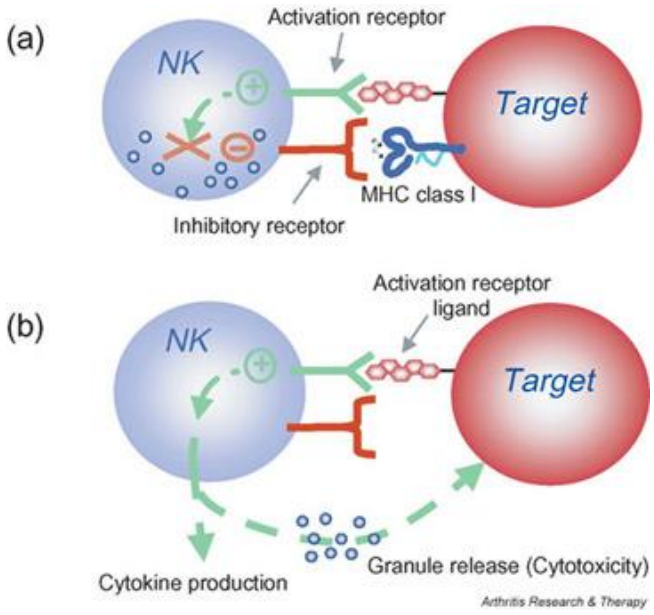

Figura 03 - OS DIVERSOS MECANISMOS DE ATIVIDADE ANTIVIRAL NA IMUNIDADE INATA

Fonte: FRENCH, A.R., and YOKOYAMA, W.M., 2003

(a) Os receptores de células NK inibitórias reconhecem auto-MHC de classe I e restringem a ativação de células NK. **(b)** Quando sem impedimentos pelos receptores inibitórios, a ligação de receptores de ativação de células NK aos seus ligantes em células alvo resulta em estimulação destas células. Na ausência ou na autoregulação MHC classe I nas células alvo, esses sinais estimulantes não são mais suprimidos, resultando em respostas de células NK incluindo produção de citocinas e liberação de grânulos levando a citotoxicidade. Observe que este modelo indica que as células *Natural Killer* não matam por padrão; isto é, quando a inibição da classe I do MHC está ausente, a célula NK ainda deve ser estimulada através de receptores de ativação. Além disso, se ou não uma célula NK individual é ativada por um alvo, é determinada por este complexo equilíbrio de receptores com função

oposta e expressão dos ligantes correspondentes. Em geral, a inibição domina a ativação. Finalmente, As células NK podem ser estimuladas diretamente por citocinas como interleucina-12 que desencadeiam a produção de outras citocinas por células NK (não mostradas). Essas respostas diretas mediadas por citocinas não são afetadas pela expressão de classe I de MHC (FRENCH, A.R., AND YOKOYAMA, W.M., 2003)

Além disso, há liberação de IL-12 produzida por macrófagos e outras células apresentadoras de antígenos (APC), contribuindo para uma parte importante na fase inicial da infecção viral. Estimulando células que exercem citotoxicidade e também produzir mais IFN-g, o que por sua vez, aumenta o potencial microbicida dos macrófagos (MANETTI *et al*., 1993; MACHADO, ARAÚJO, CARVALHO & CARVALHO, 2004).

Por contraste, os anticorpos podem auxiliar no mecanismo de citotoxicidade celular ligando-se às células infectadas e assim permitindo a ação das células NK. Em várias doenças, como por exemplo, poliomielite, sarampo, hepatite B e varicela os anticorpos têm um papel fundamental na proteção (MANETTI *et al*., 1993; MACHADO, ARAÚJO, CARVALHO & CARVALHO, 2004).

O HIV infecta predominantemente células $TCD4^+$ e a destruição destas células pode ocorrer por efeito "citopático" (ECP) causado pelo vírus, além disso, existe um índice de apoptose nestas células, devido à expressão de antígenos virais ao nível da membrana. As células também podem ser destruídas por citotoxicidade mediada pela célula T $CD8^+$ um fenômeno que ocorre como consequência da redução de células T $CD4^+$ (SANTOS *et al*., 2008; MACHADO, ARAÚJO, CARVALHO & CARVALHO, 2004). Esta supressão da resposta imune está associada predominantemente com uma redução de IL-2, IFN-g e TNF (KEDZIERSKA & CROWE, 2001).

2.5. Imunidade Inata

O sistema imunológico inato evoluiu ao longo de milênios para controlar de forma inespecífica e isolar os patógenos invasores. Ao contrário do braço adaptativo do sistema imunológico, que usa receptores específicos para

reconhecer antígenos estranhos, o sistema imune inato usa uma série de receptores de reconhecimento para detectar padrões associados a bactérias, vírus e/ou parasitas. Esses padrões relacionam-se a estruturas de carboidratos, proteínas ou lipídios que são únicas para agentes patogênicos, normalmente não produzidos em células humanas (MURPHY, TRAVERS, WALPORT, 2010).

Os componentes imunológicos do hospedeiro desempenham papéis benéficos e patogênicos na infecção pelo HIV-1. Durante o estágio inicial da infecção viral, uma rede complexa de fatores imunes inatos é ativada. Por exemplo, as células do sistema imune inato expressam uma série de proteínas inflamatórias incluindo citocinas, quimiocinas e fatores de restrição antivirais. (GUHA & AYYAVOO, 2013).

Os monócitos circulantes no sangue exercem importantes papéis na defesa do hospedeiro contra patógenos e são essenciais para a resposta inflamatória e inata contra microrganismos. Os monócitos podem ser divididos em pelo menos três subconjuntos: clássicos CD14 e CD16, intermediários CD14hi e $CD16^{+}$, e não clássicos CD14lo e $CD16^{+}$, cujos fenótipos se assemelham à descrição tradicional de monócitos e a macrófagos de tecido maduro (AUFFRAY, SIEWEKE & GEISSMANN,2009; BAGGALEY, WHITE & BOILY, 2010;SUN *et al*., 2012).

Os macrófagos são caracterizados como um principal alvo para o HIV e é um potencial reservatório celular de longo prazo para vírus gerando importante para o processo pro-inflamatório e desregulando atividades destes macrófagos, o que contribui diretamente para o desenvolvimento de AIDS e suas patologias associadas no cérebro, pulmões, nódulos linfáticos e pele. A ativação clássica dos macrófagos é um recurso bem estabelecido da imunidade celular à infecção pelo HIV-1 (MELLORS *et al*., 1995; FRIMAN & GISSLÉN, 2007; GEKONGE *et al*., 2012).

2.6. Resposta imune adaptativa

A infecção pelo HIV-1 também está associada com a resposta imunológica especifica. Com o início da resposta imune humoral contra o HIV,

após 3-6 semanas são observados sintomas clínicos variáveis na maioria das pessoas infectadas com febre, aumento de linfonodos, fadiga, mal-estar, erupção cutânea com pequenas lesões ligeiramente elevadas e/ou sintomas gastrointestinais.

Estes sintomas são inespecíficos e também são encontrados em outras infecções virais, como *Epstein-Barr* e mononucleose induzida por *Citomegalovirus* e *Influenza*. A neuropatia aguda é comum na fase aguda da infecção, os sintomas persistem por 2-6 semanas. Esta fase sintomática inicial é geralmente seguida por uma fase assintomática ou uma com sintomas ocasionais que podem durar muitos anos (MACHADO, ARAÚJO, CARVALHO & CARVALHO, 2004).

A principal forma de transmissão do HIV-1 ocorre na superfície da mucosa, incluindo a oral, cérvico-vaginal e epitélio da mucosa retal. O HIV-1 aloca predominantemente células associadas à resposta imune adaptativa, em células T $CD4^+$ específicas que residem principalmente nos nódulos linfáticos e trato gastrointestinal. Ativação imune induzida da infecção por HIV-1 fornece mais alvos de células T $CD4^+$ para replicação viral, aumentando o esgotamento de células T e eventualmente iniciando um ciclo vicioso de replicação viral descontrolada (POPE & HAASE, 2003; BRENCHLEY *et al.,* 2004; ZHANG *et al*., 2004; LACKNER & VEAZEY, 2007; SHATTOCK *et al*., 2008; APPAY & SAUCE, 2008;BAGGALEY, WHITE & BOILY, 2010).

Nesta fase da infecção, o sistema imunológico falha permitindo o ressurgimento e preexistência de patógenos latentes. A formação desse ciclo vicioso leva a exaustão do sistema imune adaptativo e eventual progressão à AIDS (DOISNE *et al.,* 2004).

No decurso da infecção pelo HIV e dependendo do número de células T $CD4^+$ os primeiros sintomas inespecíficos podem ser observados, estes podem incluir episódios curtos de febre, diarreia, mal-estar, fadiga e perda de peso sintomas da chamada doença relacionada à AIDS (PACE *et al.,* 2017).

O declínio da viremia do HIV, após a infecção aguda, aumenta a frequência das células T $CD8^+$, que são capazes de matar diretamente as

células infectadas pelo vírus. Sendo estas, um fator dominante na contenção do HIV, todavia, o mecanismo exato ainda não foi definido (Figura 4).

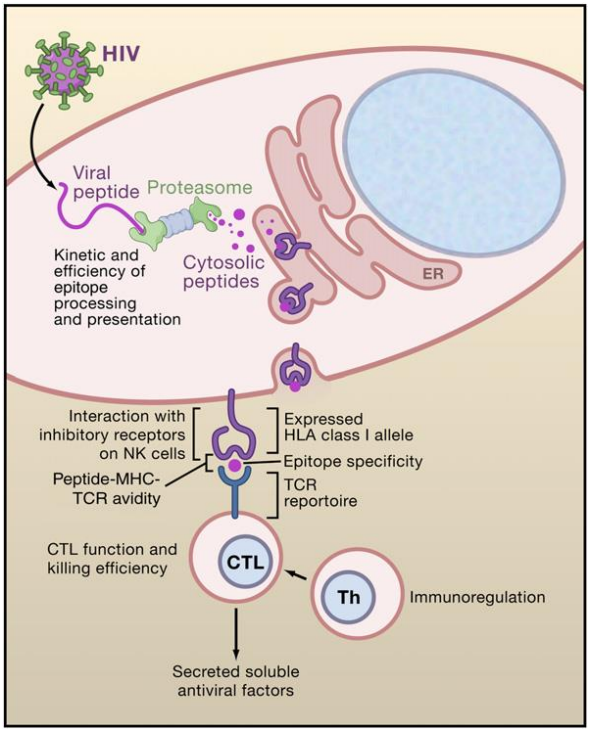

Figura 04 - FATORES POTENCIAIS QUE INFLUENCIAM AS CLTs CONTROLAR A INFECÇÃO PELO HIV

Fonte: DEEKS, Steven G. and WALKER, Bruce D., 2007.

Embora não exista uma clara associação entre o número de células T $CD8^+$ específicas ao controle virológico da produção do HIV (conforme definido pela produção de INF-g) a função dessas células é claramente maior indivíduos progressores lentos em comparação com os progressores não lentos, incluindo a capacidade de proliferar após o encontro com antígeno do HIV e a capacidade de produzir citocinas múltiplas (INF-g, TNF, IL-2 e CD107a). Estudos mais recentes mostram que um teste de "neutralização" de vírus pode ser usado para avaliar o potencial antiviral das células T $CD8^+$ diretamente de

uma maneira comparável a resposta de anticorpos. (MIGUELES *et al*., 2002; JESSEN *et al* ., 2005; PACE *et al*., 2017).

Outro fator adicional de modulação no hospedeiro seria as células T $CD4^+$ *helper*, células que são necessárias para a manutenção em longo prazo, antígeno especifico de $CD8^+$ e células $TCD4^+$ de memória (GRAKOUI *et al*., 2003; LICHTERFELD *et al*., 2004).O HIV infecta essencialmente o sistema imunológico, sendo o principal alvo as células T $CD4^+$. Em Infecções aguda por este vírus até a evolução a AIDS há uma perda maciça de células $TCD4^+$ (GUADALUPE *et al*., 2003; LI *et a*l., 2005; MATTAPALLIL *et al*., 2005) e as células T $CD4^+$ específicas do HIV são ativadas, constituindo um alvo primário contínuo para infecção (DOUEK *et al*., 2002). Perda precoce induzida por vírus dessas células $TCD4^+$ que são críticas no estabelecimento de um sistema imune adaptativo efetivo. As respostas são amplamente consideradas como uma das principais razões pelas quais os humanos não conseguem controlar com sucesso o HIV (DOUEK *et al*., 2002).

Outro trabalho relatou que a infecção SIV (vírus da imunodeficiência símia) de macacos leva à alta viremia e progressão rápida da doença. A depleção experimental de células T $CD8^+$ em macacos, que controlam a replicação SIV levando a um rápido retorno na viremia (FRIEDRICH *et al*., 2007). A recuperação subsequente do sistema imunológico foi associado ao surgimento de respostas de T $CD4^+$ e $CD8^+$, a replicação SIV que por sua vez, foi associada com restabelecimento de vírus indetectáveis ou baixas cargas (FRIEDRICH *et al*., 2007), sugerindo que ambos antígenos específicos funcionais das células T $CD4^+$ são realmente necessárias na manutenção da capacidade das células T $CD8^+$ para controlar a replicação viral.

Alguns dados mostram o papel específico das células T $CD4^+$ em humanos com uma resposta "polifuncional" que expressa IFN-g e IL-2 em indivíduos progressores lentos, quando comparado com controle (EMU *et al*., 2005).

A maioria dos pesquisadores acredita que a única maneira de prevenir a infecção pelo HIV será desenvolver uma vacina que possa estimular a

neutralização amplamente reversa de anticorpos. Embora mais antigos alguns ensaios sugerem, que os anticorpos são capazes de neutralizar o vírus que estão presente *in vivo* em alguns indivíduos progressores lentos (LTNP) (CAO *et al*., 1995).

2.7. Indivíduos progressores lentos

Após mais de duas décadas de identificação do agente causador da AIDS, muito ainda se discute sobre a ligação celular com o HIV. Trata-se de uma infecção com tempo de incubação prolongada, e muitos fatores e mecanismos podem interferir na evolução da doença (TIBURCIO, 2009).

O desenvolvimento da infecção para AIDS possui um tempo variável de 7 a 14 anos. Observou-se também que em torno de 50 a 70 % dos indivíduos infectados pelo HIV sem tratamento evoluem para imunodeficiência severa em um período médio de 8 a 10 anos. Existem pessoas que mesmo sem fazer uso da ART não desenvolvem AIDS por período aproximado de 10 anos de evolução e estes indivíduos são identificados como HIV-progressores lentos (LTNP, do inglês, *long-term non-progressors*). Este grupo de indivíduos constituem aproximadamente 5 a 15% de todas as pessoas infectadas pelo HIV mundialmente (KUMAR, 2013).

Os indivíduos LTNP apresentam viremia detectável abaixo de 5.000 cópias de RNA/mL, durante a evolução da infecção diferentemente dos controladores de elite ou *natural controllers,* que também possuem infecção com progressão lenta, mas que mostram viremia persistentemente abaixo de 50 cópias de RNA/mL. Os controladores de elite representam uma pequena parcela do grupo de LTNP, aproximadamente 1% de todos os soropositivos, conforme ilustrado na figura 5 (KUMAR, 2013).

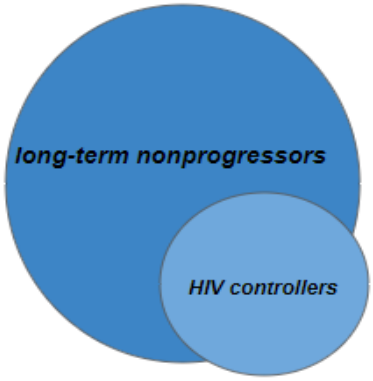

Figura 05 - RELAÇÃO ENTRE LTNP E CONTROLADORES DE ELITE

Fonte: Adaptado de DEEKS, Steven G. and WALKER, Bruce D., 2007.

Um estudo evidenciou as correlações envolvendo mutações e/ou deleções das proteínas virais do HIV-1, além dos fatores genéticos e das respostas imunes primárias. Ainda não está totalmente esclarecido, como esta resposta imunológica consegue manter a replicação viral em uma progressão lenta, reduzindo assim as capacidades replicativas, que levam o hospedeiro ao quadro da síndrome da imunodeficiência (AIDS) (PERNAS *et al*., 2012).

Indivíduos progressores lentos (LTNP) parecem ser menos propensas à infecção primária sintomática do que aquelas destinadas a permanecer virêmicas (MADEC *et al.,* 2005); sugerindo que as interações complexas de vírus e hospedeiro, que conduzem ao controle durável da replicação viral, já são desenvolvidas durante a primeira fase da infecção pelo HIV (ALTFELD *et al*., 2006). Nestes indivíduos observa-se que a infecção pelo vírus HIV pode ou não está associada a uma carga viral indetectável na ausência de terapia (MADEC *et al*., 2005) e é igualmente um forte preditor de não-progressão imunológica (PRINS *et al.,*1997).

O gênero também não é um fator de aumento ou diminuição da carga viral, permanecendo imunologicamente estável, não necessitando de tratamento medicações anti-retrovirais. (STERLING *et al*., 1999).

O impacto potencial de raça, localização geográfica e/ou subtipo viral nos resultados imunológicos e virológicos permanecem desconhecidos, embora os controladores tenham sido identificados em múltiplas etnias e infectados com diferentes subtipos de vírus (DEEKS & WALKER, 2007).

Os estudos epidemiológicos, clínicos, moleculares e imunológicos dos indivíduos LTNP vêm proporcionando à comunidade científica conhecimentos impares associados aos mecanismos potenciais e antivirais de defesa em controladores de HIV. Apesar das implicações importantes para vacinas e esforços terapêuticos, alguns trabalhos mostram que a variabilidade do vírus ou fatores relacionados ao hospedeiro, mecanismo preciso associados ao controle virológico, ainda permanecem evasivos e/ou desconhecidos.

3. JUSTIFICATIVA

A patogênese da infecção pelo HIV envolve a depleção de células T $CD4^+$ resultando em imunodeficiência. Para a grande maioria dos pacientes infectados pelo HIV, a replicação viral contínua e a contagem de células $CD4^+$ diminuem eventualmente levando ao desenvolvimento da síndrome da deficiência imunitária adquirida (AIDS) e finalmente a morte na ausência de terapia anti-retroviral (ART) (OKULICZ *et al*.,2009).

Em alguns casos raros, no entanto, este aumento na viremia não é observado e a imunidade é mantida nesses indivíduos. São pacientes assintomáticos que mantêm baixos níveis de replicação viral na ausência de tratamento ART chamados de não-progressores de longo prazo (LTNP) que mantém níveis elevados de células T $CD4^+$ por mais de 10 anos sem receber tratamento. Esses indivíduos se tornaram o centro de muitos estudos para identificar mecanismos de controle viral espontâneo (PALACIOS *et al.,* 2012).

Os indivíduos não-progressores de longo prazo tipicamente têm cargas virais abaixo de 5.000 cópias de RNA/ml de sangue (POROPATICH, Kate & SULLIVAN JR, David J, 2011; RHODES, David L., *et al* 2000) mesmo sem utilização do tratamento. A maioria das pessoas com HIV não usam a medicação e possuem cargas virais muito mais altas. Estima-se que cerca de 1 em cada 300 pessoas com HIV são não-progressoras de longo prazo, sem os sintomas da AIDS e muitos pacientes caracterizados como LTNP podem não saber que estão infectados .

Além desses, existe um subgrupo de indivíduos que são capazes de controlar espontaneamente a carga viral plasmática sem ART, mantendo a carga viral abaixo dos limites de detecção (< 50 cópias de RNA/mL), por períodos prolongados, referidos como controladores de elite ou supressores de elite. Embora, a carga viral seja definida por critérios tipicamente virológicos, os

controladores de elite também estão associados a altas contagens de células $CD4^+$ e risco reduzido de AIDS e morte (OKULICZ *et al*., 2009) .

Alguns estudos sobre indivíduos LTNP e a resposta imunológica tem associado menores níveis de RNA do HIV a respostas de células T $CD8^+$ específicas (DINGES *et al*., 2010; KUMAR *et al*., 2013; LIU *et al*., 2009; MOTHE *et al*., 2011). Há um crescente consenso de que o controle durável da infecção entre pacientes portadores de alelos protetores associados à função da célula T $CD8^+$. Visto que, alguns trabalhos demonstram que a resposta imune funciona de forma mais consistente em indivíduos LTNP, quando comparados com outros pacientes HIV; destacando o aumento da polifuncionalidade, proliferação, carregamento de proteínas citotóxicas, capacidade de supressão de vírus e capacidade citotóxica (BETTS *et al*., 2006;HERSPERGER *et al*., 2010; HERSPERGER *et al*., 2011 ; FERRE *et al.*, 2009; MIGUELES *et al*., 2002 ; MIGUELES *et al*., 2008; SAEZ-CIRION *et al*., 2007 ; ZIMMERLI *et al*., 2005).

Faz-se necessária uma melhor compreensão da progressão menos agressiva da doença, para melhor entendimento da modulação de células T $CD4^+$ e $CD8^+$, bem como os fatores integrantes do controle viral, que trará benefícios não só para os pacientes progressores lentos, mas para os infectados pelo HIV em geral.

4. OBJETIVOS

4.1 Objetivo principal

- Avaliar as células do sangue periférico associadas aos fenótipos predominantes em indivíduos portadores da infecção pelo HIV, progressores ou progressores lentos; bem como as citocinas imunorreguladoras de fase aguda.

4.2 Objetivos específicos

- Associar a influência quantitativa das células da resposta imune inata na produção de citocinas em pacientes HIV-1 positivos.
- Comparar o perfil de citocinas de pacientes HIV-1 infectados com e sem progressão lenta.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Dados sumarizados em 2 artigos

ARTIGO 1

5.1 CAPITULO 1: ARTIGO CIENTÍFICO 1: AVALIAÇÃO COMPARATIVA DA QUANTIFICAÇÃO DE CÉLULAS DA RESPOSTA IMUNE INATA EM PACIENTES HIV PROGRESSORES LENTOS

Barreto ASR[1]; Maia CO[1] ; Santana ASH [2] ; Costa MN [2] ;Bomfim EKS[3] ; Torres A [1]

1.Universidade Federal da Bahia, 2.LAPI 3. LABIMUNO

RESUMO

INTRODUÇÃO: Pacientes HIV *long-term non progressors* (LTNP) são indivíduos que possuem carga viral indetectável e mantêm contagem de linfócitos T (LT) $CD4^+$ superior a 500 cópias/mL, sem terapia anti-retroviral em comparação com os pacientes HIV/AIDS, o que pode determinar um diferencial na resposta imune semelhante a indivíduos hígidos. A resposta imune inata opera precocemente após a infecção, tendo como principal objetivo limitar e restringir a replicação viral até que os mecanismos da resposta imune adquirida sejam ativados. **OBJETIVO:** Comparar a resposta imune inata de células dendríticas (DCs) e *natural killer* (NK),monócitos, macrófagos, linfócitos B (LB),$LTCD4^+$,$LTCD8^+$, LT regulatório (Treg), LT näive e LT de memória em pacientes HIV-1, LTNP, HIV/AIDS e indivíduos hígidos acompanhados em um Serviço de Infectologia de Salvador-BA-BR. **MATERIAIS E MÉTODOS:** Neste trabalho foram analisados 42 pacientes HIV positivos, onde 20 eram LTNP, 22 HIV/AIDS e 20 indivíduos hígidos. As amostras foram coletadas a partir de células mononucleares do sangue periférico (PBMC). Para cada amostra foi realizada a técnica de imunofenotipagem por técnica de citometria de fluxo. **RESULTADOS:** Pacientes LTNP apresentaram uma equivalência em relação às médias dos $LTCD4^+$, $LTCD8^+$, DCs, NK e monócitos em comparação ao grupo de indivíduos hígidos. Houve significância estatística nos valores LT näive, LT de memória, LB e Treg nos pacientes LTNP, quando comparados ao grupo de indivíduos hígidos, como também as variações no LT näive, LT de memória, LB, Treg e monócitos. Foram avaliados para todos os grupos os parâmetros de faixa etária e contagem de células, no entanto, não houve interferência estatística para esta avaliação. **CONCLUSÃO:** Indivíduos LTNP apresentaram perfis do número de células da resposta imunes inatas

envolvidas na infecção viral em semelhança com indivíduos hígidos, o que pode caracterizar uma defesa mais efetiva e manutenção do estado clínico de não progressão da doença. Ressaltando que esse perfil não foi encontrado em pacientes HIV/AIDS.

PALAVRAS CHAVE: CITOMETRIA DE FLUXO, LINFÓCITO T, LTNP, HIV, AIDS.

COMPARATIVE EVALUATION OF QUANTIFICATION OF CELLS OF THE INNATE IMMUNE RESPONSE IN HIV PATIENTS LONG-TERM NON PROGRESSORS

Barreto ASR[1]; Maia CO[1] ; Santana ASH [2] ; Costa MN [2] ;Bomfim EKS[3] ; Torres A [1]
1.Universidade Federal da Bahia, 2.LAPI 3. LABIMUNO

ABSTRACT

INTRODUCTION:HIV long-term non progressors (LTNP) patients are individuals who have an undetectable viral load and maintain a T lymphocyte CD4+ count above 500 copies/mL, without antiretroviral therapy compared to HIV/AIDS patients, which may to determine a differential in the immune response similar to healthy individuals. The innate immune response operates early after infection, with the primary goal of limiting and restricting viral replication until the mechanisms of acquired immune response are activated. **OBJECTIVE:** To compare the **quantitative** innate immune response of dendritic cells (DCs) and natural killer (NK), monocytes, macrophages, B lymphocytes, CD4 + LT, CD8 + LT, regulatory LT (LT) LTNP, HIV / AIDS and healthy individuals accompanied at an Infectious Diseases Service of Salvador-BA-BR.**MATERIALS AND METHODS:** In this study, analyzed were 42 HIV positive patients, where 20 were LTNP and 22 HIV/AIDS and 20 healthy individuals. Samples were collected from peripheral blood mononuclear cells (PBMC).For each sample, an immunophenotyping technique was used for cell identification by flow cytometry technique. **RESULTS:** LTNP patients had an equivalence compared to the means of LTCD4+, LTCD8+, DCs, NK and monocytes compared to the group of healthy individuals. There were statistically significant differences in the LT naive, LT memory, LB and Treg in the LTNP patients when to compared with the healthy individuals group, as well as the variations in LT naive, LT memory, LB, Treg and monocytes.Age and cell count parameters were evaluated for all groups, however there was no statistical interference for this evaluation. **CONCLUSION:** LTNP individuals showed profiles of the innate immune response cell numbers involved in the viral infection in similarity to healthy individuals, which may characterize the

most effective defense and maintenance of the clinical state of non-progression of the disease. Noting that this profile was not found in HIV/AIDS patients.

KEY WORDS: FLOWCYTOMETRY, T LYMPHOCYTE, LTNP, HIV, AIDS.

5.1 INTRODUÇÃO

De acordo com a Organização Mundial da Saúde - OMS (2016) existe cerca de 37 milhões de pessoas infectadas pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV) no mundo. Desta forma, o HIV continua a ser um dos grandes desafios de saúde pública. A infecção por este vírus possui tempo de incubação prolongada com sintomatologia inicial comum a outras infecções virais, sendo detectada muitas vezes quando o indivíduo já desenvolveu a Síndrome de Imunodeficiência Adquirida (AIDS).

Cerca de 5-15% dos pacientes infectados pelo HIV são caracterizados como *long-term non progressors* (LTNP) (KUMAR, 2013) também conhecidos como controladores, pois constituem um subgrupo de infectados que permanecem com nível sérico viral detectável, porém abaixo de 50 cópias/ml por um período superior ao de 10 anos de infecção (CASADO *et al.,*2010).

Esses pacientes exibem uma capacidade superior no processo de controle viral em comparação com indivíduos HIV/AIDS, que evoluem muito mais rapidamente para a AIDS. No entanto, a elucidação dos mecanismos subjacentes de controle de vírus nos LTNP é de extrema importância para o tratamento da doença, mas esta condição continua a ser mal compreendida. As células mononucleares de sangue periférico (PBMC) são conhecidas por desempenhar papéis importantes na resposta imune inata e, portanto, seriam de grande interesse para a investigação dos mecanismos de defesa do vírus nos LTNP. A resposta imune inata a vírus atua imediatamente após a interação do hospedeiro com os antígenos virais, não sendo necessária exposição prévia do vírus para o desencadeamento de grupos celulares, operando precocemente após a infecção, tendo como principal objetivo limitar e restringir a replicação viral até que os mecanismos da resposta imune adquirida sejam ativados (KREUTZ, 2007; ABBAS, 2005).

Muitos grupos celulares participam desta resposta imune desempenhando papel crucial para o desenvolvimento de uma resposta imune efetiva, dentre as células que compõem o sistema inato é importante salientar a atuação das células dendríticas (DCs) desempenhando a importante função de apresentar antígenos aos linfócitos T e transferir antígenos aos linfócitos B, eventos que interligam a resposta imune inata e adquirida (KREUTZ, 2007).

Outras células de grande importância no sistema imune inato são as células *natural killer* (NK), que possuem atividades semelhantes aos linfócitos T citotóxicos. No entanto, a capacidade de destruição de células infectadas por vírus é realizada inicialmente pelas células NK e, posteriormente, pelos linfócitos citotóxicos (KREUTZ, 2007). Neste trabalho foi estudada a resposta imune inata de indivíduos HIV- LTNP e HIV/AIDS.

5.2 MATERIAIS E MÉTODOS

5.2.1 População em estudo

A população deste estudo foi composta de 62 participantes de ambos os sexos. Os participantes da pesquisa foram atendidos no Laboratório de Pesquisa em Infectologia do Complexo Hospitalar Universitário Professor Edgard Santos (LAPI/c-HUPES) da Universidade Federal da Bahia. A triagem foi realizada a partir do histórico de quantificação de carga viral e de linfócitos T $CD4^+$ disponível pelo software SISCEL do Ministério da Saúde.

Estes indivíduos foram categorizados de acordo com o perfil laboratorial, organizados em três grupos: grupo de pacientes progressores lentos (LTNP, do inglês *long-term non progressors*) (n=20), grupo HIV/AIDS (n= 22) e grupo indivíduos hígidos (n =20). O Projeto foi submetido e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Maternidade Climério de Oliveira e regularmente registrado na Plataforma Brasil CAAE - 59125616.7.0000.5543 encaminhado e aprovado com número de parecer 1.806.698. Todos os pacientes foram orientados sobre a finalidade do projeto, de acordo com a legislação atual em vigor, resolução 466/2012 do Ministério da Saúde.

As informações dos demais fatores clínicos como, histórico de tratamento anti-retroviral foram obtidos na entrevista. E o histórico de co-

morbidades foi obtido do prontuário do paciente. O grupo de indivíduos hígidos foi composto de 20 voluntários saudáveis de ambos os sexos da população local. E foram incluídos também após convite e entrevista.

Como critérios de não inclusão, os participantes da pesquisa, não poderiam apresentar nenhum sintoma clínico de infecção e também sorologia negativa para HTLV, doença de Chagas, Hepatite B e C, e nem portadores de doença auto-imune.

Todos os participantes foram previamente informados sobre o projeto, e os objetivos da pesquisa, tiveram suas participações confirmadas através da assinatura do TCLE, aprovado pelo comitê de ética da Maternidade Climério de Oliveira da Universidade Federal da Bahia.

5.2.2 Coleta de amostra de sangue e análise em citometria de fluxo

Foram coletados 10 ml sangue periférico em tubos contendo anticoagulante EDTA k^3 para realização da técnica de imunofenotipagem. Para a identificação celular, os receptores de superfície foram marcados por anticorpos monoclonais, para avaliação celular foi utilizado o seguinte painel de marcação: anti-$CD5^+$/$CD19^+$ para células B, anti-$CD3^+$ para linfócitos T, anti-$CD3^+CD4^+$ para linfócitos T auxiliares e anti-$CD3^+CD8^+$ para linfócitos T citotóxicos, anti-$CD14^+CD16^+$ para monócitos, anti-$CD11c^+CD4^+$ para células dendríticas e anti-$CD16^+CD56^+$ para células NK.

Foram utilizados 10ul destes anticorpos monoclonais para imunofenotipagem e, após a imunomarcação os tubos foram incubados em temperatura ambiente na ausência de luz por 15 minutos. Em seguida foi adicionado, em cada tubo, 1mL de Tampão de lise de hemácias (*Becton Dickinson*) e os tubos foram novamente submetidos à incubação, admitindo as mesmas condições anteriores. Na etapa seguinte, foram realizados três procedimentos de lavagens adicionando 1000 ul em seguida cada tubo foi submetido à centrifugação x g por 5 minuto.

Depois de finalizada as lavagens, descartou-se o sobrenadante e foram adicionados 400 ul de PBS (*Phosphate Saline Buffer)* para aquisição no

citômetro de fluxo *FACS-Calibur*. A aquisição foi pré-determinada a 15000 eventos utilizando o *Software Cell Quest*.

5.2.3 Análise estatística

Foi realizado um estudo transversal, quantitativo e descritivo, onde os resultados do questionário clínico-epidemiológico e experimental foram analisados estatisticamente pelo software SPSS v.22.0. Dados não paramétricos foram analisados pelo teste de Wilcoxon. Mann-Whitney foi utilizado para comparar diferenças entre os grupos de indivíduos estudados. O coeficiente de correlação de Spearman foi utilizado para determinar a correlação entre duas variáveis. A significância estatística foi definida como $P \leq 0,05$.

5.3 RESULTADOS

5.3.1 Características demográficas dos grupos

Os indivíduos HIV foram selecionados do banco de dados do Serviço de infectologia do Hospital Universitário Edgar Santos. Os pacientes *long-term non progressors* (LTNP) foram compostos por 20 indivíduos, apresentando idade média entre 24 e 64 anos, sendo selecionados 43% do sexo masculino mediante os três últimos resultados de carga viral, e para caracterização deste grupo, foram selecionados menos 6 meses de intervalo para cada coleta, observando-se neste grupo, carga viral abaixo de 1000 cópias/ml; entre estes CD4 acima de 500 células/mm³ e a relação dos linfócitos CD4/CD8 acima de 1.

O grupo HIV/AIDS, os pacientes apesentaram uma faixa de idade entre 27 e 68 anos, 70% do sexo masculino, a caracterização destes pacientes no grupo requereu que nos três últimos exames de carga viral a contagem de subpopulações de Linfócitos T apresentasse valores acima de 5000 cópias por ml; e para o segundo valor de subpopulações de linfócitos T CD4 abaixo de 200 células/mm³, tendo relação CD4/CD8 abaixo de 0,30.

O grupo controle foi formado de 20 voluntários saudáveis da população local de ambos os sexos. Estes indivíduos foram incluídos após convite e entrevista. Para este grupo foi utilizado como critério de exclusão, indivíduos

que não apresentaram nenhum sintoma clínico de infecção, e com sorologia negativa para HIV, HTLV, doença de Chagas, Hepatite B e C, e nem portadores de doença auto-imune

Os gráficos *dot plots* abaixo demonstram a estratégia de análise da citometria de fluxo para as células de interesse.

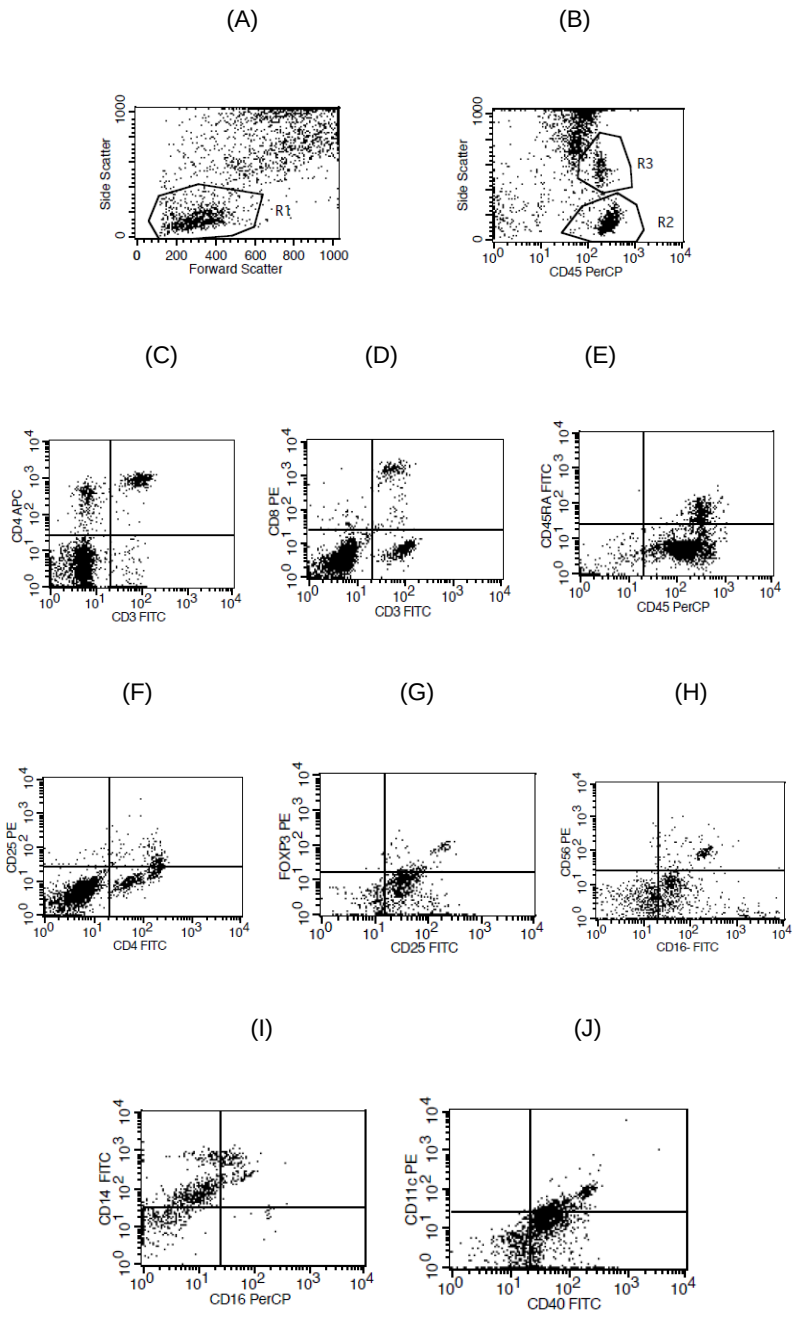

Figura 01 PERFIL DE MARCAÇÃO DE CONTROLE ISOTÍPICO POR CITOMETRIA DE FLUXO. Estratégia sequencial da análise de marcadores celulares: (A) Gráfico de tamanho celular (FSC) versus granulosidade celular (SSC); (B) Gráfico SSC versus

CD45 PerP; (C) Gráfico CD4 APC versus CD3 FITC ;(D) Gráfico CD8 PE versus CD3 FITC; (E) Gráfico CD45RA FITC versus CD45 PercP; (F) Gráfico CD25 PE versus CD4 FITC;(G) Gráfico FOXP3 PE versus CD25 PE;(H) Gráfico CD56 PE versus CD16 FITC;(I) Gráfico CD14 FITC versus CD16 PercP; (J) Gráfico CD11c versus CD40 FITC, todos anticorpos monoclonais da BD®.

5.3.2 Comparação entre valores de Linfócitos T

Os grupos estudados, devido às suas condições clínicas, apresentaram valores médios de contagens de subpopulações de linfócitos T bem distintos.

Os pacientes envolvidos no grupo controle, portanto, indivíduos hígidos, apresentaram valores médios de 39,03% células/mm³ de linfócitos T $CD4^+$ e 15,86% linfócitos T $CD8^+$. Entre os pacientes pertencentes ao grupo de progressores lentos, os valores médios encontrados para os linfócitos T $CD4^+$ foi de 31,22% e de 16,41 linfócitos T $CD8^+$. Em pacientes do grupo HIV/AIDS, como já esperado, os linfócitos T $CD4^+$ apresentaram contagens médias de 10,49% e de 25,70% em linfócitos T $CD8^+$. A distribuição dessas células entre os grupos estudados encontram-se na Figura 2.

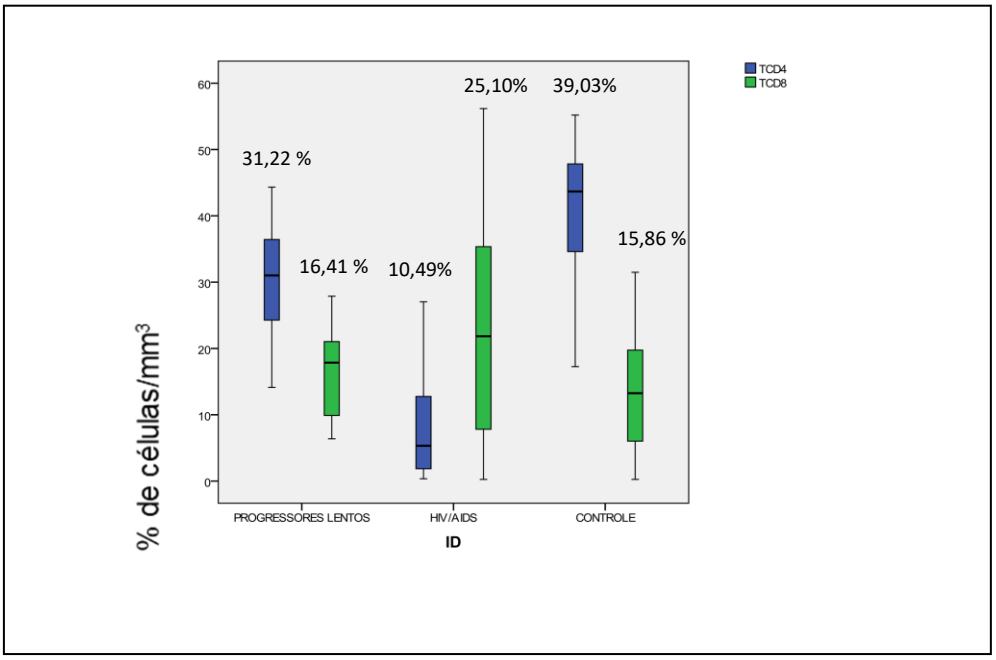

Figura 02 COMPARAÇÃO ENTRE VALORES DE LINFÓCITOS T ENTRE OS GRUPOS: PROGRESSSORES LENTOS, HIV/AIDS E CONTROLE. Gráfico de box-plot representando as medianas (% de células/mm^3) encontradas para as células: TCD4+ e TCD8+ entre os grupos Progressores Lentos; HIV/AIDS e controle.

Este perfil celular entre os grupos de pacientes infectados progressores lentos e não progressores apresentou diferenças significantemente estatísticas tanto para células T CD4$^+$ (P<0,05), quanto para células T citotóxicas de P=0,03.

Ainda, entre os linfócitos totais (CD3/CD45), foram avaliadas contagens das células nos tipos naive e de memória entre os três grupos de estudos. Observou-se que o grupo de progressores lentos, apresentou números significantemente maiores (P<0,05), de células de memória em comparação ao grupo HIV/AIDS. Dentre os linfócitos totais, 37,2% destes, eram de perfil de células de memória no grupo de progressores lentos e cerca de 27% eram do tipo naive. No grupo HIV/AIDS, menos de 1% dos linfócitos, apresentam perfil compatível com os de memória e cerca de 37% apresentaram perfil naive, o que representa, clinicamente, uma maior susceptibilidade de infecções para este grupo.

O perfil de linfócitos B (CD19/CD5) no grupo progressor lento foi de 27,12% enquanto que nos indivíduos controle foi de 53%. Porém, no grupo de pacientes HIV/AIDS, estas células apresentaram 34,7%, o que conota uma possibilidade de aumento da resposta humoral em comparação ao grupo de progressor lento. Tais resultados não foram estatisticamente relevantes entre os grupos infectados (P<0,05).

As células T regulatórias com perfil (CD4+CD25+FoxP3+) apresentaram-se em números bem inferiores entre os pacientes HIV/AIDS, obtendo valor de 1,94%. Estas mesmas células obtiveram valores de 6,52% para o grupo progressor lento e 3,18% para o grupo controle. A análise estatística deste perfil celular apresentou relevância na ordem de P<0,05.

5.3.3 Células da resposta imune inata

Inicialmente, foram avaliados os perfis de células dendríticas (CD11c/CD40) entre os grupos, os quais apresentaram valores na ordem de 7,2 % para pacientes do grupo progressor lento, 14,2% e no grupo HIV/AIDS e 6,6% células/mm³ de sangue nos indivíduos controle. Estatisticamente, comparando os dois grupos infectados determina-se diferenças significantes (P=0,07) com valores aumentados em pacientes HIV/AIDS, possivelmente, pela maior carga viral comparada aos progressores lentos, que se comportaram semelhante ao grupo de indivíduos hígidos.

As células *naturais killers* (CD16/CD56) não apresentaram grandes variações entre os grupos estudados. Os pacientes HIV/AIDS apresentaram 13,65%. Já nos pacientes progressores lentos, 14,27% e de 11,8 % do grupo controle. A baixa variação entre os grupos foi refletida também de forma estatística, não obtendo, portanto, relevância em suas análises (P<0,05).

Dentre as células desta resposta, a que apresentou maior variação no grupo progressor lento, foram os monócitos (CD14/CD16). Nestes pacientes, tais células apresentaram 69,7%. No grupo HIV/AIDS, estes valores caem para 16% e no grupo controle para 18,5% de sangue. A grande diferença encontrada no grupo progressor lento, foi confirmada, estatisticamente tendo sua relevância atingindo valores de P<0,05.

A distribuição destes perfis entre os grupos encontram-se evidenciados na Figura 3 abaixo:

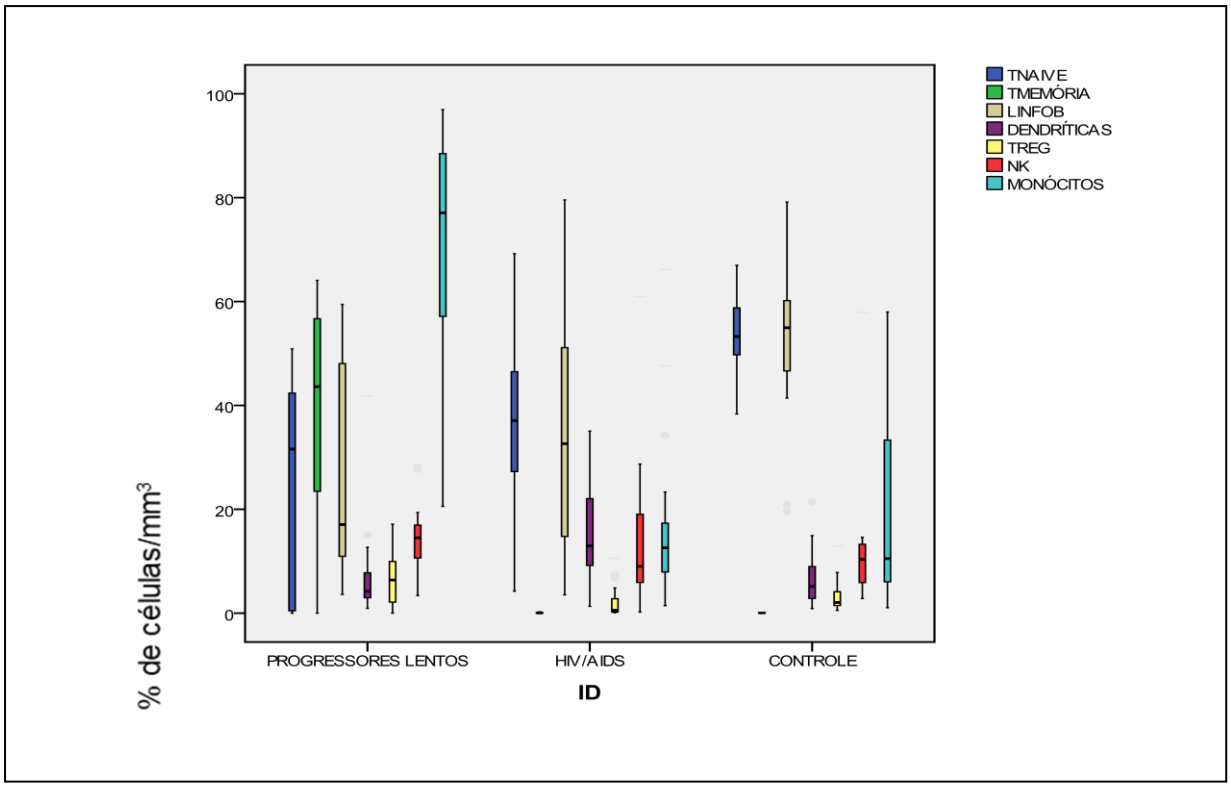

Figura 03 CÉLULAS DA RESPOSTA IMUNE INATA ENTRE OS GRUPOS: PROGRESSORES LENTOS, HIV/AIDS E CONTROLE. Gráfico de box-plot contendo as medianas (em % de células/mm^3) encontradas para as células: T naive; T de memória, Linfócitos B, T regulatórias, Natural killer (NK), dendríticas e monócitos entre os grupos: Progressores Lentos ; HIV/AIDS e controle.

5.3.4 Avaliação de células da resposta imune por faixa etária

No presente trabalho, foi avaliado, ainda, se a faixa etária poderia influenciar na qualidade ou quantidade da resposta imune entre os grupos infectados estudados. Para tal, foram selecionados pacientes com idades inferiores e superiores há 35 anos. Porém, dentre as células de interesse, apesar de apresentarem diferenças entre os dois grupos selecionados, entre as células, tais diferenças foram estatisticamente significante. Um dos fatores

desta falta de relevância pode ser explicado pelo número de indivíduos envolvidos no estudo. A tabela 1 abaixo apresenta os dados celulares destas análises:

TABELA 1 - AVALIAÇÃO DE CÉLULAS DA RESPOSTA IMUNE POR FAIXA ETÁRIA.

Tipo celular	Faixa etária	N	Resultados (%)
Linfócitos T CD4+	**> 35 anos** **< 35 anos**	**10** **25**	**15,6** **20,6**
Linfócitos T CD8+	**> 35 anos** **< 35 anos**	**10** **25**	**23,7** **19,4**
Linfócitos Naive	**> 35 anos** **< 35 anos**	**10** **25**	**35,6** **27,7**
Linfócitos Memória	**> 35 anos** **< 35 anos**	**10** **25**	**14,0** **21,7**
Linfócitos B	**> 35 anos** **< 35 anos**	**10** **25**	**29,4** **26,5**
Células Dendríticas	**> 35 anos** **< 35 anos**	**10** **25**	**12,6** **10,2**
Células T regulatórias	**> 35 anos** **< 35 anos**	**10** **25**	**2,9** **4,1**
Células Natural Killers	**> 35 anos** **< 35 anos**	**10** **25**	**12,5** **15,4**
Monócitos	**> 35 anos** **< 35 anos**	**10** **25**	**36,0** **39,7**

5.4 DISCUSSÃO

Respostas imunológicas naturais são de fato observadas em um subconjunto de indivíduos infectados pelo HIV, que controlam espontaneamente a infecção pelo vírus, sem terapia anti-retroviral (TARV), durante vários anos; apresentando sinais moderados de progressão da doença. Esses pacientes representam o grupo de progressores lentos (SMITH, TANNER & DALGLEISH, 2014; EL-FAR *et al.,*2014).

Neste presente estudo observou-se que nos indivíduos progressores lentos as células T $CD4^+$ e T $CD8^+$ possuem valores estatisticamente

significativos em comparação com os indivíduos HIV/AIDS, estes resultados estão em concordância com os achados de Zaunders & Bockel (2013).

Goulder & Watkins (2004), reportaram evidências de que nos pacientes progressores lentos, a infecção pelo HIV-1 apresenta baixa carga viral devido a maior proporção de células $TCD4^+$, o que pode ajudar a explicar o controle viral.

Corroborando com o estudo de Deeks & Walker (2007) assim como os achados de Mandalia *et al.,* (2012) reforçou-se que os pacientes progressores lentos possuem uma resposta imune diferenciada com maior frequência de linfócitos T $CD4^+$.

Outra hipótese proposta é que nestes indivíduos há outros fatores imunológicos, como a pressão exercida pelas células T $CD8^+$ sobre sequências virais vitais para a replicação, o que consequentemente elevou a mutações destas sequências, aparentemente colaborando para a redução da aptidão viral (GOULDER & WATKINS, 2004; ZAUNDERS & BOCKEL, 2013).

Neste trabalho, observou-se também uma associação inversa significativa entre a ativação das células T e as frequências das células T de memória ($CD45RO^+$). Todavia, Meijerink *et al*., (2014) demonstraram que em pacientes progressores lentos que apresentaram controle de carga viral, a expressão de CCR5 é menor nos linfócitos T $CD45RO^+$ sugerindo que os pacientes sem a progressão da doença preservaram a população de células T de memória central associada a menor ativação imune. Vale salientar, que as informações ainda são limitadas sobre a influência da ativação imune sobre as respostas da memória.

Porém, a expressão do co-receptor CCR5 é menor nas células naïve ($CD45RA^+$), contendo apenas a expressão de co-receptores em um grupo de pacientes específicos infectados pelo HIV, que são caracterizados como controladores de elite e progressores lentos. Uma vez que a expressão de CCR5 regula se o HIV pode infectar células alvo (BLAAK *et al.,* 2000) sugere-se que a redução da expressão do CCR5, pode contribuir para os baixos níveis de infecção nos pacientes progressores lentos.

A imunidade humoral do hospedeiro envolvida na luta contra a infecção pelo HIV é diferente durante a progressão, desde o primeiro contato do vírus até a infecção aberta incluindo a evolução do curso agudo para o curso crônico. Os anticorpos são os principais atores e participam de diferentes aspectos da interação hospedeiro-vírus, especialmente aqueles dirigidos às subunidades de glicoproteína do envelope HIV-1, respectivamente gp120 e gp41 que interferem nos eventos iniciais de entrada (BROMBIN *et al.,*2013).

No presente estudo, os resultados sugerem o aumento da produção de resposta humoral em indivíduos não progressores. Este estudo demonstrou alta variabilidade natural da sequência de envelope do HIV-1 e desta forma, a geração de anticorpos neutralizantes de alto teor foi comprovada como difícil. Geralmente, o alto teor de anticorpos neutralizantes de soro tem sido considerado um correlato da proteção do HIV, embora, eles apareçam somente após meses ou anos de infecção, após possíveis estimulações de antígenos sustentadas por alta carga de vírus (BAUM, 2010).

Além dos anticorpos podem-se citar as células Tregs que são um subconjunto de células T que desempenham um papel importante na regulação da função das células T. Em um trabalho anterior, o CD25 foi usado como marcador de Tregs, no entanto, Foxp3 foi descoberto recentemente como um valioso fenótipo de células Tregs. Nosso trabalho apresentou um resultado inverso, ao trabalho de LI *et al.,* (2011) que demonstrou aumento da expressão Treg no indivíduos HIV/AIDS porém, sem significância estatística entre os grupos progressores lentos e controle, ao passo que encontramos aumento da expressão das células Tregs nos indivíduos progressores lentos, sugerindo que estas células podem desempenhar um papel na progressão da doença.

Assim como, no estudo de SAKAGUCHI (2003) e no estudo de Borges *et al*., (2010) mostrou que não houve significância estatísticas entre os grupos estudados, porém ressalta que as Treg podem desempenhar um papel na imunopatogênese da infecção persistente pelo HIV.

Com relação às DCs são consideradas como células apresentadoras de antígenos que induzem respostas imunes inatas e adaptativas. As

DCs expressam o TCD4$^+$ do receptor do HIV e são células- alvo potencial para o vírus. O passo de fusão do ciclo de replicação viral é ineficiente em DCs e os mecanismos subjacentes são mal caracterizados. Este trabalho mostrou que níveis crescentes de T CD4$^+$ na membrana plasmática permitem mais fusão do HIV e infecção produtiva em DCs. Desta forma corrobora com nossos resultados que mostram aumento destas células em indivíduos HIV AIDS, associado à fusão do HIV, que o autor afirma que ocorre principalmente na superfície celular e não num compartimento intracelular, ratificando a relação das células TCD4$^+$ com as proteínas virais (CHAUVEAU *et al.,* 2017).

Já as células NK representam aproximadamente 5-15% das células circulantes talvez um dos primeiros mecanismos de defesa na infecção do HIV-1 antes do desenvolvimento de respostas imunes adaptativas (ZAUNDERS e BOCKEL, 2013) desta forma mostraram-se em níveis semelhantes entre os dois grupos. Foi relatado também por Jiang *et al*., (2013) que as células NK são efetoras importantes do sistema imunológico inato atuando efetivamente no controle das infecções virais e processo de tumorigênese. Desta forma, sugere-se que as funções das células NK podem contribuir para o controle da infecção pelo HIV, além disso, o estudo sugere também que esta célula pode estar associada à progressão tardia da doença.

Embora as células T CD4$^+$ e os macrófagos de tecidos sejam bem definidos como os principais alvos para a infecção e replicação por HIV-1, os monócitos primários foram recentemente determinados como um reservatório adicional e importante do HIV-1 *in vivo* (CROWE *et al.,* 2003).

Nosso estudo mostrou aumento na produção dos monócitos nos progressores lentos, e com resultados relativamente baixos na produção destas células nos pacientes HIV/AIDS e/ou com os indivíduos controle. Corroborando com Sun *et al.,* (2012) houve uma correlação positiva entre aumento da frequência de monócitos (CD163$^+$ CD16$^+$) em sangue periférico e a carga viral, indicando um papel potencial destes monócitos na progressão da doença. O que indicaria correlação com os pacientes HIV/AIDS. Todavia, o estudo também ressalta a o aumento de monócitos estaria relacionado com a produção de citocinas que promoveria um mecanismo efetor inato destas

células contra agentes infecciosos, justificando assim aumento na produção de monócitos nos indivíduos progressores lentos.

5.5 CONCLUSÃO

Nos pacientes progressores lentos para o HIV, de acordo com os dados encontrados no presente trabalho, a resposta imunológica de perfis inatos e adaptativos, apresenta-se aumentada, em número de células, comparando aos pacientes com evolução replicativa do vírus. Esses achados podem contribuir para a elucidação da redução e controle da carga viral do HIV destes pacientes, em comparação aos que desenvolvem a infecção da AIDS.

5.6 AGRADECIMENTOS

Apoio Financeiro:

Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq
Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado da Bahia – FAPESB

5.7 CONFLITOS DE INTERESSE

Os autores declararam aqui que não houve nenhum conflito de interesse na realização do presente estudo.

5.8 REFERÊNCIAS

Abbas, A; Litchtmann, A; Pillai, S; **Imunologia Celular e Molecular**, 5ª Edição, Elsevier, São Paulo – SP, 2005.

BAUM, Linda L. *Role of humoral immunity in host defense against HIV.* ***Current HIV/AIDS Reports*****,** v. 7, n. 1, p. 11-18, 2010.

BLAAK, Hetty et al. In vivo HIV-1 infection of CD45RA+ CD4+ T cells is established primarily by syncytium-inducing variants and correlates with the rate of CD4+ T cell decline. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 97, n. 3, p. 1269-1274, 2000.

BROMBIN, Chiara et al. *A nonparametric procedure for defining a new humoral immunologic profile in a pilot study on HIV infected patients.* ***PloS one****,* v. 8, n. 3, p. e58768, 2013.

CASADO, Concepción et al*. Host and viral genetic correlates of clinical definitions of HIV-1 disease progression.* ***PloS one***, v. 5, n. 6, p. e11079, 2010.

CHAUVEAU, Lise et al. *HIV fusion in Dendritic cells mainly occurs at the surface and is limited by low CD4 levels.* ***Journal of Virology***, p. JVI. 01248-17, 2017.

CROWE, Suzanne; ZHU, Tuofu; MULLER, William A. *The contribution of monocyte infection and trafficking to viral persistence, and maintenance of the viral reservoir in HIV infection.* ***Journal of leukocyte biology****,* v. 74, n. 5, p. 635-641, 2003.

DEEKS, Steven G.; WALKER, Bruce D. *Human immunodeficiency virus controllers: mechanisms of durable virus control in the absence of antiretroviral therapy.* ***Immunity****,* v. 27, n. 3, p. 406-416, 2007.

EL-FAR, Mohamed et al. *CD160 isoforms and regulation of CD4 and CD8 T-cell responses.* ***Journal of translational medicine***, v. 12, n. 1, p. 217, 2014.

GOULDER, Philip JR; WATKINS, David I. *HIV and SIV CTL escape: implications for vaccine design.* ***Nature reviews. Immunology***, v. 4, n. 8, p. 630, 2004.

JIANG, Yongjun et al. *Higher NK cell IFN-γ production is associated with delayed HIV disease progression in LTNPs.* ***Journal of clinical immunology***, v. 33, n. 8, p. 1376-1385, 2013

KUMAR, Praveen. *Long term non-progressor (LTNP) HIV infection.* ***The Indian journal of medical research***, v. 138, n. 3, p. 291, 2013.

LI, Lin et al. *Analysis of CD4+ CD25+ Foxp3+ regulatory T cells in HIV-exposed seronegative persons and HIV-infected persons with different disease progressions.* ***Viral immunology,*** v. 24, n. 1, p. 57-60, 2011.

MANDALIA, Sundhiya et al. *Are long-term non-progressors very slow progressors? Insights from the Chelsea and Westminster HIV cohort, 1988–2010.* ***PLoS One***, v. 7, n. 2, p. e29844, 2012.

MCMICHAEL, Andrew J. et al. *The immune response during acute HIV-1 infection: clues for vaccine development.* ***Nature reviews. Immunology***, v. 10, n. 1, p. 11, 2010.

NASI, Milena et al. *Novel genétic association of TNF-α-238 and PDCD1-7209 polymorphisms with long-term non-progressive HIV-1 infection.* ***International Journal of Infectious Diseases***, v. 17, n. 10, p. e845-e850, 2013.

OKULICZ, Jason F. et al. *Clinical out comes of elite controllers, viremic controllers, and long-termnonprogressors in the US Department of Defense HIV natural history study.****The Journal of infectious diseases***, v. 200, n. 11, p. 1714-1723, 2009.

RICHMAN, Douglas D. et al. *Rapid evolution of the neutralizing antibody response to HIV type 1 infection.* ***Proceedings of the National Academy of Sciences***, v. 100, n. 7, p. 4144-4149, 2003.

SAKAGUCHI, Shimon. *Regulatory T cells: mediating compromises between host and parasite.* ***Nature immunology***, v. 4, n. 1, p. 10-11, 2003.

SMITH, Peter Lawrence; TANNER, Helen; DALGLEISH, Angus. *Developments in HIV-1 immunotherapy and therapeutic vaccination.* ***F1000 prime reports***, v. 6, 2014.

SUN, C. et al. *The characteristics of Th1/Th2 cytokine receptors on monocytes in untreated patients of long term nonprogressor or chronic HIV infection.* ***Current molecular medicine***, v. 12, n. 8, p. 1028-1039, 2012.

World Health Organization.Natural history of HIV infection.Disponível em: http://www.searo.who.int/LinkFiles/HIVaids_in_Asia_and_the_Pacific_Region_2003_anx1.pdf. Acessado em: 01/06/2017

ZAUNDERS, John; VAN BOCKEL, David. *Innate and adaptive immunity in long-term non-progression in HIV disease.* ***Frontiers in immunology***, v. 4, 2013.

ARTIGO 2

6. CAPITULO 2 : ARTIGO CIENTÍFICO 2: AVALIAÇÃO DO PERFIL DE CITOCINAS EM PACIENTES HIV-1 PROGRESSORES LENTOS E NÃO PROGRESSORES

Barreto ASR[1]; Maia CO[1]; Santana ASH [2] ; Costa MN [2] ; SANTOS SQ [3]; Bomfim EKS[3] ; Torres A [1]

1.Universidade Federal da Bahia, 2.LAPI 3. LABIMUNO

RESUMO

INTRODUÇÃO: A imunidade inata serve como a primeira linha de defesa contra microrganismos, e também é responsável pela iniciação de respostas inflamatórias através da liberação de uma variedade de citocinas, quimiocinas e fatores antimicrobianos. Os monócitos, os macrófagos e os precursores de células dendríticas, estão envolvidos na resposta imune inata através da produção de algumas citocinas, tais como IFNs, IL-12, IL-6 e TNF-α. Estas possuem um papel mais influente na patogênese do HIV-1, como por exemplo, o de aumentar ou inibir a replicação viral. **OBJETIVO:** Comparar padrão de citocinas produzidos por pacientes HIV-1 progressores lentos e não progressores, associando à produção de células da resposta imune. **MATERIAIS E MÉTODOS:** Foram analisadas amostras de 62 indivíduos, na qual 20 pertenciam ao grupo de progressores lentos, 22 com perfil laboratorial de progressão para AIDS e 20indivíduos hígidos. Foram avaliadas amostras de plasma destes pacientes para dosagem das citocinas IL-2, IL-6, IL-10, TNF, IL-1α, IFN-γ através do método de CBA por citometria de fluxo. Ainda, pela mesma técnica foram realizadas contagens de populações de células da resposta imune envolvidas na resposta a vírus. **RESULTADOS:** Pacientes progressores lentos apresentaram perfil das citocinas IL-2, IL-6, IL-10 e TNF e das células T CD4+, T CD8+, células dendríticas e células NK compatível com indivíduos do grupo controle. **CONCLUSÃO:** Indivíduos progressores lentos apresentaram perfis de citocinas e parte das células da resposta imune equivalentes a indivíduos não infectados e para os pacientes não progressores, a resposta de células e citocinas foram compatíveis com desenvolvimento de imunodeficiência.

PALAVRAS CHAVE: PROGRESSORES LENTOS, CITOCINAS, IMUNIDADE INATA.

COMPARISON OF INNATE IMMUNITY CELLS AND CYTOKINES PROFILE IN HIV-1 PATIENTS WITH AND WITHOUT SLOW PROGRESSION

Barreto ASR[1]; Maia CO[1]; Santana ASH [2] ; Costa MN [2] ; SANTOS SQ [3]; Bomfim EKS[3] ; Torres A [1]

1.Universidade Federal da Bahia, 2.LAPI 3. LABIMUNO

ABSTRACT

INTRODUCTION: Innate immunity serves as the first line of defense against microorganisms, and is also responsible for the initiation of inflammatory responses through the release of a variety of cytokines, chemokines, and antimicrobial factors. monocytes, macrophages, and cell precursors dendritic cells, are involved in the innate immune response through the production of some cytokines, such as IFNs, IL-12, IL-6 and TNF-α. These have a more influential role in the pathogenesis of HIV-1, for example, to increase or inhibit viral replication. **OBJECTIVE:** To associate the quantitative influence of innate immune cells on cytokine production, as well as to compare the profile of these cytokines in HIV-1 positive and non-progressing patients. **MATERIALS AND METHODS:** 62 samples were analyzed, in which 20 were LNTP HIV patients, 22 HIV/AIDS group and 20 healthy individuals. Plasma samples were evaluated these patients for dosage of the cytokines IL-2, IL-6, IL-10, TNF, IL-1 α, IFN-γ through the CBA method for flow cytometry. Yet, by the same technique were made counts of immune response cell populations involved in response to viruses. **RESULTS:** Long term non progressors (LTNP) patients presented profile of cytokines IL-2, IL-6, IL-10 and TNF and CD4 + T cells, CD8 + T, dendritic cells and NK cells compatible with control group subjects. **CONCLUSION:** LTNP presented profiles of cytokines and part of the immune response cells equivalent to uninfected individuals and in comparison to HIV/AIDS patients, the profile of the response of cells and cytokines was compatible with development to immunodeficiency.

KEY WORDS: SLOW PROGRESSORS, CYTOKINES, INNATE IMMUNITY.

6.1 INTRODUÇÃO

No processo inicial de infecção viral a resposta imunológica inata é ativada, expressando e produzindo uma série de células e citocinas, que são responsáveis por mediar este tipo de resposta imune, na qual atua executando papel essencial no sistema de defesa antiviral (GUHA & AYYAVO, 2013).

Os componentes da imunidade inata são ativados precocemente logo após a infecção viral e os principais atuantes são as células dendríticas (DCs), o interferon do tipo I (IFN-I), células *natural killer* (NK), no entanto, uma série de células e moléculas participam no processo de defesa contra vírus (KREUTZ, 2007).

As citocinas possuem um papel influente na patogênese do HIV-1, pois podem aumentar ou inibir a replicação viral. Durante a ativação de células imunitárias ocorre um aumento da produção de citocinas a exemplo de:IL-2,IL-6,IL-10 e TNF (GUHA & AYYAVOO, 2013).

Entretanto, o vírus da imunodeficiência humana (HIV-1) possui elevada complexidade no processo de infecção na célula hospedeira, e isso se deve a uma série de influências, que podem ser geradas devido a alta variabilidade do vírus (por ser um vírus de RNA) e/ou pela variabilidade singular de cada pessoa (variabilidade genética) (NASI, 2013) .

Cerca de 2 a 5% das pessoas infectadas pelo HIV-1 são definições como *long-term non progressors* (LTNP), este grupo de pacientes são caracterizados por permanecer assintomáticos na ausência de terapia, por um período de 7 - 20 anos de infecção e com contagem de linfócitos CD4 acima de 500 células/ml e viremia detectável abaixo de 5.000 cópias de RNA/ml (OKULICZ, 2009; NASI, 2013**)**.

Esse fenômeno é sugerido pelas interações vírus-hospedeiro, assim como pode ser influenciado por características genéticas de cada indivíduo (OKULICZ, 2009). Assim, apresentando capacidade elevada no processo de resposta inata ao controle da infecção pelo HIV resultando em uma evolução lenta destes pacientes, a síndrome de imunodeficiência adquirida (AIDS).

Não obstante, os mecanismos pelos quais a imunidade inata na população de HIV-LTNP, tem uma resposta diferenciada, ainda não foram totalmente elucidados, havendo poucos relatos na literatura sobre este tema.

No presente estudo foi realizada a associação da influência quantitativa das células da resposta imune inata na produção de citocinas e bem como, comparação do perfil destas citocinas em pacientes HIV-1 positivos com e sem progressão lenta investigados os mecanismos de defesa da resposta imune inata em pacientes LTNP.

6.2 MATERIAIS E MÉTODOS

6.*2.1 População em estudo*

A população deste estudo foi composta de 62 participantes de ambos os sexos. Os participantes da pesquisa foram atendidos no Laboratório de Pesquisa em Infectologia do Complexo Hospitalar Universitário Professor Edgard Santos (LAPI/c-HUPES) da Universidade Federal da Bahia. A triagem foi realizada a partir do histórico de quantificação de carga viral e de linfócitos T $CD4^+$ disponível pelo software SISCEL do Ministério da Saúde.

Estes indivíduos foram categorizados de acordo com o perfil laboratorial, na qual foi organizado em três grupos: grupo de pacientes progressores lentos (LTNP, do inglês *long-term non progressors*) (n=20), grupo HIV/AIDS (n= 22) e grupo indivíduos hígidos (n =20). O Projeto foi submetido e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Maternidade Climério de Oliveira e regularmente registrado na Plataforma Brasil CAAE - 59125616.7.0000.5543 encaminhado e aprovado com número de parecer 1.806.698. Todos os pacientes foram orientados sobre a finalidade do projeto, de acordo com a legislação atual em vigor, resolução 466/2012 do Ministério da Saúde.

As informações dos demais fatores clínicos como, e histórico de tratamento anti-retroviral foram obtidos na entrevista. E o histórico de outras doenças foi obtido do prontuário do paciente. O grupo de indivíduos hígidos foi composto de 20 voluntários saudáveis de ambos os sexos da população local. E foram incluídos também após convite e entrevista.

Todos os participantes da pesquisa deveriam entrar nos seguintes critérios de não inclusão: não apresentando nenhum sintoma clínico de infecção e com sorologia negativa para HTLV, doença de Chagas, Hepatite B e C, e nem portadores de doença auto-imune.

Todos os participantes foram previamente informados sobre o projeto, e os objetivos da pesquisa, tiveram suas participações confirmadas através da assinatura do TCLE, aprovado pelo comitê de ética da Maternidade Climério de Oliveira da Universidade Federal da Bahia.

6.2.2 Análise das citocinas em citometria de fluxo

A detecção das citocinas foi realizada pelo método CBA (BD) (do inglês, *Cytometric Beads Array),* na qual foram quantificadas para cada amostra, as citocinas IL-2, IL-6, IL-10, INFγ, TNF e IL-1a, utilizando protocolo padrão disponível pelo fabricante. Em cada tubo correspondente a um participante foram adicionados 50 uL contendo o mix de *beads* do teste CBA, 50 ul de amostra de plasma e 50 uL do anticorpo de detecção conjugado com o fluorocromo PE (reagente de detecção).

Os tubos foram homogeneizados e incubados por três horas, em temperatura ambiente, no escuro. Em seguida foram lavados com tampão de lavagem e centrifugados a 5 minutos.

Após finalizado, descartou-se o sobrenadante e foi adicionado 300 ul de tampão de lavagem para ressuspender o mix de *beads*. Os resultados foram gerados em gráficos e tabelas utilizando o no citômetro de fluxo *FACS Calibur e software FCAP* (ambos BD).

Os gráficos a seguir demonstram a estratégia de aquisição do teste CBA pela citometria de fluxo

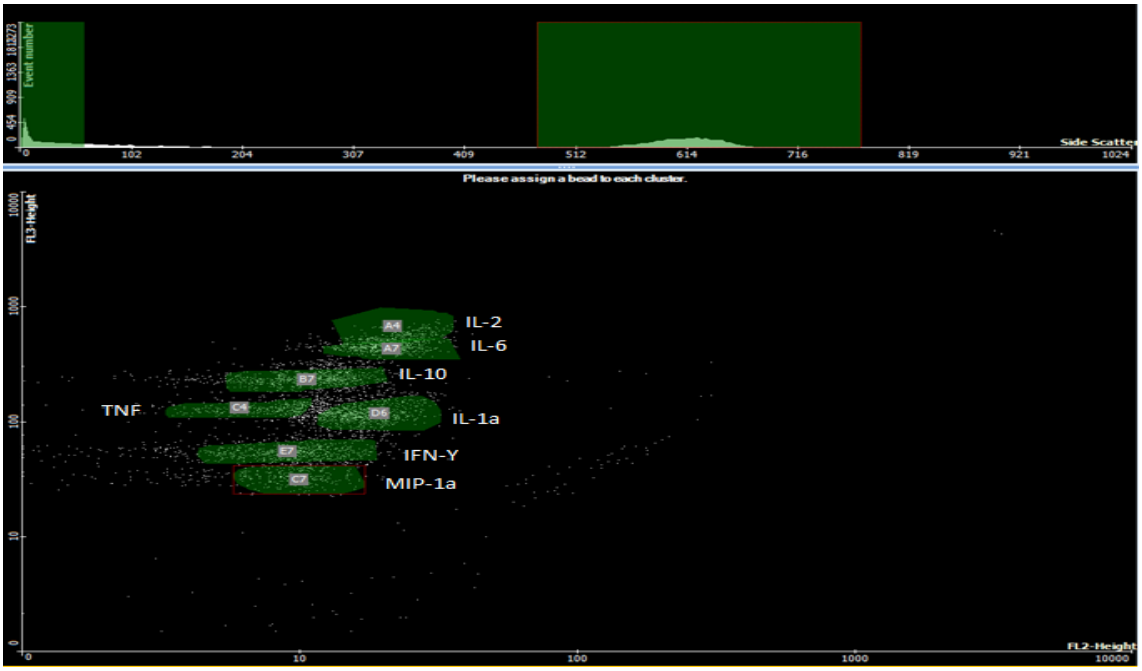

Figura 01 - PERFIL DE MARCAÇÃO DOS TESTES CBA POR CITOMETRIA DE FLUXO. Legenda: A amostra da figura acima, representa a quantificação das citocinas IL-2, IL-6, IL-10, INFγ, TNF e IL-1a, de um indivíduo saudável do grupo controle, tendo seus parâmetros como referência para as análises nos demais grupos.

6.2.3 Análise estatística

Foi realizado um estudo transversal, quantitativo e descritivo, onde os resultados do questionário clínico-epidemiológico e experimental foram analisados estatisticamente pelo software SPSS v.22.0.

Dados não paramétricos foram analisados pelo teste de Wilcoxon. O testes de Mann-Whitney foi utilizado para comparar diferenças entre os grupos de indivíduos estudados. O coeficiente de correlação de Spearman foi utilizado para determinar a correlação entre duas variáveis. A significância estatística foi definida como $P \leq 0,05$.

6.3 RESULTADOS

6.3.1 Características demográficas dos grupos

Os indivíduos HIV foram selecionados do banco de dados do Serviço de infectologia do Hospital Universitário Edgar Santos. Os pacientes *long-term non progressors* (LTNP) foi composto por 20 indivíduos, apresentaram idade média entre 24 e 64 anos sendo selecionados 43% do sexo masculino mediante os três últimos resultados de carga viral, e para caracterização deste grupo, foram selecionados menos 6 meses de intervalo para cada coleta, observando-se neste grupo, abaixo de 1000 cópias/ml de sangue; entre estes CD4 acima de 500 células/mm³ e a relação dos linfócitos CD4/CD8 acima de 1.

O grupo HIV/AIDS, os pacientes apresentaram com idade média entre de 27 e 68 anos, e onde destes eram de 70% do sexo masculino, a caracterização destes pacientes no grupo requereu que nos três últimos exames de carga viral a contagem de subpopulações de Linfócitos T, apresentou valores acima de 5000 cópias por ml; e para o segundo valores de subpopulações de linfócitos T CD4 abaixo de 200 células/mm³, tendo relação CD4/CD8 abaixo de 0,30.

O grupo controle foi formado de 20 voluntários saudáveis de ambos os sexos da população local. Estes indivíduos foram incluídos após convite e entrevista. Para este grupo foi utilizado o critério de exclusão, indivíduos que não apresentaram nenhum sintoma clínico de infecção, e com sorologia negativa para HTLV, doença de Chagas, Hepatite B e C, e nem portadores de doença autoimune.

6.3.2 Perfil de citocinas entre os grupos de pacientes

Interleucina-2 (IL-2)

A IL-2 tem um papel fundamental na diferenciação de linfócitos B e células T, sendo ainda, importante para a regulação de atividades imunes destas células. É bem determinado que esta citocina esteja envolvida na resposta natural do organismo a infecções microbianas, e alguns outros fatores externos.

Pacientes HIV-1 infectados, apresentaram níveis aumentados, não estatisticamente significante (P=0,22) desta citocina em comparação aos indivíduos do grupo controle. Em pacientes progressores lentos e não progressores, os valores encontrados foram, respectivamente, de 6,61pg/mL e 6,05 pg/mL, enquanto que nos indivíduos hígidos, foram encontrados valores na ordem de 4,13 pg/mL.

Este resultado corrobora com o perfil celular apresentado previamente no artigo anterior, onde o desenvolvimento de respostas imunes ativadas pelos grupos infectados deve contribuir, ainda que não estatisticamente significante, para o aumento apresentado em comparação ao grupo de indivíduos saudáveis.

Interleucina-6 (IL-6)

A IL-6 pode atuar tanto na função pró-inflamatória quanto anti-inflamatória. Normalmente, é produzida e secretada por monócitos e linfócitos T durante o processo infeccioso tendo um fundamental papel no desenvolvimento da febre. Ainda, são importantes na diferenciação dos linfócitos B.

Devido ao atuante papel inflamatório, assim como indução de resposta imune humoral, os pacientes HIV-1 infectados progressores, portanto, em desenvolvimento de AIDS, apresentaram valores de IL-6 em 5,21pg/mL, enquanto que os pacientes progressores lentos obtiveram valores na ordem de 2,98pg/mL e os indivíduos saudáveis de 3,10 pg/mL. Tais resultados não apresentaram diferenças estatisticamente relevantes entre os progressores em comparação aos indivíduos não progressores (P=0,44) nem aos do grupo controle (P=0,85).

Interleucina-10 (IL-10)

Tendo seu papel regulador conhecido na inibição de células T e *Natural Killers*, a IL-10 pode ainda participar do processo de diferenciação de linfócitos B e de alguns granulócitos.

Pacientes progressores lentos e indivíduos do grupo controle, por não apresentarem ativação imune, são de entendimento que também não haja necessidade de inibição e para o grupo de pacientes não progressores lentos, essa diminuição pode dar-se por redução do número de monócitos, visto que nestes pacientes, os monócitos apresentam-se enormemente reduzidos (16%) em comparação ao grupo controle (69,7%).

O grupo controle obteve IL-10 expressa em valores de 0,97pg/mL. Nos pacientes infectados, estes dados foram de 1,02 pg/mL para progressores lentos e 1,05 pg/mL para o grupo HIV/AIDS. Em nenhum dos casos, os valores foram de relevância significantemente estatística (P=0,19, entre progressores e grupo controle e P=0,11 entre progressores e grupo HIV/AIDS).

Fator de Necrose Tumoral (TNF)

Envolvida no processo apoptótico de células tumorais e com um grande participação na resposta pró-inflamatória, o TNF é uma citocina secretada, principalmente, por monócitos e macrófagos e baixa produção está associada a desenvolvimento inflamatório em doenças auto-imunes e possíveis surgimento de tumores.

Os valores de TNF também se apresentaram reduzidos para todos os grupos avaliados. Entre os pacientes infectados, os progressores lentos obtiveram valores de 0,56pg/mL enquanto que os do grupo HIV/AIDS foram de 0,61pg/mL. Em indivíduos do grupo controle, estes números caem levemente para 0,42 pg/mL. Tais valores reduzidos podem ser decorrentes, por exemplo, da ausência de lipopolissacarídeos (LPS), já que estes voluntários da pesquisa eram pessoas que não apresentavam co-infecções bacterianas. No entanto, era esperado que os grupos de pacientes infectados pelo HIV apresentassem níveis um pouco maior de TNF quando confrontado com o grupo controle, e este resultado foi observado, pois nestes grupos (progressores lentos e HIV/AIDS) houve tendência de maiores níveis de expressão de TNF.

Apesar da diminuição dos resultados encontrados para essa citocina, a associação desta entre os grupos de pacientes infectados, apresentou relevância estatística com valor de P=0,03.

Interleucina 1-alfa (IL-1α)

IL-1 alfa é uma citocina envolvida na resposta inflamatória, bem como no desenvolvimento de febre e quadro séptico. Produzidas, principalmente, por macrófagos, monócitos e neutrófilos do sangue, receptores celulares de IL1-α ativam ainda, regulação hematopoiética na resposta imune.

Em progressores lentos os níveis de IL-1a foram superiores aos outros grupos apresentando valores médios de 5,18 pg/mL. Este resultado pode estar associado aos altos níveis de expressão de monócitos (69,72% células/mm³) encontrados nestes pacientes. Ainda sobre a IL-1a, foram encontrados valores médios de 4,28 pg/mL no grupo HIV/AIDS sugerindo que esta citocina pode estar associada indução resposta imune crônica. Entre os dois grupos de pacientes infectados, houve relevância estatística com valor de P=0,03. Para o grupo controle esta citocina apresentou valores médios de 4,48 pg/mL.

Interferon Gamma (IFN-γ)

Estimuladas por IL-12 e IL-18, IFN-γ é, normalmente, produzidas por linfócitos T e células NK, sendo responsáveis pela ativação de macrófagos, estimulação de MHC, crescimento e diferenciação de células, aumento da ativação de células NK e modulação da atividade dos linfócitos B.

Pacientes do grupo HIV/AIDS apresentaram valores médios de 7,33 pg/mL, enquanto que os do grupo progressores lentos, tais valores foram de 8,15 pg/mL. Torna-se importante lembrar que esta citocina é encontrada no plasma dos pacientes HIV na fase inicial da infecção e que após esta fase, ocorre uma redução de IFN-γ nestes indivíduos, devido a diversas formas e mecanismos na qual esta citocina está envolvida. O grupo formado por indivíduos hígidos apresentou valores médios de 7,88 pg/mL. Os valores encontrados nos progressores lentos, pode ainda ser explicado pelo reflexo de maiores contagens na expressão de células apresentadoras (monócitos 69,72% e dendríticas 7,22%), linfócitos T CD4+ (39,03%) e Natural Killer (14,27%) em comparação ao grupo HIV/AIDS. As diferenças entre os grupos de pacientes infectados pelo HIV-1, não foram estatisticamente significantemente (p=0,66)

Os gráficos a seguir, ilustram a média de distribuição das citocinas encontradas entre os três grupos estudados:

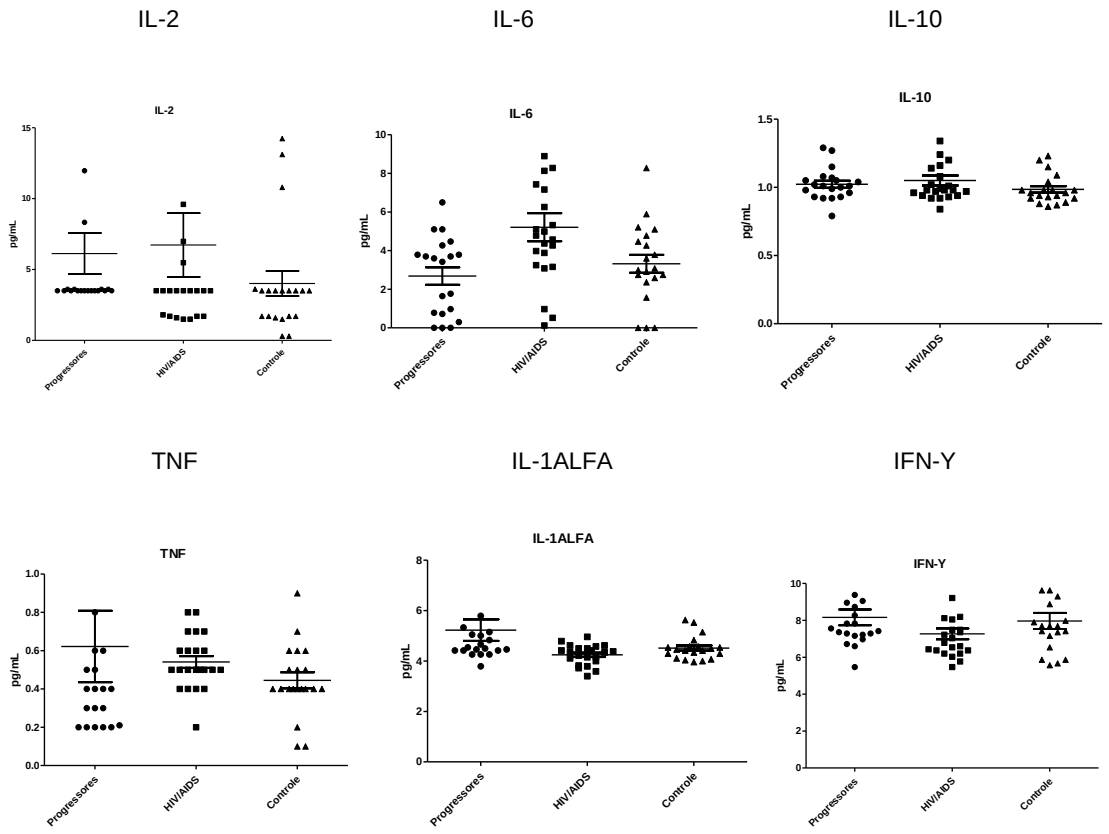

Figura 02 DISTRIBUIÇÕES DAS CITOCINAS ENTRE OS GRUPOS: PROGRESSORES LENTOS, HIV/AIDS E CONTROLE. Para cada gráfico em formato de *dot plot*. O eixo Y representa o valor de um citocina em pg/mL (dosada pela técnica de CBA) e o eixo X representa os grupos avaliados nas seguintes sequências progressores lentos, HIV/AIDS e controle.

Deste modo, indica-se que em pacientes progressores, pode ocorrer uma indução do estado de resistência antiviral em células teciduais não infectadas, sendo de suma importância na resposta imune inata. Assim como, a produção IFN-γ parece ser fundamental para a ativação da resposta citotóxica e das células *Natural Killer*, tal contexto tem se observado no estado clinico destes pacientes.

6.4 DISCUSSÃO

Alguns indivíduos infectados pelo HIV parecem manter contagens de linfócitos TCD4 estáveis, apesar da alta replicação viral. Considerando que o nível de RNA do HIV no plasma explica apenas uma pequena parte da variabilidade de linfócitos TCD4 em declínio, as diferenças nas respostas imunes mediadas pelo hospedeiro ao antígeno viral, podem ser um fator importante na determinação do ritmo de progressão da doença (GOICOECHEA *et al*, 2009).

As respostas sistêmicas das citocinas podem diferenciar estes indivíduos com replicação viral descontrolada ou daqueles que requerem tratamento com antirretrovirais (ARV) para suprimir a replicação viral (JACOBS *et al,* 2017).

A interleucina-2 (IL-2) é uma citocina produzida e secretada por células T ativadas, que estimula células T, células B e células natural killer a proliferar e liberar citocinas. Além disso, IL-2 retarda a apoptose de células infectadas pelo HIV. Estudos clínicos demonstraram que a IL-2 recombinante humana exógena pode ser administrada com segurança, com uma potente terapia anti-retroviral para pacientes infectados pelo HIV. Mitsuyasu *et al*., 2001 demonstraram que a terapia recombinante com IL-2 humana produz aumentos relevantes no número de células CD4 + e funcionam em pacientes com doença de HIV precoce e tardia .

O trabalho de Sarah L. Pett Anthony D. Kelleher Sean Emery, 2010, corrobora nossos resultados, mostrando que a utilidade potencial da IL-2 intravenosa contínua e, subsequentemente, a administração intermitente com rIL-2 subcutânea como uma citocina que poderia expandir o grupo de células T CD4 + em pacientes infectados com HIV-1 sem nenhum efeito prejudicial significativo na carga viral e com um perfil de efeito adverso aceitável. Vale salientar, que em pacientes HIV/AIDS, este aumento pode ser sugestivo de diminuição da produção das células TCD4+.

Observou-se também no nosso trabalho, que o grupo dos progressores lentos mostrou os valores das citocinas IFN g e IL-6 semelhante ao grupo

controle, quando comparado o grupo HIV/AIDS e controle forneceu significância estatística, este resultado corrobora com JACOB *et al*., (2017) que reforça que os indivíduos com progressão rápida da doença são caracterizados por alta carga viral e desta forma, maior ativação de células T e níveis aumentados de citocinas inflamatórias, a exemplo de interleucina-6 (IL-6) e fator alfa de necrose tumoral(TNF-α).Com relação ao aumento da produção de IL-6, em indivíduos HIV/AIDS, pode estar associado ao aumento da replicação viral persistente, o que é comum em indivíduos com este perfil.

Com relação a IL-10, os resultados se mostraram relativamente baixo entre os grupos estudados, segundo Pedro P. V. Varella, Wilma C. Neves Forte, (2001), em outro trabalho, esta citocina em pacientes com HIV, mostrou resultados altos, considerando que esta citocina é principalmente ativada por células dendriticas e outros tipos celulares como células T CD8. Todavia, no nosso trabalho, os níveis foram baixos, para produção desta citocina, em todos os grupos estudados, considerando que a principal função da IL-10, esta relacionada com a modulação da infecção viral aguda, sugerindo que este resultado pode estar relacionado com a menor expressão de células que induzem a produção de IL-10 (ROJAS *et al*, 2017).

A interleucina-1 (IL-1) é produzida principalmente por macrófagos e monócitos, sugerindo que este aumento de produção da citocina nos grupos progressores pode estar associado a monócitos, já que neste grupo teve números bem elevados bem como, por células não imunes, como fibroblastos e células endoteliais ativadas, durante danos celulares, infecção, invasão e inflamação.

Neste estudo, os indivíduos progressores lentos apresentaram maior frequência de monócitos, células *natural killer* (NK), subgrupos dos linfócitos T em concordância com SAEZ-CIRION *et al* (2014), que afirmam que as células NK são os principais efetores da imunidade inata. Através de sua capacidade de mediar a citólise e produzir numerosas citocinas, estas células podem controlar a replicação viral nos primeiros estágios de infecção e moldar a resposta imune adaptativa.

Ratificando com o nosso trabalho Jiang *et al.,* (2013),mostraram que as células NK dos indivíduos progressores lentos exibiram atividades aumentadas na produção de IFN-g, em conjunto, esses dados demonstram que a função de células NK, pode contribuir para o controle da infecção pelo HIV e aumento da secreção de IFN-g, o que pode estar associada a um retardo na progressão da doença. No entanto, uma maior produção de subpopulações de células NK e a perda de funções celulares ocorrem como consequência de exposição ao HIV-1 (SAEZ-CIRION, *et al*, 2014).

Todavia, no grupo HIV/AIDS houve maior produção de linfócitos T näive, células T citotoxicas, células dendríticas (DCs) e menor frequência de LTCD4^{+} que no grupo controle e no grupo progressor lento, coincidindo com estudo de STEVEN G. DEEKS & BRUCE D. WALKER, 2007, que reforça o declínio na viremia após infecção aguda pelo HIV, há um aumento nas células T CD8 + específicas que são capazes de destruir células infectadas pelo HIV.

Embora a resposta imune adaptativa desempenhe um grande papel na patogênese e progressão do HIV-1 para AIDS, evidências sugerem que o sistema imune inato diretamente ou indiretamente afeta a progressão da doença. Células mielóides do sistema imune inato incluindo monócitos, macrófagos, e células dendríticas (DCs) também são alvo do vírus. Nos estágios iniciais da infecção pelo HIV-1, a evidência sugere que os DCs transmitem inicialmente HIV-1 através de barreiras mucosas. Em concordância com nosso resultado que reforça maior produção destas células nos indivíduos HIV/AIDS, ressaltando-se, que a fase inicial e o curso exato da evolução da doença são difíceis de prever, devido à variação de fatores genético e ambiental do hospedeiro **(**BARCLEY T. PACE & ANDREW A. LACKNER, 2017).

6.5 CONCLUSÃO

O perfil de citocinas estudado neste trabalho apresentou valores semelhantes entre os grupos de pacientes progressores lentos e indivíduos não infectados pelo HIV.

Tais dados sugerem que essas citocinas podem contribuir positivamente para o controle na carga viral, independente do uso de tratamento antirretroviral.

6.6 AGRADECIMENTOS

Apoio Financeiro:

Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq
Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado da Bahia – FAPESB

6.7 CONFLITOS DE INTERESSES

Os autores declaram a inexistência de conflito de interesse na realização do presente estudo.

6.8 REFERENCIAS

AGGARWAL, Anupriya; MCALLERY, Samantha; TURVILLE, Stuart G. *Revising the Role of Myeloid cells in HIV Pathogenesis.* ***Current HIV/AIDS Reports***, v. 10, n. 1, p. 3-11, 2013.

APPAY, V.; SAUCE, D. *Immune activation and inflammation in HIV-1 infection: causes and consequences.* ***The Journal of pathology***, v. 214, n. 2, p. 231-241, 2008.

COFFIN, John; SWANSTROM, Ronald. *HIV pathogenesis: dynamics and genetics of viral populations and infected cells.* ***Cold Spring Harbor perspectives in medicine***, v. 3, n. 1, p. a012526, 2013.

DEEKS, Steven G.; WALKER, Bruce D. *Human immunodeficiency virus controllers: mechanisms of durable virus control in the absence of antiretroviral therapy.* ***Immunity****,* v. 27, n. 3, p. 406-416, 2007.

DOISNE, Jean-Marc et al. CD8+ T cells specific for EBV, cytomegalovirus, and influenza virus are activated during primary HIV infection. **The Journal of Immunology**, v. 173, n. 4, p. 2410-2418, 2004.

GOICOECHEA, Miguel et al*. Prevalence and T cell phenotype of slow HIV disease progressors with robust HIV replication.* ***Journal of acquired immune deficiency syndromes*** (1999), v. 52, n. 2, p. 299, 2009.

GUHA, GUHA & AYYAVOO, 2013; AYYAVOO, Velpandi. *Innate immune evasion strategies by human immunodeficiency virus type 1****. Isrn Aids***, v. 2013, 2013

JACOBS, Evan S. et al. *Cytokines Elevated in HIV Elite Controllers Reduce HIV Replication In Vitro and Modulate HIV Restriction Factor Expression.* ***Journal of virology***, v. 91, n. 6, p. e02051-16, 2017.

KREUTZ, Luiz Carlos. Resposta imunológica contra vírus. FLORES, EF **Virologia Veterinária**, Santa Maria: Ed da UFSM, p. 237-261, 2007.

MITSUYASU, Ronald T. *The potential role of interleukin-2 in HIV.* ***Aids***, v. 15, p. S22-S27, 2001.

NASI, Milena *et al*. Novel genetic association of TNF-α-238 and PDCD1-7209 polymorphisms with long-term non-progressive HIV-1 infection. **International Journal of Infectious Diseases**, v. 17, n. 10, p. e845-e850, 2013.

OKULICZ, Jason F. et al. Clinical outcomes of elite controllers, viremic controllers, and long-term nonprogressors in the US Department of Defense HIV natural history study. **The Journal of infectious diseases**, v. 200, n. 11, p. 1714-1723, 2009.

PACE, Barcley T. et al. *The Role of Defensins in HIV Pathogenesis.* ***Mediators of Inflammation***, v. 2017, 2017.

PETT, Sarah L.; KELLEHER, Anthony D.; EMERY, Sean. *Role of interleukin-2 in patients with HIV infection.* ***Drugs****,* v. 70, n. 9, p. 1115-1130, 2010.

ROJAS, José M. et al. IL-10: *A Multifunctional Cytokine in Viral Infections.* ***Journal of immunology research***, v. 2017, 2017.

SAEZ-CIRION, A. et al. *Immune responses during spontaneous control of HIV and AIDS: what is the hope for a cure?.* ***Phil. Trans. R. Soc. B***, v. 369, n. 1645, p. 20130436, 2014.

TOMARAS, GeorgiaD. et al. *Initial B-cell responses to transmitted human immunodeficiency virus type 1: virion-binding immunoglobulin M (IgM) and IgG antibodies followed by plasma anti-gp41 antibodies with ineffective control of initial viremia.* ***Journal of virology****,* v. 82, n. 24, p. 12449-12463, 2008.

VARELLA, Pedro PV; FORTE, Wilma C. Neves. *Citocinas: revisão.* ***Rev bras alergia imunopatol****,* v. 24, p. 146-154, 2001.

7. RESUMO DE RESULTADOS

- **Determinação do perfil celular da resposta imune inata em pacientes HIV progressores lentos**

    1. Houve aumento na produção de células da imunidade inata em pacientes progressores lentos semelhantes às células dos pacientes hígidos.

    2. Houve significância estatística entre os linfócitos TCD4+ dos indivíduos progressores lentos em comparação com os indivíduos HIV/AIDS.

- **Comparação das células da imunidade inata e perfil de citocinas em pacientes HIV-1 com e sem progressão lenta**

    1. Pacientes HIV-1 apresentaram níveis de IL-2 aumentados, não estatisticamente significantes.
    2. Não houve significância estatística níveis de IL-6 nos indivíduos progressores lentos em comparação com os indivíduos hígidos, todavia, nos pacientes HIV/AIDS, os níveis foram mais elevados, porém, sem significância estatística.
    3. O perfil de IL-10 manteve-se em equivalência, quando comparado com os três grupos estudados.
    4. O fator de necrose tumoral (TNF),mostrou nível de produção baixa entre os pacientes progressores lentos, indivíduos hígidos e pacientes HIV/AIDS, também, sem significância estatística.
    5. A citocina IL-1a, mostrou-seem elevados níveis em comparação com os outros grupos estudados.
    6. INFγ manteve níveis elevados nos indivíduos progressores lentos, nos indivíduos HIV/AIDS e pacientes hígidos, todavia, por interferência de tipos celulares diferentes.

7. CONCLUSÃO

No presente estudo conclui-se que os indivíduos progressores lentos possuem uma resposta imunológica diferenciada e semelhante a indivíduos hígidos, bem como, um controle de produção dos níveis das citocinas, o que pode cooperar com um possível equilíbrio da carga viral sem aplicação de tratamento antirretroviral.

É importante ressaltar, que o estudo em indivíduos com este perfil, ou seja, que desenvolve de forma equilibrada imunidade natural e/ou adaptativa, no controle da replicação do vírus HIV, poderá fornecer um melhor conhecimento destas respostas, e ser uma ferramenta que contribuirá futuramente em possíveis terapias para os pacientes infectados por este patógeno.

8. REFERÊNCIAS

1. Abbas, A; Litchtmann, A; Pillai, S; **Imunologia Celular e Molecular**, 6ª Edição, Elsevier, São Paulo – SP, 2008.

2. Abbas, A; Litchtmann, A; Pillai, S; **Imunologia Celular e Molecular**, 5ª Edição, Elsevier, São Paulo – SP, 2005.

3. AGGARWAL, Anupriya; MCALLERY, Samantha; TURVILLE, Stuart G. *Revising the Role of Myeloid cells in HIV Pathogenesis.* ***Current HIV/AIDS Reports***, v. 10, n. 1, p. 3-11, 2013.

4. ALTFELD, Marcus et al. *HLA alleles associated with delayed progression to AIDS contribute strongly to the initial CD8+ T cell response against HIV-1.* ***PLoS medicine***, v. 3, n. 10, p. e403, 2006.
5. ALTFELD, Marcus; GALE JR, Michael. *Innate immunity against HIV-1 infection.* ***Nature immunology***, v. 16, n. 6, p. 554-562, 2015.
6. AMANNA, Ian J.; MESSAOUDI, Ilhem; SLIFKA, Mark K. *Protective immunity following vaccination: how is it defined?.* ***Human vaccines***, v. 4, n. 4, p. 316-319, 2008.
7. APPAY, V.; SAUCE, D. *Immune activation and inflammation in HIV-1 infection: causes and consequences.* ***The Journal of pathology***, v. 214, n. 2, p. 231-241, 2008.

8. ARCHIN, Nancie M. et al. *Eradicating HIV-1 infection: seeking to clear a persistent pathogen.* ***Nature reviews. Microbiology***, v. 12, n. 11, p. 750, 2014.

9. ARRILDT, Kathryn Twigg; JOSEPH, Sarah Beth; SWANSTROM, Ronald. *The HIV-1 env protein: a coat of many colors.* ***Current HIV/AIDS Reports***, v. 9, n. 1, p. 52-63, 2012.

10. AUFFRAY, Cedric; SIEWEKE, Michael H.; GEISSMANN, Frederic. *Blood monocytes: development, heterogeneity, and relationship with dendritic cells.* ***Annual review of immunology***, v. 27, p. 669-692, 2009.

11. BAGGALEY, Rebecca F.; WHITE, Richard G.; BOILY, Marie-Claude. *HIV transmission risk through anal intercourse: systematic review, meta-analysis and implications for HIV prevention.* ***International jornal of epidemiology****,* v. 39, n. 4, p. 1048-1063, 2010.

12. BAILEY, Justin R. et al. *Neutralizing antibodies do not mediate suppression of human immunodeficiency virus type 1 in elite suppressors or selection of plasma virus variants in patients on highly active antiretroviral therapy.* ***Journal of virology***, v. 80, n. 10, p. 4758-4770, 2006.

13. BAROUCH, Dan H. et al. *Protective efficacy of a global HIV-1 mosaic vaccine against heterologous SHIV challenges in rhesus monkeys.* ***Cell***, v. 155, n. 3, p. 531-539, 2013.

14. BAUM, Linda L. *Role of humoral immunity in host defense against HIV.* ***Current HIV/AIDS Reports*****,** v. 7, n. 1, p. 11-18, 2010.

15. BHARMAL, R. N.; TIWARI, R. P. *HIV and AIDS: basic elements and priorities. Dordrecht:* ***Springer***, 2007.

16. BLAAK, Hetty et al. *In vivo HIV-1 infection of CD45RA+ CD4+ T cells is established primarily by syncytium-inducing variants and correlates with the rate of CD4+ T cell decline.* ***Proceedings of the National Academy of Sciences****,* v. 97, n. 3, p. 1269-1274, 2000.

17. BORGES, Isabele Kazahaya et al. *Participação de células T regulatórias (Tregs) na imunopatogênese da infecção pelo vírus da imunodeficiência humana 1 (HIV-1).* ***Semina: Ciências Biológicas e da Saúde***, v. 31, n. 2, p. 169-178, 2010.

18. BRENCHLEY, Jason M. et a*l. CD4+ T cell depletion during all stages of HIV disease occurs predominantly in the gastrointestinal tract.* ***Journal of Experimental Medicine***, v. 200, n. 6, p. 749-759, 2004.

19. BROMBIN, Chiara et al. *A nonparametric procedure for defining a new humoral immunologic profile in a pilot study on HIV infected patients.* ***PloS one****,* v. 8, n. 3, p. e58768, 2013.

20. CAO, Yunzhen et al. *Virologic and immunologic characterization of long-term survivors of human immunodeficiency virus type 1 infection.* ***N Engl j Med***, v. 1995, n. 332, p. 201-208, 1995.

21. CASADO, Concepción et al*. Host and viral genetic correlates of clinical definitions of HIV-1 disease progression.* ***PloS one***, v. 5, n. 6, p. e11079, 2010.

22. CASKEY, Marina et al. *Viraemia suppressed in HIV-1-infected humans by broadly neutralizing antibody 3BNC117.* ***Nature***, v. 522, n. 7557, p. 487-491, 2015.

23. CHADHA, Kailash C. et al. *Interferons and interferon inhibitory activity in disease and therapy.* ***Experimental Biologyand Medicine***, v. 229, n. 4, p. 285-290, 2004.

24. CHAUVEAU, Lise et al. *HIV fusion in Dendritic cells mainly occurs at the surface and is limited by low CD4 levels.* ***Journal of Virology***, p. JVI. 01248-17, 2017.

25. COFFIN, John; SWANSTROM, Ronald. *HIV pathogenesis: dynamics and genetics of viral populations and infected cells.* ***Cold Spring Harbor perspectives in medicine***, v. 3, n. 1, p. a012526, 2013.

26. CROWE, Suzanne; ZHU, Tuofu; MULLER, William A. *The contribution of monocyte infection and trafficking to viral persistence, and maintenance of the viral reservoir in HIV infection.* ***Journal of leukocyte biology***, v. 74, n. 5, p. 635-641, 2003.

27. DE VRIES, W. et al. *Increased virus replication in mammalian cells by blocking intracellular innate defense responses.* ***Gene therapy***, v. 15, n. 7, p. 545, 2008.

28. DEEKS, Steven G.; WALKER, Bruce D. *Human immunodeficiency virus controllers: mechanisms of durable virus control in the absence of antiretroviral therapy.* ***Immunity****,* v. 27, n. 3, p. 406-416, 2007.

29. DOISNE, Jean-Marc et al. CD8+ T cells specific for EBV, cytomegalovirus, and influenza virus are activated during primary HIV infection. **The Journal of Immunology**, v. 173, n. 4, p. 2410-2418, 2004.

30. EL-FAR, Mohamed et al. *CD160 isoforms and regulation of CD4 and CD8 T-cell responses.* ***Journal of translational medicine***, v. 12, n. 1, p. 217, 2014.

31. EMU, Brinda et al. *Phenotypic, functional, and kinetic parameters associated with apparent T-cell control of human immunodeficiency virus replication in individuals with and without antiretroviral treatment.* ***Journal of virology***, v. 79, n. 22, p. 14169-14178, 2005.

32. FARIA, Nuno R. et al. *The early spread and epidemic ignition of HIV-1 in human populations.* ***Science***, v. 346, n. 6205, p. 56-61, 2014.

33. FRANKEL, Alan D.; YOUNG, John AT. *HIV-1: fifteen proteins and an RNA*. 1998.

34. FRIEDRICH, Thomas C. et al*. Subdominant CD8+ T-cell responses are involved in durable control of AIDS virus replication.* ***Journal of virology***, v. 81, n. 7, p. 3465-3476, 2007.

35. FRIMAN, Vanda; GISSLÉN, Magnus. *Retroviral rebound syndrome after treatment discontinuation in a 15 year old girl with HIV attracted through mother-to-child transmission: case report.* ***AIDS research and therapy***, v. 4, n. 1, p. 3, 2007.

36. GEKONGE, Bethsebah et al. *Constitutive gene expression in monocytes from chronic HIV-1 infection overlaps with acute Toll-like receptor induced monocyte activation profiles.* ***PloS one****,* v. 7, n. 7, p. e41153, 2012.

37. GOICOECHEA, Miguel et al*. Prevalence and T cell phenotype of slow HIV disease progressors with robust HIV replication.* ***Journal of acquired immune deficiency syndromes*** (1999), v. 52, n. 2, p. 299, 2009.

38. GOTO, Tetsuya et al. A novel membrane antigen selectively expressed on terminally differentiated human B cells. ***Blood***, v. 84, n. 6, p. 1922-1930, 1994.

39. GOULDER, Philip JR; WATKINS, David I. *HIV and SIV CTL escape: implications for vaccine design.* ***Nature reviews. Immunology***, v. 4, n. 8, p. 630, 2004.

40. GRAKOUI, Arash et al. *HCV persistence and immune evasion in the absence of memory T cell help.* ***Science***, v. 302, n. 5645, p. 659-662, 2003.

41. GUADALUPE, Moraima et al*. Severe CD4+ T-cell depletion in gut lymphoid tissue during primary human immunodeficiency virus type 1 infection and substantial delay in restoration following highly active antiretroviral therapy.* ***Journal of virology****,* v. 77, n. 21, p. 11708-11717, 2003.

42. GUHA, GUHA & AYYAVOO, 2013; AYYAVOO, Velpandi. *Innate immune evasion strategies by human immunodeficiency virus type 1****. Isrn Aids***, v. 2013, 2013.

43. HRABER, Peter et al. *Prevalence of broadly neutralizing antibody responses during chronic HIV-1 infection.* ***AIDS (London, England)***, v. 28, n. 2, p. 163, 2014.

44. **Introdução a Virologia Humana, autora Norma Suely de Oliveira Santos.**Editora: **Guanabara Koogan, Ano: 2008**

45. JACOBS, Evan S. et al. *Cytokines Elevated in HIV Elite Controllers Reduce HIV Replication In Vitro and Modulate HIV Restriction Factor Expression.* ***Journal of virology***, v. 91, n. 6, p. e02051-16, 2017.

46. JESSEN, Heiko; JÄGER, Hans. ***Primary HIV-Infection: Pathology, Diagnosis, Management****.* Georg Thieme Verlag, 2005.

47. JIANG, Yongjun et al. *Higher NK cell IFN-γ production is associated with delayed HIV disease progression in LTNPs.* ***Journal of clinical immunology***, v. 33, n. 8, p. 1376-1385, 2013

48. KEDZIERSKA, Katherine; *CROWE, Suzanne M. Cytokines and HIV-1: interactions and clinical implications.* ***Antiviral Chemistry and Chemotherapy***, v. 12, n. 3, p. 133-150, 2001.

49. KREUTZ, Luiz Carlos. Resposta imunológica contra vírus. FLORES, EF Virologia Veterinária, Santa Maria: **Ed da UFSM**, p. 237-261, 2007

50. KUMAR, Praveen. *Long term non-progressor (LTNP) HIV infection.* ***The Indian journal of medical research***, v. 138, n. 3, p. 291, 2013.

51. LACKNER, A. A.; LEDERMAN, Michael M.; RODRIGUEZ, Benigno. *HIV pathogenesis: the host.* ***Cold Spring Harbor perspectives in medicine***, v. 2, n. 9, p. a007005, 2012.

52. LACKNER, Andrew A.; VEAZEY, Ronald S. *Current concepts in AIDS pathogenesis: insights from the SIV/macaque model.* ***Annu. Rev. Med.***, v. 58, p. 461-476, 2007.

53. LEMEY, Philippe et al. *Tracing the origin and history of the HIV-2 epidemic.* ***Proceedings of the National Academy of Sciences***, v. 100, n. 11, p. 6588-6592, 2003.

54. LI, Lin et al. *Analysis of CD4+ CD25+ Foxp3+ regulatory T cells in HIV-exposed seronegative persons and HIV-infected persons with different disease progressions.* ***Viral immunology****,* v. 24, n. 1, p. 57-60, 2011.

55. LI, Qingsheng et al. *Peak SIV replication in resting memory CD4+ T cells depletes gut lamina propris CD4+ T cells.* ***Nature***, v. 434, n. 7037, p. 1148, 2005.

56. LICHTERFELD, Mathias et al. *Loss of HIV-1–specific CD8+ T cell proliferation after acute HIV-1 infection and restoration by vaccine-induced HIV-1–specific CD4+ T cells.* ***Journal of Experimental Medicine***, v. 200, n. 6, p. 701-712, 2004.

57. LOCATELLI, Sabrina; PEETERS, Martine. *Cross-species transmission of simian retroviruses: how and why they could lead to the emergence of new diseases in the human population.* ***Aids***, v. 26, n. 6, p. 659-673, 2012.

58. LUCAR, Olivier et al. *Neutralizing Antibodies Against a Specific Human Immunodeficiency Virus gp41 Epitope are Associated With Long-term Non-progressor Status.* ***EBioMedicine***, v. 22, p. 122-132, 2017.

59. MACHADO, Paulo RL et al. Mecanismos de resposta imune às infecções Immune response mechanisms to infections. **An Bras Dermatol**, v. 79, n. 6, p. 647-664, 2004.

60. MADEC, Yoann et al. *Spontaneous control of viral load and CD4 cell count progression among HIV-1 seroconverters.* ***Aids***, v. 19, n. 17, p. 2001-2007, 2005.

61. MADEC, Yoann et al. *Undetectable viremia without antiretroviral therapy in patients with HIV seroconversion: an uncommon phenomenon?.* ***Clinical infectious diseases***, v. 40, n. 9, p. 1350-1354, 2005.

62. MALIM, Michael H.; EMERMAN, Michael. *HIV-1 accessory proteins—ensuring viral survival in a hostile environment.* ***Cell host & microbe***, v. 3, n. 6, p. 388-398, 2008.

63. MANALOTO, CorazonR. et al*. Natural history of HIV infection in Filipino female commercial sex workers.* ***JAIDS Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes***, v. 7, n. 11, p. 1157-1168, 1994.

64. MANDALIA, Sundhiya et al. *Are long-term non-progressors very slow progressors? Insights from the Chelsea and Westminster HIV cohort, 1988–2010.* ***PLoS One***, v. 7, n. 2, p. e29844, 2012.

65. MANETTI, Roberto et al*. Natural killer cell stimulatory factor (interleukin 12 [IL-12]) induces T helper type 1 (Th1)-specific immune responses and inhibits the development of IL-4-producing Th cells.* ***Journal of Experimental Medicine***, v. 177, n. 4, p. 1199-1204, 1993.

66. MATTAPALLIL, Joseph J. et al. *Massive infection and loss of memory CD4+ T cells in multiple tissues during acute SIV infection.* ***Nature***, v. 434, n. 7037, p. 1093, 2005.

67. MCMICHAEL, Andrew J. et al. *The immune response during acute HIV-1 infection: clues for vaccine development.* ***Nature reviews. Immunology***, v. 10, n. 1, p. 11, 2010.

68. MELLORS, John W. et al. *Quantitation of HIV-1 RNA in plasma predicts outcome after seroconversion.* ***Annal sofinternal medicine***, v. 122, n. 8, p. 573-579, 1995.

69. MENG, Gang et al*. Primary intestinal epithelial cells selectively transfer R5 HIV-1 to CCR5+ cells.* ***Nature medicine***, v. 8, n. 2, p. 150-156, 2002.

70. MIGUELES, Stephen A. et al. *HIV-specific CD8+ T cell proliferation is coupled to perforin expression and is maintained in nonprogressors.* ***Nature immunology***, v. 3, n. 11, p. 1061, 2002.

71. MIGUELES, Stephen A. et al. *Lytic granule loading of CD8+ T cells is required for HIV-infected cell elimination associated with immune control.* ***Immunity***, v. 29, n. 6, p. 1009-1021, 2008.

72. MIKELL, Iliyana et al. *Characteristics of the earliest cross-neutralizing antibody response to HIV-1.* ***PLoS pathogens***, v. 7, n. 1, p. e1001251, 2011.

73. MILNER, Eric CB et al. *Human innate B cells: a link between host defense and autoimmunity?.In:* ***Springer seminars in immunopathology***. Springer-Verlag, 2005. p. 433-452.

74. MITSUYASU, Ronald T. *The potential role of interleukin-2 in HIV.* ***Aids***, v. 15, p. S22-S27, 2001.

75. MOUREZ, T.; SIMON, F.; PLANTIER, J. C. *Non-M variants of human immunodeficiency virus type 1.* ***Clin Microbiol*** Rev26: 448–461. 2013.

76. Murphy K , Travers P & Walport M . **Imunobiologia de Janeway.** 17. 7ª ed. Porto Alegre: Artmed; 2010.

77. NASI, Milena et al. *Novel genetic association of TNF-α-238 and PDCD1-7209 polymorphisms with long-term non-progressive HIV-1 infection.*

International Journal of Infectious Diseases, v. 17, n. 10, p. e845-e850, 2013.

78. OKULICZ, Jason F. et al. *Clinical out comes of elite controllers, viremic controllers, and long-termnonprogressors in the US Department of Defense HIV natural history study.* ***The Journal of infectious diseases***, v. 200, n. 11, p. 1714-1723, 2009.

79. PACE, Barcley T. et al. *The Role of Defensins in HIV Pathogenesis.* ***Mediators of Inflammation***, v. 2017, 2017.

80. PAGE-SHAFER, K. et al. *(C2) Saliva, breast milk, and mucosal fluids in HIV transmission.* ***Advances in dental research***, v. 19, n. 1, p. 152-157, 2006.

81. PALACIOS, Juan Antonio et al. *Long-term nonprogressor and elite controller patients who control viremia have a higher percentage of methylation in their HIV-1 proviral promoters than aviremic patients receiving highly active antiretroviral therapy.* ***Journal of virology***, v. 86, n. 23, p. 13081-13084, 2012.

82. PAULS, Eduardo et al. *Restriction of HIV-1 replication in primary macrophages by IL-12 and IL-18 through the upregulation of SAMHD1.* ***The Journal of Immunology***, v. 190, n. 9, p. 4736-4741, 2013.

83. PEETERS, Martine; SHARP, Paul M. *Genetic diversity of HIV-1: the moving target.* ***Aids***, n. Suppl. 3, p. S129-S140, 2000.

84. PEREYRA, Florencia et al. *Genetic and immunologic heterogeneity among persons who control HIV infection in the absence of therapy.* ***The Journal of infectious diseases***, v. 197, n. 4, p. 563-571, 2008.

85. PERNAS, María et al. *Low-replicating viruses and strong anti-viral immune response associated with prolonged disease control in a superinfected HIV-1 LTNP elite controller.* ***PloS one***, v. 7, n. 2, p. e31928, 2012.

86. PETT, Sarah L.; KELLEHER, Anthony D.; EMERY, Sean. *Role of interleukin-2 in patients with HIV infection.* ***Drugs****,* v. 70, n. 9, p. 1115-1130, 2010.

87. POPE, Melissa; HAASE, Ashley T. *Transmission, acute HIV-1 infection and the quest for strategies to prevent infection.* ***Nature medicine***, v. 9, n. 7, p. 847-852, 2003.

88. POROPATICH, Kate; SULLIVAN JR, David J*. Human immunodeficiency virus type 1 long-term non-progressors: the viral, genetic and immunological basis for disease non-progression*. **Journal of General Virology**, v. 92, n. 2, p. 247-268, 2011.

89. PRINS, Maria et al. *Comparison of progression and non-progression in injecting drug users and homosexual men with documented dates of HIV-1 seroconversion.* ***Aids****,* v. 11, n. 5, p. 621-631, 1997.

90. RAMBAUT, Andrew et al. *The causes and consequences of HIV evolution.* ***Nature reviews. Genetics***, v. 5, n. 1, p. 52, 2004.

91. RAUSELL, Antonio; MCLAREN, Paul J.; TELENTI, Amalio. *HIV and innate immunity–a genomics perspective.* ***F1000prime reports***, v. 5, 2013.

92. RHODES, David I. et al. *Characterization of three nef-defective human immunodeficiency virus type 1 strains associated with long-term nonprogression*. **Journal of virology**, v. 74, n. 22, p. 10581-10588, 2000.

93. RICHMAN, Douglas D. et al. *Rapid evolution of the neutralizing antibody response to HIV type 1 infection.* ***Proceedings of the National Academy of Sciences***, v. 100, n. 7, p. 4144-4149, 2003.

94. ROBBINS, Kenneth E. et al. *US Human immunodeficiency virus type 1 epidemic: date of origin, population history, and characterization of early strains.* ***Journal of virology***, v. 77, n. 11, p. 6359-6366, 2003.

95. ROJAS, José M. et al. IL-10: *A Multifunctional Cytokine in Viral Infections.* ***Journal of immunology research***, v. 2017, 2017.

96. RUTHERFORD, George W. et al. *Course of HIV-I infection in a cohort of homosexual and bisexual men: an 11 year follow up study.* ***Bmj***, v. 301, n. 6762, p. 1183-1188, 1990.

97. SADANAND, Saheli; SUSCOVICH, Todd J.; ALTER, Galit. *Broadly neutralizing antibodies against HIV: new insights to inform vaccine design.* ***Annual review of medicine***, v. 67, p. 185-200, 2016.

98. SAEZ-CIRION, A. et al. *Immune responses during spontaneous control of HIV and AIDS: what is the hope for a cure?.* ***Phil. Trans. R. Soc. B***, v. 369, n. 1645, p. 20130436, 2014.

99. SAKAGUCHI, Shimon. *Regulatory T cells: mediating compromises between host and parasite.* ***Nature immunology***, v. 4, n. 1, p. 10-11, 2003.

100. SERRA-MORENO, Ruth et al. *Compensatory changes in the cytoplasmic tail of gp41 confer resistance to tetherin/BST-2 in a pathogenic nef-deleted SIV.* ***Cell host & microbe***, v. 9, n. 1, p. 46-57, 2011.

101. SHARP, Paul M. et al. *Origins and evolution of AIDS viruses.* ***The Biological Bulletin****,* v. 196, n. 3, p. 338-342, 1999.

102. SHARP, Paul M.; HAHN, Beatrice H. *Origins of HIV and the AIDS pandemic.* ***Cold Spring Harbor perspectives in medicine***, v. 1, n. 1, p. a006841, 2011.

103. SHATTOCK, Robin J. et al. *Improving defences at the portal of HIV entry: mucosal and innate immunity.* ***PLoS medicine***, v. 5, n. 4, p. e81, 2008.

104. SMITH, Peter Lawrence; TANNER, Helen; DALGLEISH, Angus. *Developments in HIV-1 immunotherapy and therapeutic vaccination.* ***F1000 prime reports***, v. 6, 2014.

105. STERLING, Timothy R. et al. *Sex differences in longitudinal human immunodeficiency virus type 1 RNA levels among*

seroconverters. ***The Journal of infectious diseases***, v. 180, n. 3, p. 666-672, 1999.

106. SUN, C. et al. *The characteristics of Th1/Th2 cytokine receptors on monocytes in untreated patients of long term nonprogressor or chronic HIV infection.* ***Current molecular medicine***, v. 12, n. 8, p. 1028-1039, 2012.

107. TIBÚRCIO, Alberto Saraiva. Pacientes HIV-positivo não progressores em longo-prazo: dois casos. **Jornal Brasileiro de Doenças Sexualmente Transmissíveis**, v. 21, n. 2, p. 87-90, 2009.

108. TOMARAS, GeorgiaD. et al. *Initial B-cell responses to transmitted human immunodeficiency virus type 1: virion-binding immunoglobulin M (IgM) and IgG antibodies followed by plasma anti-gp41 antibodies with ineffective control of initial viremia.* ***Journal of virology****,* v. 82, n. 24, p. 12449-12463, 2008.

109. UNAIDS: Global report: UNAIDS report on the global AIDS epidemic 2016. Disponível em:www.unaids.org/en/media/unaids/contentassets/documents/epidemiology/2016/gr2016/. Acessadoem: 19/05/2017

110. UNAIDS: Global report: UNAIDS report on the global AIDS epidemic 2013. Disponível em: www.unaids.org/en/media/unaids/contentassets/documents/epidemiology/2013/gr2013/. Acessado em:19/05/2017

111. VARELLA, Pedro PV; FORTE, Wilma C. Neves. *Citocinas: revisão.* ***Rev bras alergia imunopatol****,* v. 24, p. 146-154, 2001.

112. VARELLA, Pedro PV; FORTE, Wilma C. Neves. Citocinas: revisão. **Ver bras alergia imunopatol**, v. 24, p. 146-154, 2001.

113. VIEILLARD, Vincent et al. *A vaccine strategy against AIDS: an HIV gp41 peptide immunization prevents NKp44L expression and CD4+*

T cell depletion in SHIV-infected macaques. ***Proceedings of the National Academy of Sciences****,* v. 105, n. 6, p. 2100-2104, 2008.

114. VIEILLARD, Vincent et al. *Specific anti-gp41 antibodies predict HIV-1 disease progression.* ***JAIDS Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes***, v. 61, n. 3, p. 403-405, 2012.

115. WEI, Xiping et al. *Antibody neutralization and escape by HIV-1.* ***Nature***, v. 422, n. 6929, p. 307, 2003.

116. WEST, Anthony P. et al*. Structural insights on the role of antibodies in HIV-1 vaccine and therapy****. Cell****,* v. 156, n. 4, p. 633-648, 2014.

117. WONG-STAAL, *Flossie. Human immunodeficiency viruses and their replication.* ***Virology***, v. 2, p. 1529-1543, 1990.

118. World Health Organization. AIDS epidemic update 2009 Nov. Disponivel em: http://data.unaids.org/pub/Report/2009/JC1700_Epi_Update_2016_en.pdf.Acessado em: March 2017

119. World Health Organization. Natural historyof HIV infection. Disponível em:http://www.searo.who.int/LinkFiles/HIVaids_in_Asia_and_the_Pacific_Region_2003_anx1.pdf. Acessado em: 01/06/2017

120. ZAUNDERS, John; VAN BOCKEL, David. *Innate and adaptive immunity in long-term non-progression in HIV disease.* ***Frontiers in immunology***, v. 4, 2013.

121. ZENG, Ming et al. *Lymphoid tissue damage in HIV-1 infection depletes naive T cells and limits T cell reconstitution after antiretroviral therapy.* ***PLoS pathogens***, v. 8, n. 1, p. e1002437, 2012.

122. ZHANG, Zhi-Qiang et al. *Roles of substrate availability and infection of resting and activated CD4+ T cells in transmission and acute simian immunodeficiency virus infection.* ***Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America***, v. 101, n. 15,

p. 5640-5645, Lopalco, L. CCR5: From Natural Resistance to a New Anti-HIV Strategy. Viruses, v.2, n.2, Feb, p.574-600. 2010.

ANEXO

Parecer Co-substanciado do Comitê de Ética da Maternidade Climério de Oliveira

MATERNIDADE CLIMÉRIO DE OLIVEIRA/UFBA

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: DETERMINAÇÃO DO PERFIL DA RESPOSTA IMUNE INATA EM PACIENTES PROGRESSORES LENTOS INFECTADOS PELO HIV

Pesquisador: Alex José Leite Torres

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 59125616.7.0000.5543

Instituição Proponente: Fundação Bahiana de Infectologia

Patrocinador Principal: Fundação Bahiana de Infectologia

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 1.806.698

Apresentação do Projeto:

O investigador responde às pendências anexando questionário em que contém:

IDENTIFICAÇÃO DA AMOSTRA, IDADE; SEXO: USO DE TÓXICOS INTRAVENOSOS: QUANTO TEMPO; TEMPO DE INFECÇÃO; USO DE TERAPIA ANTIRETROVIRAL: USO DE OUTROS MEDICAMENTOS; JÁ TEVE ALGUMA DOENÇA SEXUALMENTE TRANSMISSÍVEL: qual; JÁ RECEBEU TRANSFUSÃO DE SANGUE; ASPECTOS CLÍNICOS;LESÃO DE PELE; TB ; DOENÇAS NEUROLÓGICAS.

ADEQUADO

Objetivo da Pesquisa:

Não mudam.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Não mudam.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Questionário adequado.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

anexado questionário adequado.

Endereço: Rua do Limoeiro, 137
Bairro: Nazaré **CEP:** 40.005-150
UF: BA **Município:** SALVADOR
Telefone: (71)3283-9210 **E-mail:** copmco@ufba.br

MATERNIDADE CLIMÉRIO DE OLIVEIRA/UFBA

Continuação do Parecer: 1.806.698

Recomendações:

Não há.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Não há pendências.

Considerações Finais a critério do CEP:

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_773519.pdf	18/10/2016 17:43:41		Aceito
Outros	Questionario_investigativo_Versao_1_de_01OUT2016.pdf	18/10/2016 17:40:02	Alex José Leite Torres	Aceito
Outros	Questionario_investigativo_Versao_1_de_01OUT2016.doc	18/10/2016 17:39:39	Alex José Leite Torres	Aceito
Outros	Carta_Resposta_CEP_Questionario.pdf	18/10/2016 17:38:53	Alex José Leite Torres	Aceito
Outros	Declaracao_resolucao_466_12.pdf	24/08/2016 19:54:51	Alex José Leite Torres	Aceito
Outros	Delaracao_resolucao_466_12.docx	24/08/2016 19:53:13	Alex José Leite Torres	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	PROJETO_Versao_1_de_01JUL2016.pdf	24/08/2016 19:51:01	Alex José Leite Torres	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	PROJETO_Versao_1_de_01JUL2016.doc	24/08/2016 19:49:29	Alex José Leite Torres	Aceito
Outros	Carta_Resposta_CEP.pdf	23/08/2016 16:23:46	Alex José Leite Torres	Aceito
Folha de Rosto	Folha_de_Rosto.pdf	17/08/2016 19:03:49	Alex José Leite Torres	Aceito
Outros	Carta_de_Anuencia_FBal.pdf	17/08/2016 19:01:36	Alex José Leite Torres	Aceito
Outros	Carta_Anuencia_FBal.docx	17/08/2016 19:01:20	Alex José Leite Torres	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	Termo_de_Consentimento_Livre_e_Esclarecido_Versao_1_de_01JUL2016.pdf	17/08/2016 19:01:04	Alex José Leite Torres	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	Termo_de_Consentimento_Livre_e_Esclarecido_Versao_1_de_01JUL2016.docx	17/08/2016 19:00:54	Alex José Leite Torres	Aceito

Endereço: Rua do Limoeiro, 137
Bairro: Nazaré **CEP:** 40.005-150
UF: BA **Município:** SALVADOR
Telefone: (71)3283-9210 **E-mail:** cepmco@ufba.br

MATERNIDADE CLIMÉRIO DE OLIVEIRA/UFBA

Situação do Parecer:
Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:
Não

SALVADOR, 05 de Novembro de 2016

Assinado por:
Eduardo Martins Netto
(Coordenador)

Endereço: Rua do Limoeiro, 137
Bairro: Nazaré **CEP:** 40.005-150
UF: BA **Município:** SALVADOR
Telefone: (71)3283-9210 **E-mail:** copmco@ufba.br

APÊNDICE

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Projeto de Pesquisa: **DETERMINAÇÃO DO PERFIL DA RESPOSTA IMUNE INATA EM PACIENTES PROGRESSORES LENTOS INFECTADOS PELO HIV**

Pesquisador Responsável: Dr. Alex José Leite Torres
Contato: (71) 3283-8123

Introdução

Você está sendo convidado (a) para participar desta pesquisa porque é paciente atendido (a) na Fundação Bahiana de Infectologia. O estudo se destina a pacientes portadores do Vírus da Imunodeficiência Humana (HIV). A importância deste estudo é contribuir com mais informações acerca de como funciona o sistema imune dos pacientes coinfectados.

O resultado que se deseja alcançar é identificar o nível da resposta imune inata em pacientes com característica de progressão lenta da evolução do HIV-1 em comparação aos pacientes que evoluem para a AIDS.

Este documento é chamado Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, que contêm informações sobre a pesquisa. Após ler este Termo e discutir suas dúvidas com os pesquisadores responsáveis do estudo, você decidirá se quer ou não participar. Se quiser, você e os pesquisadores assinarão e datarão duas vias deste documento, uma delas ficará com você e outra ficará arquivada com os pesquisadores.
É importante que você saiba que sua participação é totalmente voluntária. Você pode decidir participar ou não, a qualquer momento, sem prejuízo algum para o seu acompanhamento médico ou para o seu tratamento.

Por que esta pesquisa está sendo feita e quais são os objetivos?
Essa pesquisa está sendo realizada porque alguns pacientes infectados pelo vírus do HIV-1 não evoluem ou progridem muito lentamente para a AIDS e esse estudo propõe avaliar nível de ativação dos fatores da primeira imunidade dos pacientes ante ao combate da infecção do vírus.

O que eu deverei fazer caso decida participar da pesquisa?
Se você aceitar participar deste estudo será necessário coletar amostra de sangue para quantificar os componentes imunes propostos.

Quantas pessoas participarão da pesquisa?
Aproximadamente 60 pacientes atendidas na Fundação Bahiana e Infectologia.

Quanto tempo durará a pesquisa?
Essa pesquisa durará aproximadamente 2(dois) anos.

Eu corro algum risco por participar deste estudo?
Não são esperados riscos físicos nesta pesquisa, além daqueles decorrentes de punção venosa para coleta de sangue. Mesmo quando efetuada por pessoal treinado, a coleta de sangue pode ocasionar dor, sangramento ou hematoma no local da punção e, raramente, infecção. Todas as providências serão tomadas para minimizar estes desconfortos. Você será atendido (a) e acompanhado (a) por um médico da Fundação Bahiana de Infectologia. As suas informações serão tratadas de modo sigiloso.

Eu terei algum benefício por participar deste estudo?

É possível que você não obtenha um benefício direto pela sua participação nesta pesquisa, mas os resultados obtidos poderão ser de utilidade para o desenvolvimento e tratamento dos pacientes infectados pelo HIV-1.

Terei despesas por participar desta pesquisa?
Você não terá nenhuma despesa por participar deste estudo, receberá sua atenção e colherá os exames pedidos.

E quanto à confidencialidade dos dados?
Os dados do estudo são confidenciais e apenas terão acesso, os pesquisadores do estudo, o pessoal autorizado que analisará os dados, e o Comitê de Ética que aprova a realização da pesquisa **(**Comitê de Ética em Pesquisa do Complexo Hospitalar Universitário Prof. Edgard Santos**)**.

Esta pesquisa não divulgará dados pessoais que possam identificá-la. Os resultados desta pesquisa serão analisados e possivelmente publicados em revistas médicas, mas em momento algum seu nome será exposto ou divulgado. Toda a informação será registrada de forma anônima.

Quais as minhas alternativas?
Se você não quiser participar deste estudo, seu acompanhamento de atenção continuará sendo na Fundação Bahiana de Infectologia.
Você não deixará de receber os cuidados necessários, por não participar da pesquisa.

Quais são os meus direitos como voluntária em uma pesquisa?
A participação nesta pesquisa tem caráter voluntário e ainda que você decida participar, conserva a possibilidade de se retirar a qualquer momento e por qualquer motivo, sem prejuízo algum. Esta decisão não afetará a sua relação comseu médico nem o seu acesso a futuros tratamentos.

Se decidir participar, será solicitado que você dê o seu consentimento por escrito assinando este documento.

Quem devo procurar em caso de dúvidas?

Se tiver alguma dúvida sobre a sua participação nessa pesquisa ou sobre as informações contidas neste documento favor entrar em contato com:

Dr. Alex José Leite Torres
Rua Augusto Viana, s/nº, Canela,
CEP: 40110-060, Salvador, Bahia.
Telefone: (71) 3283-8123

Se tiver dúvidas como dar seu consentimento ou sobre os seus direitos como participante da pesquisa, favor entrar em contato com:

Comitê de Ética em Pesquisa da Maternidade Climério de Oliveira
Rua do Limoeiro, 137 - Nazaré, Salvador - BA,
CEP 40055-150 Salvador, Bahia.
Telefone: (71) 3283- 9275 – Fax: 3283-8141

PÁGINA DE ASSINATURAS

Se você leu o termo de consentimento apresentado acima e concorda em participar do Estudo, por favor, assine abaixo. Você receberá uma cópia.

_____
Nome do (a) participante.

_____ *Data* __ / ___ / _____
Assinatura do (a) participante. dia mês ano

_____
Nome do representante legal do participante.

_____ *Data* __ / __ / _____
Assinatura do representante legal do participante dia mês ano

_____
Nome da pessoa que obteve o consentimento.

_____ *Data* __ / __ / _____
Assinatura da pessoa que obteve o consentimento. dia mês ano

_____
Nome da testemunha imparcial, se necessário.

_____*Data* __ / __ / _____
Assinatura da testemunha imparcial se necessário, dia mês ano