

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS  
Curso de Especialização em Análises Clínicas e Toxicológicas

**PRISCILLA BARBOSA RESENDE**

**Marcadores Sorológicos do HIV:**

Avaliação e Prognóstico do Imunocomprometido

**Belo Horizonte**

**2013**

PRISCILLA BARBOSA RESENDE

**Marcadores Sorológicos do HIV:**

Avaliação e Prognóstico do Imunocomprometido

Monografia apresentada ao Curso de Especialização da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial para obtenção de título de Especialista em Análises Clínicas e Toxicológicas.

Orientador: Jenner Karlisson Pimenta dos Reis

**Belo Horizonte**

**2013**



## FOLHA DE APROVAÇÃO

### “MARCADORES SOROLÓGICOS PARA O HIV: AVALIAÇÃO E PROGNÓSTICO DO IMUNOCOMPROMETIDO”

**PRISCILLA BARBOSA RESENDE**

Monografia apresentada e aprovada em 11/10/2013 pela Comissão

Examinadora constituída pelos seguintes membros:

Prof. Dr. Jenner Karlisson Pimenta dos Reis (Orientador)

Departamento de Medicina Veterinária Preventiva – Escola de Veterinária

– UFMG

Fernanda Gonçalves de Oliveira (Examinadora)

Mestre em Ciência Animal – Escola de Veterinária – UFMG

R433m Resende, Priscilla Barbosa.  
Marcadores sorológicos do HIV: avaliação e prognóstico do  
imunocomprometido / Priscilla Barbosa Resende. – 2013.  
28 f. : il.

Orientador: Prof Jenner Karlisson Pimenta dos Reis.  
Monografia apresentada ao Curso de Especialização em  
Análises Clínicas e Toxicológicas da Faculdade de Farmácia da  
Universidade Federal de Minas Gerais como requisito parcial à  
obtenção do certificado de Especialista em Análises Clínicas e  
Toxicológicas.

1. HIV (Vírus). 2. AIDS (Doença). 3. Marcadores sorológicos. 4.  
Prognóstico. I. Reis, Jenner Karlisson Pimenta dos. II. Universidade  
Federal de Minas Gerais. Faculdade de Farmácia. IV. Título.

CDD 616.925

## **Agradecimentos**

Agradeço a Deus, pela sustentação e coragem para seguir em busca da minha realização profissional. Aos meus pais Glória e Wilson, por serem os maiores incentivadores dos meus sonhos, meus exemplos de persistência e determinação.

As minhas mães de coração vó Iricê e tia Leila pela compreensão e carinho dedicados durante toda essa trajetória. Aos meus tios Vânia e Carlos pelo cuidado e incentivo.

Ao professor Jenner pela dedicação, respeito e profissionalismo. Aos amigos Camila, Vanessa, Juma, Paula, Marleide e Clayton pelos lindos momentos compartilhados. Ao Bruno pelo amor, paciência e dedicação durante toda essa fase.

Sigo com a certeza em meu coração de que esse é apenas mais um sonho realizado!

## Resumo

O Vírus da Imunodeficiência Humana (HIV) é o agente causador da síndrome da imunodeficiência adquirida (AIDS), doença crônica caracterizada pela imunossupressão. Segundo o Ministério da Saúde, o curso clínico da doença pode ser dividido em três fases distintas: aguda, crônica e AIDS, sendo a fase crítica precedida por uma longa fase assintomática. Seu diagnóstico laboratorial é realizado pela detecção de anticorpos anti-HIV e pela presença de anticorpos específicos contra as proteínas fracionadas do vírus. Desde a sua descoberta na década de 80, o monitoramento dos soropositivos tem sido realizado pela dosagem da carga viral e a quantificação de Linfócitos T CD4+. A avaliação de imunocomprometidos durante todo o curso clínico da doença revelou que o HIV não só promove a destruição de LTCD4+ mas também ocasiona um desequilíbrio de citocinas inflamatórias e ativação exacerbada do sistema imunológico. Sendo assim, a detecção de marcadores séricos de ativação da resposta imune, como  $\beta$ 2-microglobulina ( $\beta$ -2 m), neopterinina e o ativador solúvel do receptor de plasminogênio (Supar), podem guardar grande correlação com a evolução da doença, uma vez que níveis elevados desses marcadores foram encontrados em pacientes na fase sintomática. Os retrovírus, por mecanismos ainda não elucidados, reduzem as concentrações dos supressores virais como interferons do tipo I (IFN- $\alpha$  e IFN- $\beta$ ) e Interleucina-10 (IL-10) e favorece os indutores virais IL-6, IL-15, IL-1 e fator de necrose tumoral- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) contribuindo assim para o estabelecimento da AIDS. Níveis elevados das interleucinas- 6 e 10 foram encontrados em pacientes em estado terminal podendo ser considerados importantes marcadores séricos do prognóstico da doença. Apesar desses marcadores terem sido relatados em um grande número de estudos, é necessária a realização de mais pesquisas a fim de comprovar a eficácia dessas substâncias como indicadoras da condição clínica do imunocomprometido. Além disso, é preciso que sejam realizadas a validação de métodos analíticos e o estabelecimento de parâmetros de referência.

**PALAVRAS CHAVE:** HIV; Marcadores Sorológicos; Prognóstico.

## Abstract

The Human Immunodeficiency Virus (HIV) is the causative agent of acquired immunodeficiency syndrome (AIDS), a disease characterized by chronic immunosuppression. According to the Ministry of Health, the clinical course of the disease can be divided into three distinct phases: acute, chronic, and AIDS and the critical phase preceded by a long asymptomatic phase. The laboratory diagnosis is performed by detecting antibodies against HIV and the presence of specific antibodies against the fractionated proteins of the virus. Since its discovery in the beginning of 80s monitoring of HIV positive patients has been accomplished by measuring viral load and quantification of CD4+T lymphocytes. The evaluation immunocompromised throughout the clinical course of HIV disease has revealed that virus not only promotes the destruction of CD4+ but also causes an exacerbated imbalance inflammatory cytokines and activation of the immune system. Thus, the detection of serum markers of activation of the immune response as  $\beta$ 2-microglobulin ( $\beta$  2-m), neopterin and soluble receptor activator of plasminogen (Supar) can show large correlation with disease progression, since elevated levels of these markers were found in patients in the symptomatic phase. The HIV by mechanisms not yet elucidated reduces the concentration of viral suppressors like type I interferons (IFN- $\alpha$  and IFN- $\beta$ ), and interleukin-10 (IL-10) and promotes viral inducers like IL-6, IL-15, IL -1 and tumor necrosis factor-alpha (TNF- $\alpha$ ) thus contributing to the establishment of AIDS. Elevated levels of interleukin-6 and interleukin -10 were found in terminally ill patients and might be considered important serum markers of prognosis. Although these markers have been reported in a large number of studies, it is still necessary to conduct more research to prove the effectiveness of these substances as indicators of the clinical condition of the immunocompromised. In addition, they must be validated to validate analytical methods and the establishment of benchmarks.

KEY WORDS: HIV; Serologic Markers; Prognosis.

## Lista de Siglas

AIDS	Síndrome da Imunodeficiência Adquirida
AZT	Zidovudina
CDC	<i>Centers for Disease Control</i>
FIV	Vírus da Imunodeficiência dos felinos
CDC	<i>Centers for Disease Control</i>
IL	Interleucina
IgM	Imunoglobulina M
IgG	Imunoglobulina G
LTCD4+	linfócitos T CD4+
LTCD8+	Linfócitos T CD8+
MBL	Lecitina ligante de manose
PAMPs	Padrões Associados a Patógenos
RRP	Receptor de Reconhecimento de Padrões
SIV	Vírus da imunodeficiência dos símios
TLR7/8	<i>Toll- Like Receptor 7/8</i>
DC-SIGN	Molécula de adesão intercelular específica de células dendríticas

## **Lista de Figuras**

**Figura 1:** Fases Clínicas da Infecção pelo HIV- progressão para AIDS

**Figura 2:** Ciclo de Replicação viral

**Figura 3:** Concentração de marcadores no plasma x Semana após infecção

## Sumário

<b>1. INTRODUÇÃO .....</b>	<b>11</b>
<b>2. Histórico da Doença .....</b>	<b>13</b>
<b>3. REPLICAÇÃO DO VÍRUS E CÉLULAS ENVOLVIDAS .....</b>	<b>14</b>
<b>4. RESPOSTA IMUNE INATA .....</b>	<b>16</b>
<b>5. RESPOSTA IMUNE ADAPTATIVA .....</b>	<b>17</b>
<b>6. MARCADORES SOROLÓGICOS.....</b>	<b>18</b>
<b>7. MARCADORES DE FASE AGUDA .....</b>	<b>20</b>
<b>8. MARCADORES DE FASE CRÔNICA .....</b>	<b>21</b>
<b>9. CONSIDERAÇÕES FINAIS .....</b>	<b>24</b>
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>26</b>

## 1. INTRODUÇÃO

O vírus da Imunodeficiência Humana (HIV, do inglês, *Human Immunodeficiency Virus*), é um retrovírus da família *Retroviridae*, responsável pela Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (AIDS), doença crônica caracterizada pela imunossupressão.

Segundo o Ministério da Saúde (BRASIL, 2012a), o curso clínico da doença pode ser dividido em três fases distintas: aguda, crônica e AIDS (Figura 1). Após a transmissão viral é observado um período de incubação que pode variar de 3 a 6 semanas, caracterizado pela ausência de sintomas e carga viral imperceptível em exames laboratoriais (BRASIL, 2011b).

Semanas após o contato com o vírus, é possível encontrar no soro marcadores que determinam o início da infecção. O primeiro a ter seu aparecimento relatado é o RNA viral, seguido pela proteína p24 do capsídeo viral. O aparecimento tardio das imunoglobulinas IgM e IgG marcam o fim da janela imunológica e o início da fase aguda (BUTTO, 2010).

Caracterizada por intensa replicação viral e queda nos níveis de linfócitos T CD4+ (LTCD4+), a fase aguda pode ser confundida com um simples resfriado, devido aos sintomas inespecíficos apresentados. A intensa resposta imunológica, com aumento de Linfócitos T CD8+ e a produção de anticorpos específicos, promovem a estabilização da replicação viral e a restauração parcial nos níveis de LT CD4+ (MATTE, 2012).

A evolução do quadro infeccioso inicial provoca o aparecimento de uma longa fase assintomática (crônica), caracterizada pela diminuição lenta dos níveis de LTCD4+. Sua duração varia entre os indivíduos portadores da doença podendo atingir de 5 a 9 anos (LAZZAROTTO, 2010).

Quando os níveis de LTCD4+ atingem valores menores que 200 células/mm<sup>3</sup> o sistema imunológico não consegue mais conter a infecção, levando ao aparecimento de doenças oportunistas (MATTE, 2012). Instala-se então a última fase da doença, a AIDS, marcada por uma piora brusca no quadro

clínico do paciente e surgimento de infecções como criptococose, candidíase, meningite, além de alterações neurológicas (LAZZAROTTO, 2010).

O diagnóstico laboratorial é realizado através da detecção de anticorpos anti-HIV pelo método de ELISA, sendo confirmado pela pesquisa de anticorpos específicos para as proteínas fracionadas do vírus através do ensaio conhecido como Western blot. Depois de instalada a infecção, a dosagem da carga viral e contagem de linfócitos TCD4+ são os exames mais utilizados para avaliação e monitoramento da evolução da doença, além de permitir ao médico determinar o momento oportuno para iniciar o tratamento com antirretrovirais (PEREIRA, 2012).

Estudos tem demonstrado que além da destruição de LTCD4+, o HIV promove um desequilíbrio em citocinas inflamatórias, que estariam diretamente relacionadas com o aumento da viremia e evolução para fase sintomática (TASCA, 2012). O acompanhamento de pacientes imunocomprometidos durante a evolução da infecção permitiu observar uma indução exacerbada da resposta Th1, avaliada pela presença dos marcadores séricos  $\beta$ 2-microglobulina, neopterin e Supar. Foram relatados também o aumento de interleucinas IL-4 e IL-10, que diminuem a resposta específica e favorecem o aparecimento de infecções oportunistas (TASCA, 2012). Outro fator importante foi a concentração elevada de IL-17 e TNF-  $\alpha$  que estariam envolvidos com a inibição da apoptose celular e aumento da viremia (KORN, 2007).

Sendo assim, uma melhor compreensão dos mecanismos envolvidos na evolução da doença e a determinação de marcadores biológicos relacionados à multiplicação viral e ativação do sistema imune permitirá determinar o momento adequado para iniciar a terapia medicamentosa, proporcionando ao imunocomprometido uma maior perspectiva de vida. Apesar do número elevado de estudos sobre o assunto, ainda não foi possível determinar exatamente todo o processo e todas as células e moléculas envolvidas no desenvolvimento da AIDS, sendo necessária a realização de mais pesquisas neste campo.

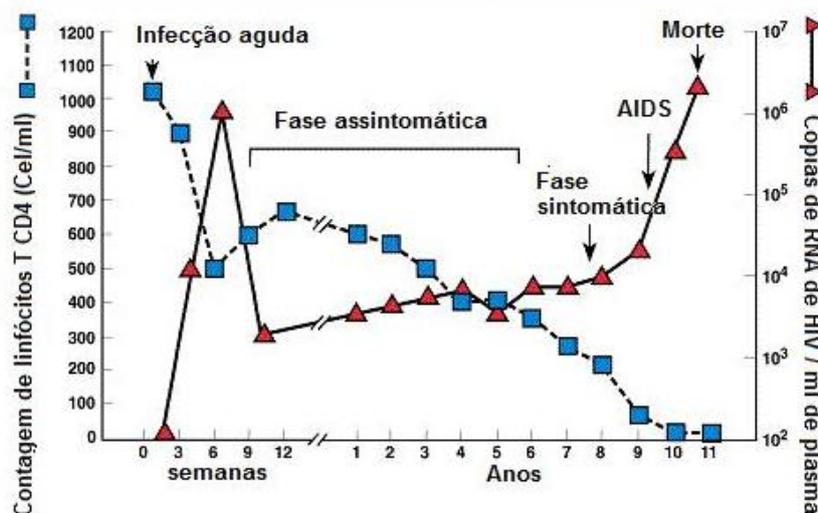


Figura 1: Fases Clínicas da Infecção pelo HIV- progressão para AIDS

Fonte: (ANS, 2010)

## 2. HISTÓRICO DA DOENÇA

Em 1981, foram relatados pela CDC (*Centers for Disease Control*) os primeiros casos clínicos de AIDS, numa população de homossexuais nos Estados Unidos. Pouco tempo depois, em 1983, a ocorrência da doença já havia sido registrada em 33 países, inclusive no Brasil (MEDEIROS, 2012).

O agente etiológico foi isolado pela primeira vez no Instituto Pasteur em Paris (1983) pelo infectologista americano Robert Charles Gallo. Tratava-se de uma partícula viral com aproximadamente 110 nanômetros, formada por duas fitas de RNA (ácido ribonucléico), envoltas por uma cápsula proteica, sendo mais tarde classificado como HIV-1 (JIMENEZ, 2011).

Em 1986, na África, durante a realização de testes sorológicos para a confirmação da doença, descobriu-se uma nova partícula viral capaz de causar imunossupressão grave em humanos. Devido a grande semelhança estrutural do vírus, o mesmo foi classificado como HIV-2, ficando os casos infecciosos relacionados a este vírus mais restritos ao território africano (JIMENEZ, 2011).

A introdução da terapia com antirretrovirais iniciou-se em 1987, com o uso de Zidovudina (AZT), sendo mais tarde substituída pela associação de

medicamentos que atuam em fases diferentes do ciclo viral (BRASIL, 2011a). Diante da epidemia que se alastrava no país, e o alto custo da medicação para o tratamento da AIDS, o governo brasileiro, em 1994 iniciou a produção nacional das formas genéricas de antirretrovirais (BRASIL, 2011a).

Desde a sua descoberta na década de 80, já são 34 milhões de pessoas vivendo com HIV no mundo, sendo a África subsaariana a região mais afetada, 1 caso a cada 20 adultos saudáveis. No Brasil, a AIDS acomete em maior número indivíduos do sexo masculino (65,84%), em idade reprodutiva e economicamente ativa. A maior concentração de soropositivos está registrada no estado de São Paulo, sendo o mesmo, responsável por 25% do total de casos notificados no país, fato que pode ser explicado pela grande densidade populacional do estado (UNAIDS, 2012).

### **3. REPLICAÇÃO DO VÍRUS E CÉLULAS ENVOLVIDAS**

O ciclo replicativo do HIV (Figura 2) inicia-se através de interações moleculares entre o receptor CD4+ celular e a gp120 do vírus, promovendo uma mudança conformacional nas regiões variáveis 1, 2 e 3 desta glicoproteína. Ocorre uma reorientação da região V3 promovendo a sua ligação com correceptores celulares denominados CCR5 e CXCR4 (STURMER, 2009). Depois dessas interações a gp41 insere o peptídeo de fusão na membrana celular do hospedeiro. As regiões virais HR1 e HR2 se unem por pontes dissulfeto, promovendo a fusão entre as membranas viral e celular, e a entrada do capsídeo viral (FANALES- BELASIO, 2010).

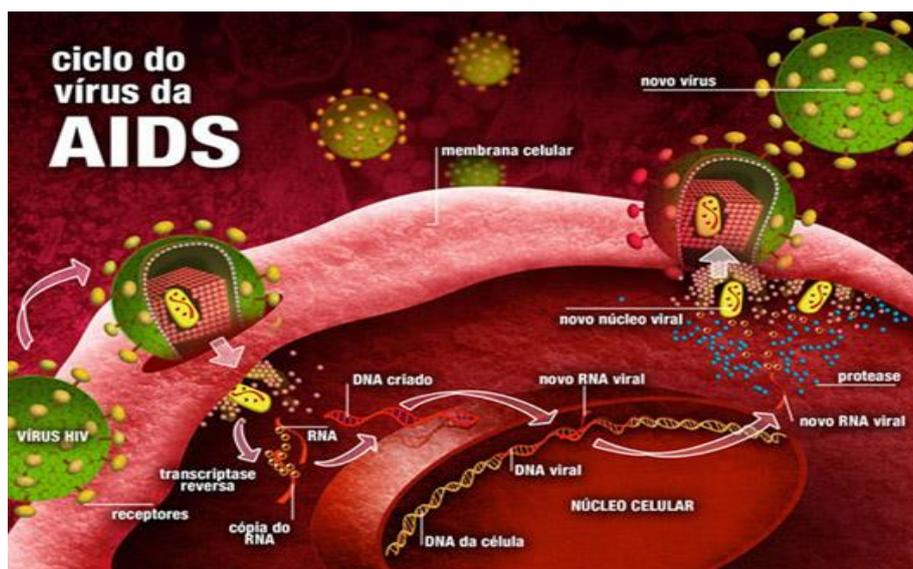
Em seguida, o RNA viral é transcrito em DNA dupla fita pela enzima viral transcriptase reversa. A dupla fita complementar de DNA produzida migra para o interior do núcleo celular onde, sob a ação da integrase, é incorporada ao genoma celular, podendo permanecer em latência por muitos anos (MEDEIROS, 2012).

A expressão gênica do HIV passa a ser regulada por proteínas celulares e virais, sendo sintetizadas primeiramente *tat*, *rev* e *nef*. A transcrição das fitas

de RNA é estimulada pela proteína *tat*, sendo depois transportadas pela *rev* até o citoplasma celular. No citoplasma, os RNAs mensageiros virais são traduzidos levando a síntese das proteínas *vif*, *vpr*, *nef*, *gag* e *gag-pol*. A partir dessas proteínas formadas constituem-se a matriz protéica, capsídeo viral, nucleocapsídeo e enzimas fundamentais, como protease, transcriptase reversa e integrase da partícula viral (FANALES- BELASIO, 2010).

As proteínas do envelope, gp120 e gp41, são formadas no retículo endoplasmático a partir da expressão do gene *env* e transportadas até o citoplasma celular pelo receptor CD4+. Ao final deste evento, a expressão deste receptor é diminuída pela ação do gene *vpu*, fenômeno conhecido por “*downregulation*”. Além disso, esse mesmo gene promove a desativação de proteínas de superfície celular da classe MHC e a liberação de partículas virais (MEDEIROS, 2012).

A partícula viral imatura é formada, sendo constituída por um envelope glicoprotéico, duas fitas de RNA e proteínas virais. No citoplasma celular, o vírus sofre sucessivas clivagens pela ação de uma enzima da família aspartilproteases, levando a formação de subunidades proteicas e ao amadurecimento viral. Após o brotamento o vírus é liberado para o meio extracelular, podendo infectar outros LT CD4+ (MEDEIROS, 2012).



**Figura 2:** Ciclo de Replicação viral

**Fonte:** (FIOCRUZ, 2008).

#### 4. RESPOSTA IMUNE INATA

O sistema imunológico é constituído por duas linhas de defesa classificadas em imunidade inata e imunidade adaptativa. Apesar das células envolvidas serem distintas nos dois mecanismos, ambos se complementam para eliminação do patógeno (MEDEIROS, 2012).

A imunidade inata é a primeira linha de defesa do organismo sendo ativada através da interação de Padrões Moleculares Associados a Patógenos (PAMPs) com Receptores de Reconhecimento de Padrões (PRRs). Esses receptores não apresentam grande variabilidade no reconhecimento de patógenos, apenas são ativados por padrões moleculares programados pelo código genético humano. São encontrados em diversos locais no organismo, como por exemplo, o *Toll- Like Receptors* (TLRs) receptores presentes em superfícies celulares e em compartimentos endossomais, ao nível citoplasmático NOD- like e proteínas circulantes como defensinas e a lecitina ligante de manose (MBL) (CRUVINEL, 2010; LORENZI, 2011). O reconhecimento do HIV pelo sistema imune inato ocorre através da interação da molécula de adesão intercelular específica de células dendríticas (DC-SIGN) com a gp 120 e pelo reconhecimento do material genético do vírus pelo *Toll- Like Receptor 7/8* (TLR7/8) (BAENZIGER, 2009; MOGENSEN, 2010).

Após essas interações, são acionadas cascatas intracelulares que levam a transcrição e a expressão de citocinas, quimiocinas e moléculas co-estimulatórias., sendo TNF-  $\alpha$ , IL-1 IFN-  $\alpha$ , IFN-  $\beta$ , IL-10, IL- 6 e IL-15 as principais citocinas envolvidas na resposta ao HIV. Essas proteínas secretadas ativam mecanismos que provocam a eliminação do patógeno, como a opsonização, fagocitose, sistema complemento e cascata de coagulação (MEDEIROS, 2012).

O reconhecimento do HIV pelo sistema imunológico é feito inicialmente pela interação da glicoproteína de superfície gp 120 com receptor circulante MBL-2 . Essa interação provoca uma mudança conformacional e ativação das serinoproteases MASP-1 e MASP-2, levando a clivagem de C4 e C2 e a formação de C3 convertase (C4b2b). O complexo formado irá clivar C3 e a

porção C3b irá se unir a C4b2b formando C5 convertase que irá promover a clivagem de C5. C5b vai se juntar ao complexo através de uma ligação não covalente, o que permitirá que o mesmo se ligue a C6 e C7. C5b,6,7 irá formar um receptor na membrana do vírus, no qual irá se ligar à última proteína do complemento C9, levando a formação de um complexo de ataque à membrana (MAC). O poro formado provocará um desequilíbrio osmótico e eletrolítico levando a lise celular (CRUVINEL, 2010).

## **5. RESPOSTA IMUNE ADAPTATIVA**

A resposta imune adaptativa é um mecanismo de defesa específico que envolve a ativação da memória imunológica. Ocorre principalmente nas fases avançadas da doença tendo o efeito duradouro como característica principal. São conhecidos dois mecanismos de resposta imune adaptativa, uma humoral e outra celular sendo a forma de combate ao patógeno a principal diferença entre eles (MATTE, 2012).

A imunidade humoral é caracterizada pela produção de anticorpos a partir das células B do sistema imunológico. Na infecção pelo HIV, ocorre a produção de grande quantidade destas células de defesa, direcionadas principalmente contra os antígenos virais e autoanticorpos. Durante a fase inicial são produzidos anticorpos neutralizantes direcionados a glicoproteínas do envelope e anticorpos fixadores de complemento, ambos com capacidade de promover o clareamento plasmático e estimular a entrada do vírus nas células dendríticas do centro germinativo dos linfonodos. À medida que ocorre o avanço da infecção, a ação neutralizante dos anticorpos é reduzida, não havendo mais uma resposta imune significativa (LORENZI, 2011).

Enquanto a resposta humoral é realizada principalmente por anticorpos, a resposta celular envolve um complexo maior de células e citocinas inflamatórias. Durante a infecção aguda ocorre a ativação da resposta T citotóxica contra diversas proteínas virais, mediada pelos LT CD4+ e LT CD8+. Por mecanismo ainda não elucidado, as células T CD8+ são capazes de

exercer atividade supressora durante a replicação do HIV (MARCELINO, 2011).

O papel das células T CD4+ na resposta imune é dependente do estímulo de citocinas. São produzidas duas respostas diferenciadas Th1 e Th2. A Th1 é uma resposta essencialmente celular, caracterizada pela produção de IL-2 e interferon-gama dependentes de IL-10. Já a Th2, associada à resposta humoral, promove a produção de IL-4, IL-5 e IL-6 dependentes de IL-12. Na infecção pelo HIV inicialmente tem-se como resposta protetora Th-1, sendo substituída, no decorrer da doença, pela resposta tipo Th-2. Além dos linfócitos, os macrófagos e monócitos exercem um papel fundamental na defesa contra o agente infeccioso. Porém, na AIDS, estas células apresentam suas atividades alteradas, comprometendo assim toda a resposta imunológica (LIMA, 1996).

Mesmo com todo esse sistema de defesa, o HIV não consegue ser eliminado do organismo. Esse fato pode ser explicado pela redução de linfócitos durante o clareamento plasmático, mutações ocorridas durante a replicação do vírus e resposta celular inadequada (LIMA, 1996).

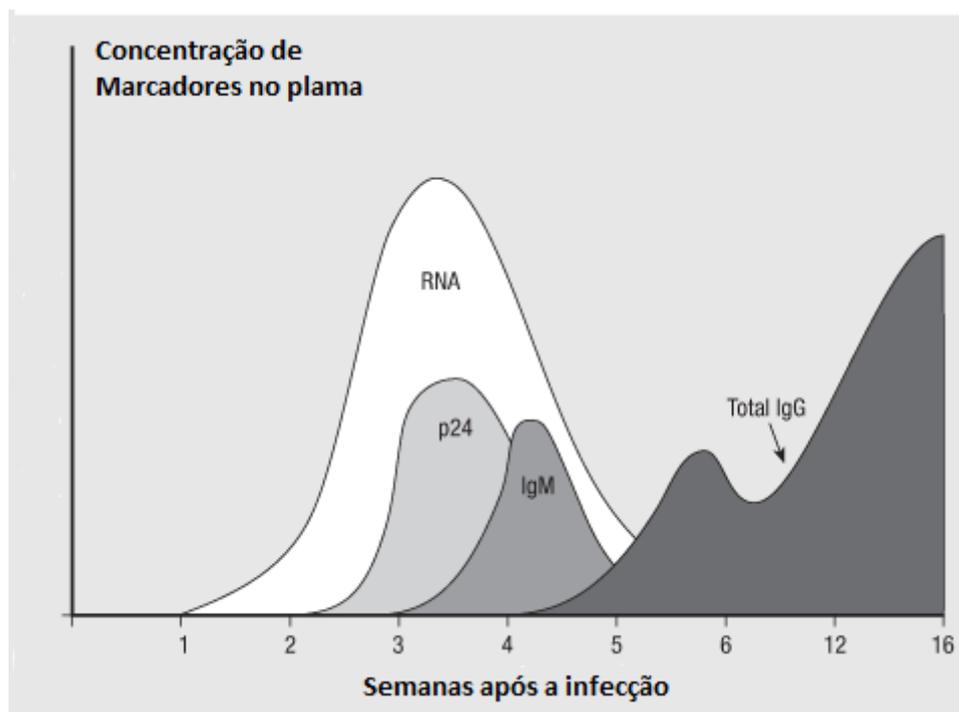
## **6. MARCADORES SOROLÓGICOS**

A avaliação do curso da infecção pelo HIV pode ser monitorada pelo aparecimento de marcadores imunológicos e virológicos específicos em dosagens laboratoriais (Figura 3). A cinética de detecção é variável entre os indivíduos, estando diretamente relacionada com a resposta imunológica do organismo ao vírus (FANALES-BELASIO, 2010).

O RNA viral é um marcador precoce da infecção pelo HIV, sendo possível quantificá-lo em dosagens laboratoriais duas semanas após o contágio. Seus títulos tendem a ser elevados nos primeiros meses da infecção podendo chegar a 1 milhão de cópias/mL de plasma /mês. Após a estimulação do sistema imunológico, a replicação do vírus é controlada, reduzindo os títulos de RNA viral a um valor constante, conhecido como ponto de ajuste (BUTTO, 2010).

Após um mês e meio de infecção, o antígeno do capsídeo viral (p24) pode ser detectado no sangue, fato que pode ser justificado pela baixa sensibilidade do método utilizado quando comparado à amplificação do RNA. Esse marcador se mantém elevado principalmente nos primeiros meses de infecção (BUTTO, 2010).

A detecção de anticorpos específicos marca o fim da “janela imunológica” e classifica o indivíduo como soropositivo. O marcador de fase aguda (IgM) aparece nas três primeiras semanas da infecção, sendo o seu pico estabelecido entre a quarta e quinta semanas. Logo depois, os títulos desse anticorpo são reduzidos, marcando o aparecimento das IgGs. Porém, a identificação precoce de anticorpos IgGs anti-gp41 só é possível através da utilização de ensaios não comerciais altamente sensíveis (TOMARAS, 2008).



**Figura 3:** Concentração de marcadores no plasma x Semana após infecção

**Fonte:** (BUTTO, 2010).

## 7. MARCADORES DE FASE AGUDA

A avaliação e acompanhamento de pacientes na fase aguda da infecção pelo HIV tem se tornado um dos grandes desafios para os pesquisadores, uma vez que a soropositividade é diagnosticada tardiamente. Sendo assim, estudos com animais infectados por vírus relacionados ao HIV, por exemplo, (Vírus da imunodeficiência felina – FIV; vírus da imunodeficiência dos símios – SIV) têm sido utilizados para a melhor compreensão da evolução do quadro clínico em humanos. Esse fato pode ser justificado pela grande semelhança na imunopatogênese apresentada por felinos, símios e humanos quando infectados por esses vírus (ROCHE, 2013).

Apesar de apresentarem diferenças genéticas e nas vias de infecção, felinos e símios, quando infectados, apresentam uma diminuição global de células T CD4+, ativação exacerbada do sistema imunológico e desregulação de citocinas, achados laboratoriais comuns em seres humanos portadores do HIV (ROCHE, 2013).

Vários modelos de estudos com felinos, paralelo a monitorização de soropositivos demonstraram uma ativação de células T CD8+ durante o período de viremia, além de correlacionar esses achados com a sintomatologia da fase aguda. A presença do vírus determinou o aparecimento de células CD8 $\beta$ , CD62L e células T efectoras circulantes com atividade antiviral, demonstrando intensa atividade do sistema imunológico (GEBHARD, 1999; PAPAGNO, 2004). Sendo assim, a determinação de células T CD8+ associada a outros marcadores, como LTCD4+ podem fornecer informações mais precisas sobre o quadro clínico do infectado, permitindo assim uma melhor conduta médica.

Além da destruição de LT CD4+, o HIV provoca um desequilíbrio na rede de citocinas inflamatórias e supressores virais, como interferons do tipo I (IFN- $\alpha$  e IFN- $\beta$ ) e IL-10, além de favorecer os indutores virais IL-6, IL-15, IL-1 $\beta$  e fator de necrose tumoral –alfa (TNF- $\alpha$ ), que contribuem para o estabelecimento da AIDS (TASCA, 2012). Estudos realizados *in vitro* demonstraram uma produção aumentada de TNF- $\alpha$  em pacientes soropositivos, fato que pode ser explicado

pela ligação do fator de transcrição Kappa B nuclear (NF-KB) a região de repetição terminal longa LTR do vírus (TASCA, 2012).

Amancio et al (2013), ao avaliar pacientes imunocomprometidos com choque séptico, comprovou que citocinas inflamatórias como IL-6, IL-10 e o fator de estimulação de colônias GM-CSF são bons marcadores para avaliação e prognóstico de doentes. Além disso, demonstrou que níveis elevados de IL-6 estão associados com maior índice de mortalidade hospitalar, independente da doença de base (AMANCIO, 2013).

Níveis plasmáticos elevados de citocinas inflamatórias durante a fase aguda estão diretamente associados a picos de viremia, permitindo até mesmo estimar o momento em que a contagem de células CD4+ se encontra inferior a 350 células/mm<sup>3</sup> (ROBERTS, 2010). Segundo Sousa et al (2010) citado por Tasca (2012), essa fase também é caracterizada por um aumento na produção de IFN- $\gamma$  (citocina antiviral), e diminuição nos níveis de IL-4, conduzindo a reposta Th2. Sendo assim, uma avaliação rigorosa dessas quimiocinas permite uma melhor compreensão do quadro clínico do infectado e auxilia na conduta de um tratamento adequado (TASCA, 2012).

## **8. MARCADORES DE FASE CRÔNICA**

Durante o estágio inicial da infecção pelo HIV, o vírus atua diretamente sobre os tecidos linfoides do intestino provocando uma depleção acentuada de LTCD4+. Essa alteração promove, ao longo do tempo, uma ativação exacerbada do sistema imunológico levando a um aumento significativo do número de linfócitos T (NYAMWEYA, 2012). Estudos realizados com macacos infectados com (SIV) demonstraram uma grande correlação clínica entre a resposta imunológica elevada e a progressão rápida da infecção para a AIDS. Esse fato pode ser justificado pela permanência de um estado clínico saudável em macacos com carga viral elevada, e baixa ativação de linfócitos T, quando comparados à rápida progressão para doença encontrada em macacos com resposta imune intensa (HUNT, 2008).

Sendo assim, marcadores séricos da ativação do sistema imunológico têm sido utilizados para avaliar a progressão da infecção pelo HIV. Dentre os marcadores conhecidos, a beta-2-microglobulina ( $\beta$ -2 m), neopterinina e o ativador solúvel do receptor de plasminogênio (Supar) são os que guardam maior correlação com a evolução da infecção para AIDS (NYAMWEYA, 2012).

A beta-2-microglobulina constitui a cadeia leve do complexo de histocompatibilidade do tipo I (HLA), sendo encontrado em células nucleadas como os linfócitos. A neopterinina é um produto formado pela catabolização da guanina trifosfato (GTP) após a estimulação dos macrófagos pelo interferon gama. Essa substância tem a capacidade de promover a ativação da resposta imune do tipo I em seres humanos. Diferente dos outros marcadores, Supar é um receptor de glicoproteína encontrado em neutrófilos, macrófagos e células T ativadas (NYAMWEYA, 2012).

Na tentativa de correlacionar a presença desses marcadores com a progressão da AIDS, Nyamweya et al (2012) avaliaram o soro de pacientes infectados pelo HIV-1 e HIV-2 em diferentes estágios da doença, demonstrando níveis séricos elevados de  $\beta$ 2-m, neopterinina e Supar durante a fase sintomática. Além disso, soropositivos com dosagens elevadas de  $\beta$ 2-m e neopterinina no início do estudo apresentaram uma maior probabilidade de morte em 5 anos, comprovando assim, a grande utilidade dessas moléculas na avaliação do quadro clínico de imunocomprometidos.

Desde os primórdios da epidemia, a monitorização das células T CD4+ tem sido utilizada como parâmetro laboratorial no prognóstico da doença e indicador da predisposição a infecções oportunistas, além de permitir a avaliação da eficácia do tratamento e a necessidade de modificação da terapia antirretroviral. Porém esse marcador apresenta grande variabilidade nos indivíduos quando seus valores se encontram acima de 200 células / mm<sup>3</sup> de sangue, sendo sua dosagem pouca valorizada nas fases mais precoces da infecção (BRASIL, 2012b).

A replicação do HIV em todos os estágios da doença permitiu que a quantificação da carga viral se tornasse um dado laboratorial complementar na avaliação do quadro clínico do imunocomprometido. Sua quantificação é

realizada pela amplificação do material genético do vírus e o seu resultado é expresso em nº cópias do RNA/ mL de plasma. Quando comparados à quantificação de LTCD4+ e carga viral, os marcadores de ativação do sistema imune apresentam um custo inferior, sendo considerados promissores no acompanhamento de soropositivos (NYAMWEYA, 2012).

Além desses marcadores, a avaliação do perfil de citocinas inflamatórias no decorrer da infecção tem sido de grande importância clínica, uma vez que permite mensurar o grau de imunossupressão do organismo infectado. Clerici et al (1993) demonstraram que a redução de IL-2 e IFN- $\gamma$  e o aumento de IL-4 e IL-10 estão diretamente relacionados com a diminuição da resposta imune específica, fator que favorece o aparecimento de infecções oportunistas. Porém, segundo Sousa et al (2010) citado por Tasca (2012) a redução de IL-2 tem sido relatada apenas em pacientes infectados pelo HIV-1, o que poderia justificar a rápida evolução da doença nesses soropositivos.

Outro fator que contribui para a cronicidade da infecção é a fibrose dos tecidos linfoides induzida pelo fator de transformação de crescimento TGF- $\beta$ , uma vez que essa alteração interfere na apresentação e no reconhecimento do antígeno pelo sistema imune (ESTES, 2007).

Keting et al (2011) em seu estudo avaliaram 32 marcadores que poderiam estar envolvidos com a evolução clínica para AIDS. Porém a análise dos resultados em grupos de mulheres soropositivas em tratamento com viremia controlada, mulheres soropositivas sem tratamento e mulheres saudáveis demonstrou que a maioria dos biomarcadores testados não apresentou diferenças significativas nos três grupos avaliados. Apenas o fator de necrose tumoral- $\alpha$  (TNF-  $\alpha$ ), interferon- $\gamma$  e a contagem de LTCD4+ apresentaram correlação direta com os níveis elevados de viremia. Moléculas envolvidas com o crescimento e diferenciação de células epiteliais, endoteliais e fibroblastos teriam apresentado correlação positiva com a contagem de células TCD4+ circulantes no grupo de soropositivas em tratamento (POLI, 2011).

Apesar do número elevado de estudos que visam elucidar o processo de desenvolvimento da AICDS, ainda não ficou comprovado o envolvimento direto

de citocinas inflamatórias com o aparecimento da fase sintomática (TASCA, 2012).

## 9. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Desde a descoberta da AIDS na década de 80, os soropositivos têm sido monitorados pela contagem de LTCD4+ e quantificação da carga viral. Esses dois marcadores permitem ao médico determinar o momento oportuno para iniciar a terapia antirretroviral, além de fornecer dados importantes sobre o prognóstico da infecção (BRASIL, 2012b).

A avaliação de soropositivos ao longo do quadro infeccioso revelou que o vírus da imunodeficiência humana provoca não somente a destruição de LT CD4+, mas promove também uma ativação exacerbada do sistema imune e um desequilíbrio na rede de citocinas. Sendo assim, estudiosos têm correlacionado o aparecimento de marcadores de ativação do sistema imunológico, como  $\beta$ 2-m, neopterin e Supar e de citocinas inflamatórias IL-2, IFN- $\gamma$ , IL-4 e IL-10, com o avanço da doença (SOUZA, 2010).

Apesar desses marcadores terem sido relatados em um grande número de estudos, é necessária a realização de mais pesquisas a fim de comprovar a eficácia dessas substâncias como indicadores da condição clínica do imunocomprometido. Além disso, é preciso que sejam realizadas a validação de métodos analíticos e o estabelecimento de parâmetros de referência (ESTES, 2007; POLI, 2011; TASCA, 2012; NYAMWEYA, 2012).

A maior parte dos estudos publicados que visavam correlacionar e identificar biomarcadores envolvidos na progressão para AIDS foram realizados com uma amostragem pequena da população, inviabilizando assim, a determinação dessas substâncias como marcadores universais. Para se determinar um bom marcador é necessária à realização de longos estudos que compreendam uma amostragem populacional representativa de todos os continentes. Além do mais, é preciso avaliar se as substâncias analisadas, sofrem alterações em suas concentrações diante de outras condições clínicas

que não seja a infecção pelo HIV. Outro fator que limita a determinação desses marcadores é a grande variabilidade genética do vírus, distribuída de forma variável nas regiões (NEATON, 2010).

A descoberta desses novos marcadores representa um avanço da medicina laboratorial, permitindo um tratamento mais adequado ao portador do HIV e possivelmente o surgimento de vacinas ou medicamentos que contenham a evolução da doença.

**REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

AN, P. *et al.* **Host genes associated whit HIV Aids: advances in gene discovery.** Trend in Genetics, v. 26, n. 3, p. 119-131, 2010.

AMANCIO, R. T. **The Innate Immune Response in HIV/ AIDS Septic Shock Patients: A Comparative Study.** Plos One, v. 8, n.7, p. 68730-38.

BAENZIGER. S. *et al.* Triggering TLR7 in mice induces immune activation and lymphoid system disruption, resembling HIV-mediated pathology. Blood, v. 113, n.1, p. 377-88, 2009.

BISMARA, Beatriz Aparecida Passos. **Padronização de Técnicas Moleculares para o Estudo da Resistência a Drogas Antiretrovirais em Crianças Infectadas pelo Vírus da Imunodeficiência Humana Tipo 1 (HIV-1) Via Perinatal.** 2006. 166 f. Dissertação (Mestrado em Farmacologia) – Universidade Estadual de Campinas, Campinas.

BRASIL, Ministério da Saúde. **História da AIDS.** Brasília, DF, 2011a.

Disponível em: < <http://www.aids.gov.br/pagina/historia-da-aids>>. Acesso em 09 de julho de 2013.

BRASIL, Ministério da Saúde. **Aids no mundo do Trabalho.** Brasília, DF, 2012a. Disponível em: < <http://www.aids.gov.br/noticia/2012/aids-no-mundo-do-trabalho>>. Acesso em 25 de julho de 2013.

BRASIL, Ministério da Saúde. **Sintomas e fases da AIDS.** Brasília, DF, 2011b. Disponível em: < <http://www.aids.gov.br/pagina/sintomas-e-fases-da-aids>>. Acesso em 10 de julho de 2013.

BRASIL, Ministério da Saúde. **Principais marcadores laboratoriais e monitorização do tratamento.** Brasília, DF, 2012b. Disponível em: < [http://bvsmis.saude.gov.br/bvs/publicacoes/16contagem\\_celulasTCDA.pdf](http://bvsmis.saude.gov.br/bvs/publicacoes/16contagem_celulasTCDA.pdf)>. Acesso em 15 de julho de 2013.

BUTTO. S. *et al.* **Laboratory diagnostics for HIV infection.** Ann Its Super Sanità, v. 46, n.1, p. 24-33, 2010.

CLERICI. M. *et al.* **A Th1/Th2 switch is a critical step in etiology of HIV infection.** Imunno Today, v.14, n.1, p.107-111, 1993.

CRUVIVEL, W. M. *et al.* **Sistema Imunitário – Parte I Fundamentos da imunidade inata com ênfase nos mecanismos moleculares e celulares da resposta inflamatória.** Revista Brasileira de Reumatologia, São Paulo, v.50, n. 4, p. 434-61, 2010.

ESTES. J.D. *et al.* **Simian immunodeficiency virus-induced lymphatic tissue fibrosis is mediated by transforming growth factor beta 1 positive regulatory T cells and begins in early infection.** Journal infect diseases, v.195, n.1, p.551-61, 2007.

FANALES-BELASIO. E. **HIV virology and pathogenetic mechanisms of infection: a brief overview.** Ann Its Super Sanitá, v. 46, n. 1, p. 5-14, 2010.

FIOCRUZ. Cientistas anunciam resultado de substâncias candidatas a anti-retroviral, 2008. Disponível em : < <http://www.agencia.fiocruz.br/cientistas-anunciam-resultados-de-subst%C3%A2ncias-candidatas-a-anti-retroviral>> Acesso em: 13 de maio de 2013.

GEBHARD. D. H. *et al.* **Progressive expansion of an L- selection- negative CD8 cell With anti-feline immunodeficiency virus (FIV) suppressor function in the circulation of- FIV infected cats.** Journal infect Diseases, v. 180, n.1, p. 1503-13, 1999.

HUNT. P. W. *et al.* **Relationship between T cell activation and CD4+ T cell count in HIV- seropositive individuals with undetectable plasma HIV RNA levels in the absence of therapy.** Journal Infect Diseases, v. 197, n. 1, p. 126-33, 2008.

HAUT, Larissa. Herkenhoff. **Estudo da resposta imune contra o antígeno Gag de HIV-1 no trato genital feminino murino induzida pela administração de adenovírus recombinantes.** 2010. 161 f. Dissertação (Doutorado em Biotecnologia) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2010.

JIMENEZ, Javier Ramos. **Comparacion de los marcadores genéticos del VIH-1 asociados a resistência a los antirretrovirales em líquido cefalorraquideo y sangre periférica.** 2011. 70 f. Dissertação (Doutorado em

Medicina) – Faculdade de Medicina, Universidad Autonoma De Nuevo León, Monterrey, 2011.

KORN, T. *et al.* **IL- 21 initiates an alternative pathway to induce proinflammatory Th 17 cells.** Nature, v. 448, n. 1, p. 484-87, julho, 2007.

LAZARROTO, A. R. *et al.* **HIV/ AIDS e treinamento recorrente: a revisão sistemática.** Revista Brasileira de Medicina do Esporte, São Paulo, v.16, n.2, p. 149-54, Març/Abr, 2010.

LIMA, G. K. *et al.* **Evolução histórica da AIDS no município de Sobral, Ceará, Brasil, no período de 2004 a 2010.** Revista de Políticas Públicas de Sobral, Ceará, v.10, n.2, p. 50-56, jul/dez, 2011.

LIMA, A. L. M. **Perguntas e Respostas HIV/ AIDS.** 1 ed. São Paulo. Atheneu, 1996. 351 p.

LORENZI, J. C. *et al.* **Resposta Imune Contra infecções virais.** Scire Salutis Aquidabã, v.1, n.2, p. 35-44, 2011.

ROBERTS. L. *et al.* **Plasma cytokine levels during acute HIV-1 infection predict HIV disease progression.** AIDS, v.24, n.1, p. 819-31, 2010.

MARCELINO, José Maria. **Resposta humoral na infecção por VIH- 2: Impacto no diagnóstico, prevenção e evolução viral.** 2011. 228 f. Dissertação (Doutorado em Ciências Biomédicas) – Faculdade de Medicina de Lisboa, Universidade de Lisboa, Lisboa, 2011.

MATTE, Maria Cristina Cotta. **Influência dos genes HLA classe I na progressão para AIDS em indivíduos HIV positivos.** 2012. 89 f. Dissertação (Mestrado em genética e Biologia Molecular) – Instituto de Biociências, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2012

MEDEIROS, Rúbia Marília. **Avaliação de polimorfismos em genes envolvidos na resposta imune inata de pacientes infectados com HIV-1 e sua influência na progressão à AIDS.** 2012. 73 f. Dissertação (Mestrado em Genética e Biologia Molecular) – Instituto de Biociências, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2012.

MONGENSEN. T. H. **Innate immune recognition and activation during HIV infection.** *Retrovirology*, v.7, n.1, p. 54-73, 2010.

NEATON. J. M. *et al.* **Soluble biomarkers an morbidity and mortality among people infected with HIV: summary of published reporters from 1997-2010.** *Curr Opin HIV AIDS*, v.5, n. 6, p. 480-90, 2010.

NYAMWEYA, S. **Are plasma biomarkers of immune activation predictive of HIV progression: A longitudinal comparasion and Analyles in HIV-1 and HIV-2 infections.** *Plos One*, v. 7, n. 9, p. 4411- 22, 2012.

PAPAGNO. L. *et al.* **Imune activation and CD8+ T-cell differentiation towards senescence in HIV-1 infection.** *Plos Biology*, v, 12, n.2, p. 173-85, 2004.

POLI, G. **Old an new plasma biomarkers in HIV-1 – infected African – American women.** *AIDS*, v. 25, n. 1, p. 1921-23, 2011.

ROCHE. S. *et al.* **Diversity of trends of viremia an T-cell markers in experimental acute feline immunodeficiency virun infection.** *Plos One*, v.8, n.2, p. 56135- 44, 2013

SILVA, S. F. R. *et al.* **Aids no Brasil: Uma epidemia em transformação.** *Revista Brasileira de Análises Clínicas*, Rio de Janeiro, v. 32, n. 3, p. 209-12, 2010.

SOUSA. A. E. *et al.* **Citocinas e HIV - Revisão do tema através da análise a nível celular individualizado. II Congresso Virtual HIV/AIDS: Ontem, Hoje e Amanhã, 2011. apud TASCÁ. K. I. et al. Immunovirological parameters and cytokines in HIV infection.** *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, v. 45, n. 6, p. 663-69, 2012.

STURMER. M. *et al.* **Human immunodeficiency virus: 25 years of diagnostic and therapeutic strategies an their impact on hepatitis B and C virus.** *Medical Microbiology and Immunology*, v. 198, n. 3, p.147-55, 2009.

TASCA. K. I. *et al.* **Immunovirological parameters and cytokines in HIV infection.** Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, v. 45, n. 6, p. 663-69, 2012.

TOMARAS. G. D. *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 Virol, v. 82, n.1, p.12449-63, 2008.

UNAIDS, **Report on the global AIDS Epidemic 2012.** Disponível em: < [http://www.unaids.org/en/media/unaids/contentassets/documents/epidemiology/2012/gr2012/20121120\\_UNAIDS\\_Global\\_Report\\_2012\\_en.pdf](http://www.unaids.org/en/media/unaids/contentassets/documents/epidemiology/2012/gr2012/20121120_UNAIDS_Global_Report_2012_en.pdf) >. Acesso em 20 de abril de 2013.