



UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESTADO DO RIO DE JANEIRO – UNIRIO
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE - CCBS
INSTITUTO BIOMÉDICO - IB
DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGIA E PARASITOLOGIA – DMP

José Roberto Niemeyer de Castro

**Impacto da terapia antirretroviral na frequência de células T CD4⁺
foliculares circulantes em gestantes infectadas pelo HIV-1**

Rio de Janeiro
2017

José Roberto Niemeyer de Castro

**Impacto da terapia antirretroviral na frequência de células T CD4⁺
foliculares circulantes em gestantes infectadas pelo HIV-1**

Monografia apresentada à disciplina de Imunologia do Departamento de Microbiologia e Parasitologia do Instituto Biomédico para a obtenção do grau de bacharel em Biomedicina.

Orientador (a): Prof^a Dr^a Cleonice Alves de Melo Bento.

Coorientador (a): MSc. Clarice Monteiro Rodrigues Santos.

Rio de Janeiro

2017

FICHA CATALOGRÁFICA

De Castro, José Roberto Niemeyer

Impacto da terapia antirretroviral na frequência de células T CD4⁺ foliculares circulantes em gestantes infectadas pelo HIV-1/José Roberto Niemeyer de Castro – Rio de Janeiro: UNIRIO/IB, 2017.

XXI, 99p.

Monografia (Bacharel em Biomedicina) – Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro. UNIRIO. 2017.

Orientador (a): Cleonice Alves de Melo Bento

Coorientador (a): Clarice Monteiro Rodrigues Santos

1. Células T CD4⁺ foliculares. 2. Gestação. 3. HIV. 4. Citocinas. 6. Anticorpos

Trabalho realizado no Laboratório de Imunofisiologia e Imunopatologia dos Linfócitos T da Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro (UNIRIO), sob a orientação da Dr^a Cleonice Alves de Melo Bento e Coorientação da Doutoranda Clarice Monteiro Rodrigues Santos.

José Roberto Niemeyer de Castro

Impacto da terapia antirretroviral na frequência de células T CD4⁺ foliculares circulantes em gestantes infectadas pelo HIV-1

Monografia apresentada à disciplina de Imunologia do Departamento de Microbiologia e Parasitologia do Instituto Biomédico para a obtenção do grau de bacharel em Biomedicina.

Aprovado em: ____/____/____.

BANCA EXAMINADORA

Dr^a Rosa Maria Tavares Haido
Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro

MSc. Taissa de Matos Kasahara
Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro

Dr^a Carmen Saramago Soares de Meirelles
Universidade Federal do estado do Rio de Janeiro

Dr^a Cleonice Alves de Melo Bento – Orientadora
Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro

Dedico este trabalho à Deus, à minha família e aos meus queridos amigos que me ajudaram a chegar até aqui e a superar todas as provas. Em especial para minha mãe, irmã e para minha avó, que lá de cima, olhando por nós, saberá o quanto foi importante nessa trajetória.

AGRADECIMENTOS

Primeiro gostaria de agradecer a Deus que em sua grandeza e sabedoria me trouxe até aqui mesmo quando eu deixei de acreditar que seria possível.

Em especial gostaria de agradecer a minha mãe, a “leoa” que encarou o desafio de criar dois filhos sozinha e foi o alicerce dos meus dias até aqui. À minha irmã Nane, eterna cúmplice de todos os planos e que atura minhas manias. À minha avó Wilma que Deus a tenha na santa paz do Senhor. Amo muito vocês.

A minha orientadora Prof^a Dr^a Cleonice Bento por tudo o que fez por mim, por compartilhar o seu conhecimento conosco e por fazer a ciência mais divertida com seu bom humor. Não tenho palavras para agradecer o quanto está sendo importante para mim participar da família LILIT.

Agradeço à todas as meninas do laboratório que me ensinaram muito, não somente sobre os protocolos de bancada. Por cada brincadeira, cada risada e por toda a paciência comigo. À Priscila Sacramento e a Thaís, por seus espíritos iluminados e por tornarem os dias mais divertidos sempre com uma novidade interessante. À Priscila Barros, pela risada maravilhosa que é capaz de mudar o astral qualquer ambiente. À Taissa, por ser nosso braço direito e esquerdo de cada dia. À Joana, que sempre tem um sorriso bem humorado para todas as horas. À Lana, Aleida e Isa por toda vez que compartilhamos nossas dificuldades e vitórias durante a graduação. Ao Fabio Cachem, por me permitir ajudá-lo e aprender com a sua convivência. Aos nossos amigos e companheiros do curso de medicina Newton, Tati, Lely, Gabriel, Felipe, Cecília e Thais Portugal, por serem nossa força-motriz junto aos pacientes. Em especial, agradeço a Clarice, por todas as vezes que me ajudou quando precisei e por toda paciência comigo.

Aos amigos que fiz na universidade, que ao longo desses anos fizeram o termo “família Biomed” ser bem mais do que palavras. Vocês fizeram os dias difíceis mais leves e os comuns muito melhores a cada piada, a cada “zueira”. Ainda me lembro dos almoços no porão do CCH com marmitta de estrogonofe dia sim e dia também. De todas as reuniões do conhecimento de última hora antes de uma prova difícil. De todos os perrengues que resolvemos juntos e por todas as vezes que fomos mais do que uma turma de faculdade. Obrigado meus amigos.

Ao meu padrinho Max, por toda a ajuda que pôde nos dar e que me ajudou a chegar nesse momento. Muito obrigado por tudo que fez por nós no momento em que mais precisamos.

Aos anjos de terra do Centro Espírita Rita de Cássia, por toda a ajuda no momento em que mais precisamos da providência divina. Em especial a dona Clarice, por toda a gentileza com que fui tratado. Que o Senhor as abençoe sempre e às suas famílias.

A tia Deize, por ser o instrumento de Deus quando mais precisamos que Ele mostrasse sua misericórdia.

Aos meus mestres da UNIRIO, por esses cinco anos de graduação compartilhados com muita dedicação, cujos ensinamentos e o pensamento crítico me acompanharão pelo resto de minha vida e me fizeram um cientista e uma pessoa muito melhor.

Gostaria de agradecer a Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro, assim como todos os funcionários que cuidam de nós com o maior carinho e por tudo o que fazem por todos nós.

Agradeço as mulheres e as gestantes pela doação do sangue utilizado em nosso estudo.

As agências de fomento CAPES, FAPERJ e CNPq, pelo apoio financeiro que, sem ele, não conseguiria concluir este trabalho.

Se consegui chegar até aqui foi graças a todos vocês. Muito obrigado.

“Tu nos deixaste cair na armadilha; oprimiste as nossas costas; fizeste com que os homens cavalgassem sobre a nossa cabeça; passamos pelo fogo e pela água; porém, afinal, nos trouxeste para um lugar espaçoso.”

Salmo 66: 11-12.

RESUMO

O vírus da imunodeficiência humana (HIV)-1, por replicar-se intensamente nas células T CD4⁺ foliculares, ou T_{FH}, compromete a produção de anticorpos protetores. As células T_{FH}, encontradas principalmente nos folículos dos tecidos e órgãos linfoides secundários, têm como principal função ajudar os linfócitos B na resposta imune humoral de alta eficiência. Estudo recente publicado pelo nosso grupo demonstrou que a gestação favorece a expansão de células T_{FH} funcionais, identificada pela expressão de CXCR5, PD-1, ICOS e pela produção de IL-21. A frequência dessas células foi diretamente correlacionada aos títulos de IgG anti-HBsAg e os níveis sistêmicos de estrogênio. Diante do exposto, o objetivo desse trabalho foi avaliar o impacto da terapia antirretroviral (TARV) na frequência dessas células em gestantes infectadas pelo HIV-1. Paratanto, amostras de sangue de gestantes infectadas pelo HIV-1 (n=14) foram colhidas antes e depois da TARV. Como grupo controle, 19 gestantes saudáveis e HIV-1 negativas foram recrutadas para o estudo no último trimestre da gestação. As células T foram ativadas policlonalmente ou com os antígenos Env e Gag do HIV-1. A porcentagem das células T_{FH} circulantes foi avaliada através da citometria, enquanto os títulos de IgG anti-HBsAg e os níveis de hormônios foram determinados através da técnica ELISA. No presente estudo, mesmo após a introdução da TARV, o percentual das células T_{FH} totais, ou do subtipo PD-1⁺, foi inferior nas pacientes infectadas pelo HIV-1. A proporção dessas células capaz de produzir IL-21, IL-10, IFN- γ e IL-6 também foi menor nas pacientes quando comparada ao grupo controle. Apesar de a TARV ter elevado os títulos de IgG anti-HBsAg, seus níveis continuaram inferiores aos valores dosados nos plasmas das amostras controles. A concentração de estrogênio, apesar de ter sido inferior nas gestantes infectadas pelo HIV-1, foi diretamente associada a porcentagem de células T_{FH}IL-21⁺. Finalmente, o antígeno viral Env, favoreceu a expansão das células T_{FH} menos eficientes em produzir IL-21. Apesar de preliminares, esses achados sugerem que a infecção pelo HIV-1 não apenas compromete a função das células T_{FH}, como também, através de seus antígenos, favorece a expansão desse subtipo celular disfuncional, o que não é revertido pela TARV.

Palavras-chave: Células T CD4⁺ foliculares, gestação, HIV, citocinas, anticorpos.

ABSTRACT

The human immunodeficiency virus (HIV) -1, due to ability in replicating intensely in follicular helper CD4⁺ T cells, or T_{FH}, it compromises the production of protective antibodies. T_{FH} cells, found mainly in follicles of the tissues and secondary lymphoid organs, have as main function to help the B lymphocytes during highly efficiency humoral immune responses. A recent study published by our group has demonstrated that pregnancy favors the expansion of functional T_{FH} cells, identified by the expression of CXCR5, PD-1, ICOS markers and the production of IL-21. The frequency of these cells was directly correlated to anti-HBsAg IgG titers and systemic levels of estrogen. Here, the objective of this study was to evaluate the impact of antiretroviral therapy (ART) on the frequency of these cells in pregnant women HIV-1 infected. For this purpose, blood samples from pregnant women infected with HIV-1 (n = 14) were collected before and after ART. As control group, 19 healthy and HIV-1 negative pregnant women, in the last trimester of gestation, were also recruited. The T cells were activated *in vitro* with mytogen or HIV-1 Env and Gag antigens. The percentage of circulating T_{FH} cells was assessed by cytometry, while anti-HBsAg IgG titers and hormone levels were determined by the ELISA technique. In the present study, even after the introduction of ART, the percentual of total T_{FH} cells, or PD-1+ subset, was lower in HIV-1 infected patients. The proportion of these cells capable of producing IL-21, IL-10, IFN- γ and IL-6 was also lower in those patients as compared to the control group. Although the ART elevated the HBsAg IgG titres, the levels remained below the values measured in the plasma of the control samples. The concentration of estrogen, although it was lower in HIV-1-infected pregnant women, it was directly associated with the percentage of T_{FH} IL-21+ cells. Finally, viral antigen Env, favor the expansion of T_{FH} cells less efficient in producing IL-21. Although preliminary, these findings suggest that HIV-1 infection not only compromises the function of T_{FH} cells, but also, through its antigens, favors the expansion of a kind of dysfunctional follicular CD4⁺ T, which is not reversed by ART.

Key words: follicular CD4⁺ T cells, pregnancy, HIV, cytokines, antibodies

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1: Eventos envolvidos na diferenciação das principais células T CD4 ⁺ efetoras	27
Figura 2: Eventos envolvidos na diferenciação das principais células T CD4 ⁺ reguladoras	29
Figura 3: Geração de células B de memória e de plasmócitos dependentes das células T _{FH}	32
Figura 4: Taxa de detecção do HIV por 100 mil habitantes, segundo região de residência por ano de diagnóstico	35
Figura 5: Taxa de detecção de HIV em gestantes por mil nascidos vivos, segundo região de residência e ano do parto	36
Figura 6: Composição estrutural do HIV	37
Figura 7: Mecanismo de entrada do vírus HIV na célula hospedeira	39
Figura 8: Resumo da imunomodulação materna em decorrência dos hormônios gestacionais	57
Figura 9: Estratégia de confinamento das células T CD4 ⁺ CXCR5 ⁺ circulantes em gestantes infectadas pelo HIV-1	68
Figura 10: Impacto da terapia antirretroviral na porcentagem de células T CD4 ⁺ CXCR5 ⁺ periféricas produtoras de diferentes citocinas em gestantes infectadas pelo HIV-1	69

Figura 11: Estratégia de confinamento das células T CD4 ⁺ CXCR5 ⁺ de gestantes infectadas pelo HIV-1 em resposta a antígenos do HIV-1 antes e após a TARV	70
Figura 12: Impacto da terapia antirretroviral na percentagem de células T CD4 ⁺ CXCR5 ⁺ em resposta a antígenos do HIV-1 de gestantes infectadas pelo vírus	71
Figura 13: Estratégia de confinamento das células T CD4 ⁺ CXCR5 ⁺ circulantes em gestantes infectadas ou não pelo HIV-1	73
Figura 14: Impacto da infecção pelo HIV-1 na percentagem de células T CD4 ⁺ CXCR5 ⁺ periféricas durante a gestação	74
Figura 15: Impacto da infecção pelo HIV-1 nos níveis de IgG anti-HBs e nos níveis de estradiol e progesterona durante a gestação	75
Figura 16: Correlação entre a percentagem das células T _{FH} e os níveis plasmáticos de IgG anti-HBs, estradiol e progesterona em gestantes infectadas pelo HIV-1	76

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Grupos de antirretrovirais utilizados na terapia anti-HIV autorizados pelo Ministério da Saúde do Brasil	52
Tabela 2. Características das gestantes infectadas pelo HIV-1	67

LISTA DE ABREVIATURAS

3TC – Lamivudina
ABC - Abacavir
AHR - receptor de hidrocarboneto aromático
AIDS – síndrome da imunodeficiência adquirida
AP-1 - proteína ativadora 1
APC – célula apresentadora de antígenos
APV - Amprenavir
ATV - Atazanavir
AZT - Zidovudina
BATF – fator de transcrição de zíper de leucina
BCL - do inglês, B-cell lymphoma
BLIMP-1– do inglês, B lymphocyte-induced maturation protein-1
CAF – do inglês, Cell antiviral factor
CAF-L - ligante de CAF
CD – grupo de diferenciação
CMSP – células mononucleares do sangue periférico
CRF - células reticulares fibroblásticas
CTL, do inglês Cytotoxic T Lymphocyte
CTLA-4 - antígeno 4 associado ao linfócito T citotóxico
CVP - carga viral plasmática
DC – célula dendrítica
DC-SIGN - do inglês, Dendritic cell-specific intercellular adhesion molecule-3-grabbind non-integrin
ddl – Didanosina
DTG - Dolutegavir
DNA – ácido desoxirribonucleico
DRV - Darunavir
DST – doença sexualmente transmissível
E1 - Estrona
E2 - 17 β - estradiol
E3 - Estriol
EFZ - Efavirenz

ELISA - do inglês, Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay
FoxP3 - do inglês, X-linked Forkhead box P3
FPV - Fosamprenavir
GATA-3 - do inglês, Globin transcription factor-3
GM-CSF - fator estimulador de colônia de granulócitos e macrófagos
HBV – vírus da hepatite B
hCG - gonadotrofina coriônica humana
HCV – vírus da hepatite C
HIV – vírus da imunodeficiência humana
HLA – do inglês, Human leukocyte antigen
HRP – do inglês, horseradish peroxidase
ICOS – coestimulador induzível de célula T
ICOS L - ligante do coestimulador induzível de célula T
IDO - enzima indoleamina-2,3 dioxigenase
IDV - Indinavir
IFN – interferon
Ig - imunoglobulina
IL – interleucina
imDC – célula dendrítica imunogênica
INNTR - Inibidor da Transcriptase Reversa não nucleosídeos
INRT - Inibidor da Transcriptase Reversa nucleosídeos ou nucleotídeos
IO – ionomicina
IP - Inibidor de Protease
IRF4 – fator 4 regulador de interferon
iTreg – célula T regulatória induzida
LAG-3 - gene 3 de ativação linfocitária
LPV – Lopinavir
LT- β - linfoxina- β
LTR – do inglês, Long terminal repeats
mAbs - anticorpos monoclonais
MHC – complexo principal de histocompatibilidade
MVQ - Maraviroque
Nef - fator de regulação negativo
NFAT - do inglês, Nuclear Factor of Activated T-cells

NF- κ B - do inglês Nuclear factor κ B
NK – célula assassina natural
nTreg – célula T regulatória natural
NVP - Nevirapina
PAMP - padrões moleculares associados a patógenos
PD-1 - receptor de morte programada 1
PGE2 - prostaglandina E2
PIC - complexo nucleoproteico de pré-integração
PMA - acetato miristato de forbol
PRR - receptores de padrões associados a patógenos
RAL - Raltegravir
REV - proteína reguladora da transcrição viral
RNA – ácido ribonucleico
ROR γ t – do inglês, RAR-related orphan receptor gamma
RRE - elemento de resposta à Rev
RTV - Ritonavir
SamHD1 - do inglês, Sterile motif and histidine aspartic domain and HD domain-containing protein 1
SFB – soro fetal bovino
SQV - Saquinavir
STAT - transdutor de sinal e ativador de transcrição
T0 – período de tempo anterior ao início do tratamento
T1 – período de tempo posterior ao início do tratamento
T-20 - Efavertide
TAR – do inglês, Trans-activating response element
TARV – terapia antirretroviral
TCR - receptor de células T
TDF - Tenofovir
T_{FH} - linfócito T auxiliar folicular
TGF - fator transformador de crescimento
T_H – célula T helper ou do tipo auxiliadora
Tim-3 – do inglês, T-cell immunoglobulin mucin-3
TLR - receptores semelhantes a Toll
TMC-125 - Etraviripina

TNF – fator de necrose tumoral

TPV - Tipranavir

Tr1 - célula T regulatória do tipo 1

Treg – célula T regulatória

Vif - fator de infectividade viral

Vpu - proteína viral u

Vpr - proteína viral r

Vpx - proteína viral x

WHO – do inglês, World Health Organization

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	22
1.1 CONSIDERAÇÕES GERAIS	22
1.2 ATIVAÇÃO DAS CÉLULAS T CD4 ⁺ VIRGENS: ONDE TUDO COMEÇA	23
1.2.1 Linfócitos T _H 1	25
1.2.2 Linfócitos T _H 2	25
1.2.3 Linfócitos T _H 17	26
1.2.4 Linfócitos T _H 9 e T _H 22	28
1.2.5 Linfócitos T reguladores	28
1.2.6 Linfócitos T auxiliares foliculares	30
1.3 O VÍRUS DA IMUNODEFICIÊNCIA HUMANA (HIV)	34
1.3.1 Dados Epidemiológicos	34
1.3.2 HIV: Estrutura e Ciclo replicativo	36
1.3.3 Curso natural da infecção pelo HIV-1	40
1.3.3.1 Infecção Primária	40
1.3.3.2 Período de Latência Clínica	42
1.3.3.3 A Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (AIDS)	42
1.4 IMUNOPATOGENESE DA INFECÇÃO PELO HIV	43
1.4.1 Dinâmica viral e Resposta imune contra o HIV	43
1.4.2 Papel das citocinas inflamatórias na progressão clínica da AIDS	45
1.4.3 Fibrose nos tecidos e órgãos linfoides secundários e a AIDS	46
1.4.4 Distúrbios imunes na mucosa intestinal e progressão para a AIDS: Papel da translocação microbiana	48
1.4.5 Infecção pelo HIV-1 e as células T _{FH}	49
1.5 TERAPIA ANTIRRETROVIRAL	50
1.6 IMUNOMODULAÇÃO DO CICLO GESTACIONAL E O IMPACTO DA INFECÇÃO PELO HIV-1	53
1.6.1 Eventos iniciais da concepção	53
1.6.2 Imunomodulação materna pelos hormônios gestacionais	54

1.6.3	Infecção pelo HIV e gestação	58
1.6.3.1	Infecção materna pelo HIV-1 e a transmissão vertical	58
2.	OBJETIVOS	60
2.1	GERAL	60
2.2	ESPECÍFICOS	60
3.	MATERIAIS E MÉTODOS	61
3.1	PACIENTES	61
3.2	OBTENÇÃO E ESTIMULAÇÃO DAS CÉLULAS DO SANGUE PERIFÉRICO <i>EX VIVO</i>	61
3.3	OBTENÇÃO E ESTIMULAÇÃO DAS CÉLULAS MONONUCLEARES DO SANGUE PERIFÉRICO <i>IN VITRO</i>	62
3.4	ANÁLISE FENOTÍPICA POR CITOMETRIA DE FLUXO	62
3.5	DOSAGEM DOS HORMÔNIOS ESTROGÊNIO E PROGESTERONA	63
3.6	DOSAGEM DE ANTICORPOS IgG ANTI-HBs	64
3.7	ANÁLISES ESTATÍSTICAS	65
4.	RESULTADOS	66
4.1	CARACTERÍSTICAS DAS GESTANTES INFECTADAS PELO HIV-1	66
4.2	IMPACTO DA TARV NA FREQUÊNCIA DAS CÉLULAS T _{FH} CIRCULANTES DE GESTANTES INFECTADAS PELO HIV-1	67
4.3	IMPACTO DA TERAPIA ANTIRRETROVIRAL NA FREQUÊNCIA DAS CÉLULAS T _{FH} DE MEMÓRIA CIRCULANTES EM RESPOSTA AOS ANTÍGENOS DO HIV-1	70
4.4	COMPARAÇÃO DAS FREQUÊNCIAS DE CÉLULAS T _{FH} PERIFÉRICAS ENCONTRADAS EM MULHERES GRÁVIDAS INFECTADAS OU NÃO PELO HIV-1	72
4.5	IMPACTO DA INFECÇÃO PELO HIV-1 NA SÍNTESE DE ANTICORPOS E NOS NÍVEIS DOS HORMÔNIOS GESTACIONAIS	75
4.6	CORRELAÇÃO ENTRE A PORCENTAGEM DAS CÉLULAS T _{FH} E OS NÍVEIS PLASMÁTICOS DE IgG ANTI-HBs E DOS HORMÔNIOS GESTACIONAIS EM GESTANTES INFECTADAS PELO HIV-1	76
5.	DISCUSSÃO	77
6.	CONCLUSÃO	82
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	84

ANEXO A – CARTA DE APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA DA UNIRIO	117
ANEXO B – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO	119

1. INTRODUÇÃO

1.1 CONSIDERAÇÕES GERAIS

A resposta imune contra diferentes patógenos depende de interações complexas entre diferentes elementos celulares e humorais da imunidade natural e adaptativa (WAN & FLAWELL, 2009). Na dinâmica dessa resposta, no entanto, as células T CD4⁺ ocupam uma posição de destaque pela sua habilidade em coordenar todos os processos envolvendo ativação adequada das células do sistema imune inato e dos linfócitos T CD8⁺ e células B (VERBOOGEN *et al.*, 2016; WAN & FLAWELL, 2009). Portanto, qualquer evento capaz de modular o comportamento funcional das células T CD4⁺ tem, em diferentes níveis, impactos à saúde humana.

Recentemente um novo subtipo células T CD4⁺ presente nos folículos linfoides, conhecida como zona de células B, tem sido descrito e implicado na gênese do centro germinativo e na produção de anticorpos neutralizantes de diversos isotipos (CROTTY, 2015). Esses linfócitos, atualmente conhecidos como células T auxiliares foliculares, ou células T_{FH} (do inglês, *Follicular T Helper cells*), são capazes de sustentar todos os eventos relacionados à ativação e diferenciação das células B virgens em células de memória, assim como de plasmócitos de longa vida capazes de produzir outras classes de anticorpos, além da tradicional IgM, e de alta afinidade para com os seus respectivos antígenos (CROTTY, 2011; DE FRANCO, 2016; DE SILVA & KLEIN, 2015; PALLIKUTH; PARMIGIANI; PAHWA, 2012; SHULMAN *et al.*, 2013; TANGYE *et al.*, 2013).

Fenotipicamente as células T_{FH} devem obrigatoriamente expressar o receptor de quimiocina CXCR5 e produzir a interleucina (IL)-21 (PALLIKUTH; PARMIGIANI; PAHWA, 2012). A presença de marcadores adicionais tem sido associada com sua capacidade funcional, tais como o receptor de morte programada PD-1 (do inglês, *Programmed Death-1*) e a molécula coestimulatória induzível de células T (ICOS, do inglês *Inducible T-cell Costimulator*) (ONABAJO *et al.*, 2013). No sangue periférico, células T_{FH} de memória são encontradas e são capazes de auxiliar, *in vitro*, células B na produção de anticorpos (BENTEBIBEL *et al.*, 2013; LOCCI *et al.*, 2013). Diante desses achados, vários grupos de pesquisa têm se dedicado a estudar a biologia dessas células objetivando manipulá-las em favor da saúde humana, melhorando

respostas à vacinas e o controle de reações de hipersensibilidades mediadas por anticorpos (BENTEBIBEL *et al.*, 2013; LOCCI *et al.*, 2013; MONTEIRO *et al.*, 2017).

No contexto da infecção pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV, do inglês *Human Immunodeficiency Virus*)-1, com a introdução da terapia antirretroviral (TARV), a velocidade do crescimento da incidência do vírus no mundo vem caindo substancialmente, assim como a transmissão vertical em gestantes infectadas, melhorando o prognóstico dos indivíduos infectados pelo vírus (KHARSANY & KARIM, 2016). Entretanto, estudos recentes em pacientes imunologicamente capazes de controlar a replicação viral mesmo sem a terapia antirretroviral observaram uma expansão de células T_{FH} capazes de produzir IgG com habilidade de neutralizar diferentes isolados do vírus, revelando o importante papel do eixo T_{FH}/B em prevenir a progressão da doença para a Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (AIDS, do inglês *Acquired Immunodeficiency Syndrome*) (GRAFF-DUBOIS; ROUERS; MORIS, 2016; LOCCI *et al.*, 2013; MILES *et al.*, 2016; ONABAJO & MATTAPALLIL, 2013). De forma interessante, recente trabalho publicado pelo nosso grupo demonstrou que a gestação favorece a expansão dessas células (MONTEIRO *et al.*, 2017). Entretanto, nenhum estudo, até o momento investigou o impacto da TARV no status funcional das células T_{FH} em mulheres grávidas infectadas pelo HIV-1, sendo esse o principal objetivo do presente estudo.

1.2 ATIVAÇÃO DAS CÉLULAS T CD4⁺ VIRGENS: ONDE TUDO COMEÇA

No contexto de uma infecção primária no organismo, o desenvolvimento de uma resposta imune adquirida eficaz mediada pelas células T CD4⁺ contra diferentes patógenos depende da adequada ativação das células dendríticas (DC, do inglês *Dendritic cells*) locais. A eficiente ativação das DCs envolve o reconhecimento de diferentes padrões moleculares associados aos patógenos (PAMP, do inglês *Pathogen-associated molecular pattern*), através de receptores de padrões associados a patógenos (PRR, do inglês *Pattern Recognition Receptors*) expressos por estas células, tais como os membros da família de receptores do tipo Toll (TLRs, do inglês *Toll-like receptors*) (BRUBAKER *et al.*, 2015; ZUNIGA *et al.*, 2015). Nesse cenário, as DCs ativadas por PAMP, através de interações cognitivas e solúveis, se especializam em ativar linfócitos T CD4⁺ virgens, sendo conhecidas como DCs imunogênicas, ou imDCs. Para tanto, essas imDCs devem inicialmente

migrar do local de infecção em direção a zona de células T presentes nos tecidos e órgãos linfoides secundários regionais (VERBOOGEN *et al.*, 2016). Essa migração é dirigida por um gradiente de quimiocinas, CCL19 e CCL21 produzido nas zonas enriquecidas de células T, e depende da expressão de CCR7 pelas imDCs. Quando em contato com as células T CD4⁺ virgens, as imDCs deflagram diferentes sinais cognitivos e solúveis capazes de proporcionar uma ativação primária eficiente desses linfócitos (DUSTIN *et al.*, 2006; VERBOOGEN *et al.*, 2016).

O primeiro sinal fornecido pela imDC é a apresentação dos peptídeos antigênicos acoplados às moléculas HLA (do inglês, *Human Leukocyte Antigen*) de classe II, também conhecidas como moléculas do Complexo Principal de Histocompatibilidade (MHC, do inglês *Major Histocompatibility Complex*) de classe II que são reconhecidos pelos respectivos receptores de antígeno das células T (TCR, do inglês *T-cell receptor*) (DUSTIN *et al.*, 2006). Apesar de o presente sinal determinar a especificidade da resposta imune a ser montada, a eficiente ativação das células T CD4⁺ depende de outras interações com as imDCs, como a ligação de membros da família B7 (B7.1/CD80 e B7.2/CD86), expressos nas imDCs, com o CD28 das células T CD4⁺ (DUSTIN *et al.*, 2006; VERBOOGEN *et al.*, 2016). A cascata de ativação a partir das caudas citoplasmáticas do complexo TCR:CD3 e CD28 permitirá intensa proliferação linfocitária devido a produção autócrina de IL-2 e da expressão do CD25, formando o receptor trímero de alta afinidade para a IL-2 (DUSTIN *et al.*, 2006; MALEK & CASTRO, 2010; VERBOOGEN *et al.*, 2016).

Um terceiro, e último sinal, acionado pelas imDCs favorece a diferenciação dos linfócitos T CD4⁺ nos diferentes fenótipos auxiliares adquiridos por estas células, que produzem padrões polarizados de citocinas, capazes de coordenar e regular diversos eventos da resposta imunológica (VERBOOGEN *et al.*, 2016). Classicamente, a diferenciação das células T CD4⁺ é determinada pela combinação de diferentes citocinas liberadas pelas imDCs durante a sinapse imunológica, entretanto, hormônios também podem influenciar nessa diferenciação fenotípica (WAN & FLAWELL, 2009). Devido sua diversidade funcional, a lista dos diferentes fenótipos de células T CD4⁺ tem crescido de forma expressiva nos últimos 10 anos, sendo alguns deles mais estáveis, enquanto outros mais plásticos, possibilitando que possam permutar dependendo do microambiente no qual as células T CD4⁺

ativadas se encontram (AZIZ *et al.*, 2015; CROTTY, 2015; FARRAR; ASNAGLI; MURPHY, 2002; PANKRATS *et al.*, 2016; TAN & GERY, 2012).

1.2.1 Linfócitos T_H1

A produção de IL-12 pelas imDCs induz a diferenciação das células T CD4⁺ em um subtipo celular conhecido como linfócitos T auxiliares do tipo 1 (T_H1) (KREBS & STEINMETZ, 2016). Apesar de outras citocinas favorecerem esse fenótipo, apenas a IL-12 é capaz de induzir a expressão estável do principal fator de transcrição envolvido na programação de expressão gênica relacionada ao fenótipo T_H1, o T-bet (FARRAR; ASNAGLI; MURPHY, 2002). A migração dessas células para os locais de infecção é direcionada pela expressão dos receptores de quimiocinas CXCR3 e CCR5 (GROOM & LUSTER, 2011; RABIN *et al.*, 2003). Devido a capacidade de produzir elevados níveis de IL-2 e interferon (IFN)- γ , as células T_H1 mediam a resposta imune celular contra micro-organismos intracelulares obrigatórios ou facultativos por ativarem diferentes fagócitos e induzirem respostas citotóxicas medidas pelas células NK e T CD8⁺ (ANTONELLI *et al.*, 2014; GROOM & LUSTER, 2011). Ademais, em humanos, o IFN- γ induz a produção de anticorpos IgG 1 e IgG3 pelos linfócitos B (MACKINSTRY *et al.*, 2010) (Figura 1).

1.2.2 Linfócitos T_H2

Na ausência de IL-12 e presença de IL-4, as células T CD4⁺ ativadas se diferenciam no fenótipo T_H2 (FARRAR; ASNAGLI; MURPHY, 2002). A IL-4 é fundamental para manutenção da expressão dos transativadores STAT (do inglês *signal transducers and activators of transcription*)-6 e GATA (do inglês, *Globin Transcription Factor*)-3. O GATA-3 é o regulador-mestre da diferenciação das células T_H2, pois induz a transcrição dos genes para as citocinas IL-4, IL-5 e IL-13 (BAO & LEE REINHARDT, 2015; FARRAR; ASNAGLI; MURPHY, 2002; WAN & FLAVELL, 2009) (Figura 1). Além de produzir essas citocinas, as células T_H2 são caracterizadas pela expressão dos receptores de quimiocinas CCR3, CCR4 e CCR8 (COSMI *et al.*, 2001). Durante sua interação com as células B, as T_H2 induzem principalmente a síntese de anticorpos IgE que são altamente implicados nas

respostas imunológicas protetoras contra helmintos e em reações de hipersensibilidade do tipo I (MANAKI *et al.*, 2008; ZHU *et al.*, 2010a; ZHU *et al.*, 2010b).

1.2.3 Linfócitos T_H17

A descoberta das células T_H17 como novo fenótipo é um evento mais recente, dependente das citocinas IL-1 β , IL-6 e, principalmente, IL-23 em associação ao fator transformador de crescimento (TGF, do inglês *Transforming Growth Factor*)- β . Essas citocinas ativam as proteínas ROR γ t (do inglês *RAR-related orphan receptor gamma*) e STAT-3, responsáveis pela ativação da transcrição de diversos genes de citocinas relacionadas ao fenótipo T_H17 (GUTCHER & BECHER, 2007; KLUGUER *et al.*, 2014; ZAMBRANO-ZARAGOZA *et al.*, 2014) (Figura 1). As citocinas secretadas por essas células, como a IL-17A (IL-17), IL-17F, IL-21 e IL-22 tem como principal função induzir as células imunes e parenquimatosas a secretar IL-8, envolvida na quimiotaxia de neutrófilos para os locais da infecção (ANNUNZIATO *et al.*, 2015; MIOSSEC, 2009). Adicionalmente, essas células são caracterizadas pela expressão elevada do receptor de quimiocina CCR6, assim como podem auxiliar as células B na produção de IgM, IgG e IgA (ACOSTA-RODRIGUEZ *et al.*, 2007; ANNUNZIATO *et al.*, 2007). Esse fenótipo tem sido amplamente implicado na resposta imune contra bactérias extracelulares e fungos (ANNUNZIATO *et al.*, 2015). Entretanto, estudos recentes demonstram que a falta de TGF- β , durante a diferenciação dessas células, induz um perfil de células T_H17 envolvidas na patogênese de muitas enfermidades crônicas e autoimunes (ANCUTA; MONTEIRO; SEKALY, 2010; ZHANG *et al.*, 2015). Esse subtipo patogênico do fenótipo T_H17 parece ser capaz de produzir IL-17 associado ao IFN- γ ou ao fator estimulador de colônias de granulócitos e macrófagos (GM-CSF, do inglês *Granulocyte macrophage colony-stimulating factor*) (ZHANG X. *et al.*, 2015).

1.2.4 Linfócitos T_H9 e T_H22

Os linfócitos T_H9 são um dos subtipos de células T CD4⁺ mais recentemente descritos, sendo induzidos na presença conjunta de IL-4 e TGF-β. Os principais fatores de transcrição envolvidos em sua diferenciação são STAT-6, GATA-3 e IFR (do inglês *Interferon regulatory fator*)-4 e essas células são caracterizadas pela produção de IL-9 (KAPLAN, 2013; TAN & GERY, 2012) (Figura 1). Sua caracterização fenotípica ainda não foi consolidada, assim como seu papel em modelos humanos ainda não está totalmente elucidado. Apesar de alguns estudos sugerirem a participação das células T_H9 na proteção contra tumores e parasitas (VÉGRAN *et al.*, 2015), essas células parecem estar envolvidas em reações de hipersensibilidades, tais como alergia e autoimunidade (SOROOSH & DOHERTH, 2009).

As células T_H22 são outro subtipo de células T CD4⁺ descrita recentemente e seu fenótipo é induzido, a partir de células virgens, na presença de IL-6 e TNF-α. O fator de transcrição preponderante para sua diferenciação é o receptor aril de hidrocarboneto (AHR, do inglês *Aryl Hydrocarbon Receptor*) (AZIZ *et al.*, 2015; FARD; AZIZ; MIRSHAFIEY, 2016). O fenótipo T_H22 é caracterizado pela secreção de IL-22, IL-13 e o fator de necrose tumoral (TNF, do inglês *Tumor Necrosis Factor*)-α (Figura 1). Este fenótipo celular parece ter uma participação importante para a manutenção da integridade da mucosa intestinal, desenvolvimento de tumores, alergias e doenças autoimunes como a esclerose múltipla (AZIZ *et al.*, 2015; EYERICH & EYERICH, 2015; FARD; AZIZ; MIRSHAFIEY, 2016).

1.2.5 Linfócitos T reguladores

Os linfócitos T reguladores (Tregs) são um subtipo de células T CD4⁺ fundamentais na manutenção da autotolerância imunológica, além de controlar processos inflamatórios potencialmente lesivos associados a infecções (PANKRATS *et al.*, 2016). Dentre os diferentes subtipos de Tregs descritos na literatura, a maioria dos estudos é focado nos perfis fenotípicos e funcionais que levam em consideração a expressão do fator de transcrição FoxP3 (do inglês, *X-linked Forkhead box P3*) (ALROQI & CHATILA, 2016; VIGNALI *et al.*, 2008) (Figura 2).

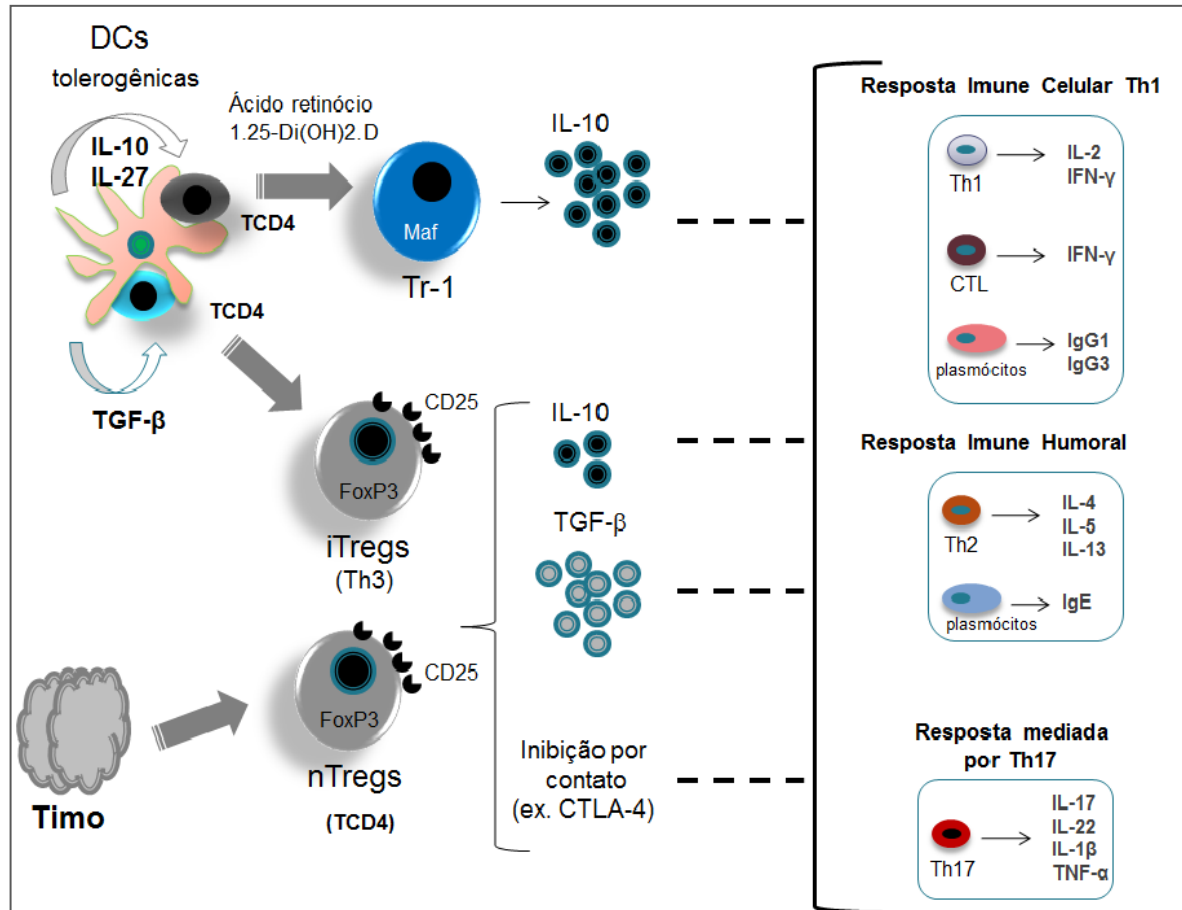


Figura 2: Eventos envolvidos na diferenciação das principais células T CD4⁺ reguladoras. Durante respostas imunes inflamatórias, a produção excessiva de citocinas pelas células Th1 e Th17 patogênicas tem sido atrelada à distúrbios na rede de regulação, principalmente executada pelos linfócitos T reguladores (Tregs). As células Tregs representam uma subpopulação de células T CD4⁺ relativamente heterogênea, sendo as células T CD4⁺FoxP3⁺CD25⁺ o subtipo mais estudado nas doenças autoimunes. Essas células podem ser tanto induzidas (iTregs) na periferia quando reconhecem os peptídeos específicos apresentados pelas células dendríticas (DCs) tolerogênicas, quanto geradas naturalmente no timo (nTregs). Uma terceira subpopulação é induzida por DCs tolerogênicas na presença do metabólito da vitamina D [1,25(OH)₂D] ou do ácido retinóico. Essas células, conhecidas como células T reguladoras do tipo 1 (Tr-1), são negativas para o FoxP3 mas expressam elevados níveis do fator de transcrição Maf. Os mecanismos de ação executados pelas células para controlar reações inflamatórias são diversos e envolvem inibição por contato com a célula alvo efetora (iTreg e nTregs) e/ou através da liberação de citocinas anti-inflamatórias, particularmente IL-10 e TGF-β. Fonte: C.; BENTO, C.A.M, 2017.

Dentre os subtipos que são FoxP3⁺, as células Tregs podem ser divididas em Tregs naturais (nTreg), geradas naturalmente no timo por eventos relacionados a seleção negativa de linfócitos reativos contra autoantígenos, e as Tregs induzidas (iTreg), geradas na periferia por células apresentadoras de antígenos (APC, do inglês *antigen presenting cells*) tolerogênicas (ALROQI & CHATILA, 2016; LUTZ, 2016). Além de serem FoxP3⁺, essas células expressam elevados níveis de CD25, capacitando-as a responder a baixos níveis de IL-2. Alguns marcadores

relacionados à capacidade supressora dessas células podem também ser expressos, tais como o CD39 e o antígeno 4 associado ao linfócito T citotóxico (CTLA-4/CD152) (LI & RUDENSKY, 2016; ZHOU *et al.*, 2009).

As iTregs FoxP3⁺ são induzidas na periferia na presença de DC tolerogênicas que expressam a enzima indoleamina-2,3 dioxigenase (IDO) (LUTZ, 2016). Essas Tregs, também conhecidas como T_H3, são encontradas em grande número na submucosa intestinal e expressam CTLA-4, CD49b e o gene 3 de ativação linfocitária (LAG-3, do inglês *Lymphocyte-activation Gene 3*) (ZHOU *et al.*, 2009). Quando ativadas, as T_H3 produzem TGF-β. (BETTINI & VIGNALLI, 2010; VIGNALI *et al.*, 2008). Por fim, as células Tr1 são induzidas por DCs na presença do ácido retinóico ou do metabólito da vitamina D, a 1, 25 diidroxi-colecalciferol (1,25 (OH)₂D). Apesar de serem FoxP3⁻, as células Tr1 expressam CD39, CTLA-4 e secretam elevados níveis de IL-10 (BETTINI & VIGNALLI, 2010) (Figura 2).

Os mecanismos pelos quais as células T reguladoras controlam as reações inflamatórias envolvem contatos físicos e produção de citocinas anti-inflamatórias, tais como IL-10 e TGF-β (BETTINI & VIGNALLI, 2010; VIGNALI *et al.*, 2008). Com relação a inibição por contato, o CTLA-4, por exemplo, ao se ligar a B7.1 e/ou B7.2, inibe as imDCs que, de maneira indireta interrompem a ativação das células T efectoras (LI & RUDENSKY, 2016; LUTZ, 2016; ZHOU *et al.*, 2009). A proteína LAG-3, por sua vez, interrompe diretamente a ativação das células T CD4⁺ efectoras por ligar-se às moléculas do MHC-II das APCs (LUTZ, 2016; ZHOU *et al.*, 2009) (Figura 2).

1.2.6 Linfócitos T auxiliares foliculares

Localizadas nos folículos dos tecidos e órgão linfoides secundários, os linfócitos T_{FH} são um subtipo de células T CD4⁺ cuja função principal é auxiliar as células B na formação do centro germinativo, troca de classe da cadeia pesada da imunoglobulina e produção de anticorpos de alta afinidade contra os antígenos (CROTTY, 2015) (Figura 3). Fenotipicamente são caracterizadas pela expressão do fator de transcrição Bcl (do inglês *B-cell lymphoma*)-6, do receptor de morte programada PD-1, do coestimulador induzível ICOS e do receptor de quimiocina CXCR5, e quando ativadas produzem elevados níveis de IL-21 (ONABAJO *et al.*,

2013; ONABAJO & MATTAPALLIL, 2013; PALLIKKUTH; PARMIGIANI; PAHWA, 2012).

Alguns estudos têm demonstrado o papel relevante de IL-6, IL-21 e IL-12 para a diferenciação do perfil T_{FH} (CHOI *et al.*, 2013; MA *et al.*, 2012; SCHMITT *et al.*, 2013). A IL-6 pode ser secretada pelas DCs convencionais e foliculares, além de linfócitos B ativados (TANGYE *et al.*, 2013). Essa citocina, juntamente com a IL-12 produzida na zona de células T, ativam as vias de sinalização STAT-1 e STAT-3 o que garante a expressão de Bcl-6 por essas células T_{FH} (MA *et al.*, 2012; PALLIKKUTH; PARMIGIANI; PAHWA, 2012; SCHMITT *et al.*, 2013). Uma vez expresso, o Bcl-6 não apenas reprime a expressão de fatores de transcrição responsáveis pela diferenciação em outros fenótipos efetores, como o Blimp-1 (do inglês *B lymphocyte-induced maturation protein-1*), como também amplifica a expressão de diversos genes relacionados às células T_{FH}, tais como CXCR5, PD-1 e ICOS (CHOI *et al.*, 2011; KROENKE *et al.*, 2012).

A diferenciação das células T CD4⁺ no fenótipo T_{FH} depende da interação do ICOS ao seu ligante (ICOSL) presente nas células B. Sinais a partir da cauda citoplasmática do ICOS potencializa a diferenciação das células T_{FH} por induzir a produção de IL-21 e estabilizar a expressão do fator de transcrição chave dessas células, o Bcl-6 (BENTEBIBEL *et al.*, 2011; CHOI *et al.*, 2011; JOGDAND *et al.*, 2016). A expressão de Bcl-6 e de IL-21 pode também ser mantida pela via de sinalização envolvendo o fator regulador 4 do interferon (IRF4, do inglês *Interferon regulatory factor 4*) (HUBER & LOHOFF, 2014; SCHIMITT *et al.*, 2016). Finalmente, a interação entre o fator de transcrição BATF (do inglês *Basic leucine zipper ATF-like transcription factor*) com proteína ativadora 1 (AP-1, do inglês *Activator protein 1*) também potencializa a expressão de Bcl-6 e IL-21 (LIU *et al.*, 2013; PALLIKKUTH; PARMIGIANI; PAHWA, 2012). Esses achados demonstram como diferentes vias bioquímicas envolvidas no comprometimento das células T_{FH} podem ser acionadas. Biologicamente, esse tipo de redundância é importante, pois garante a geração de células T_{FH} quando uma das vias está comprometida.

Quando ativados pelas imDCs, os linfócitos T CD4⁺ presentes na zona de células T que são comprometidos a migrar para dentro dos folículos diminuem a transcrição do gene para CCR7 e aumentam a expressão de ICOS, CD40L e CXCR5. A expressão de CXCR5 capacita essas células de entrar nos folículos seguindo o gradiente de concentração da quimiocina CXCL13, produzido pelas DCs

foliculares (CROTTY, 2011; DE FRANCO, 2016). Ao mesmo tempo, os linfócitos B antígeno-específicos, ativados nos folículos linfóides, diminuem a expressão de CXCR5 e aumentam a expressão de CCR7, fazendo com que estas células se dirijam para as zonas de linfócitos T. Esses eventos direcionados de trânsito celular facilitam o encontro entre as células T $CD4^+$ e B na interface de suas respectivas zonas (DE FRANCO, 2016; DE SILVA & KLEIN, 2015).

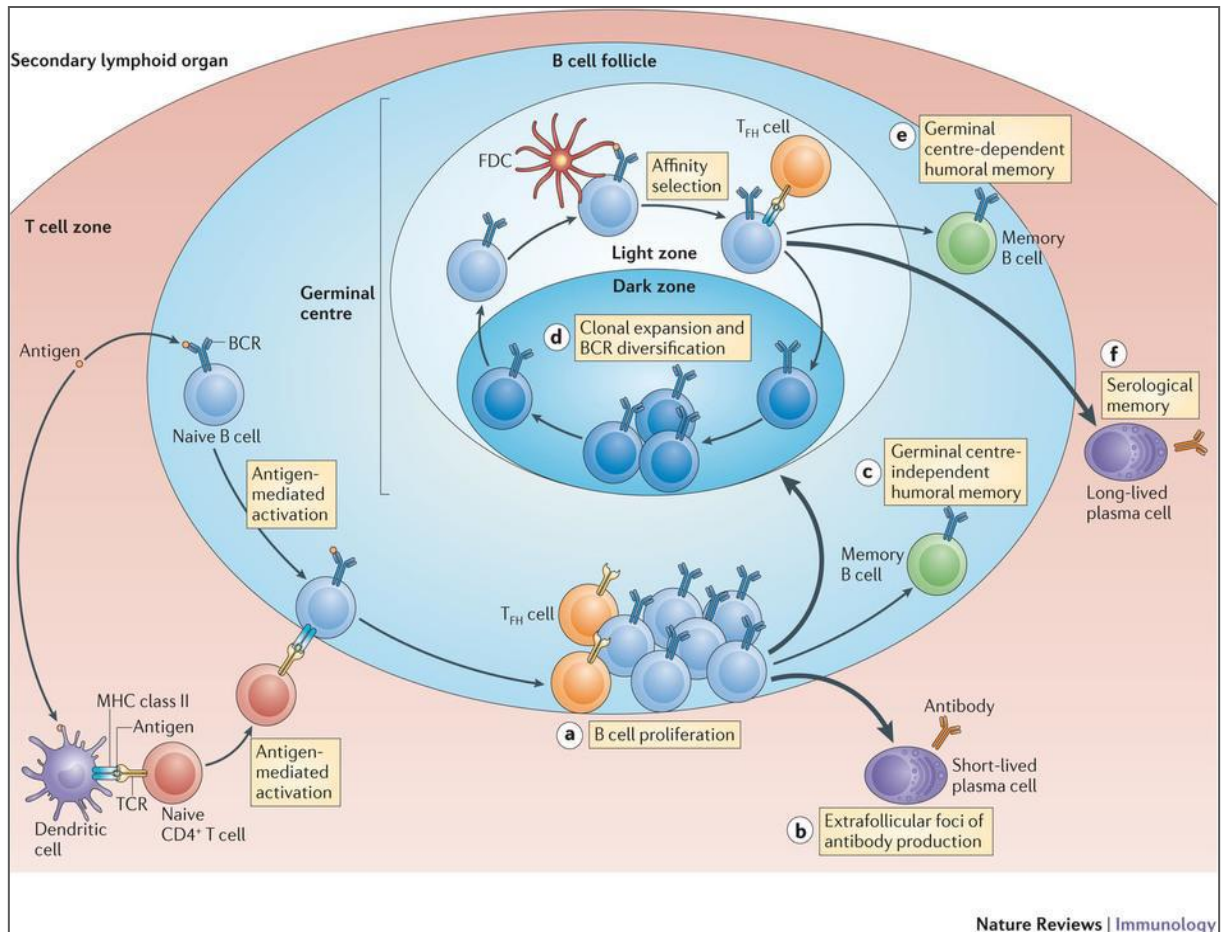


Figura 3: Geração de células B de memória e de plasmócitos dependentes das células T_{FH}. Células B e células T $CD4^+$ ativadas migram para a borda do folículo de célula B e zona de célula T nos órgãos linfóides secundários, respectivamente, facilitando a interação das células T $CD4^+$ com as B. a) Células T $CD4^+$ e B ativadas migram para dentro do folículo, onde as células B iniciam a proliferação. b) Algumas células B diferenciam-se em plasmócitos de vida curta, que dão origem ao foco extrafolicular e c) algumas se desenvolvem em células B de memória independentes do centro germinativo. d) Alternativamente, as células B ativadas podem retornar ao folículo e promover uma rápida proliferação para compor o centro germinativo. Na zona escura do centro germinativo, a expansão clonal de celular B antígeno-específicas é acompanhada por mutações pontuais nas regiões hipervariáveis do receptor de célula B (BCR), fenômeno conhecido como hipermutação somática. As células B que saem do ciclo celular povoam a zona clara, aonde a seleção por afinidade é dirigida através da interação do BRC com um imunocomplexo sobre as células dendríticas foliculares (FDCs) e na presença de células T_{FH} antígeno-específicas. As células B do centro germinativo que passaram pelo processo de maturação de afinidade podem entrar novamente no ciclo do centro germinativo. E) Alternativamente, estas células B saem do centro germinativo como células B de memória. F) ou como plasmócitos de vida longa, contribuindo para a memória sorológica. Fonte: KUROSAKI *et al.*, 2015.

Ao interagirem no limite de suas respectivas zonas, as T_{FH} fornecem sinais cognitivos às células B, através da interação das moléculas ICOS/ICOSL e CD40L/CD40. Adicionalmente, a IL-21 e IL-4 produzidas pelas células T_{FH} não apenas promovem a sobrevivência e a proliferação das células B, como também induzem a formação do centro germinativo (DE FRANCO, 2016; DE SILVA & KLEIN, 2015; MA & DEENICK, 2014; PALLIKUTH; PARMIGIANI; PAHWA, 2012). A sinalização via IL-4 previne a apoptose das células B (YUSUF *et al.*, 2010), enquanto a IL-21 induz a expressão de Bcl-6 nas células B permitindo sua maturação em linfócitos B de memória e plasmócitos de longa-vida (CROTTY, 2011; PALLIKUTH; PARMIGIANI; PAHWA, 2012). Através de sinais cognitivos e da sinalização via citocinas acionados pelas células T_{FH} , eventos de hipermutação somática, maturação de afinidade e troca de classe da cadeia pesada de anticorpos são garantidos (CROTTY, 2011; SHULMAN *et al.*, 2013; TANGYE *et al.*, 2013) (Figura 3).

Apesar de sua localização preferencial dentro dos folículos, células T_{FH} de memória identificadas foram recentemente no sangue periférico (BENTEBIBEL *et al.*, 2013; LOCCI *et al.*, 2013). Segundo estudo publicado por Locci e colaboradores (2013), foi demonstrado uma relação positiva entre a frequência dessas células T_{FH} circulantes e a produção de anticorpos IgG capazes de neutralizar diferentes isolados do HIV-1. Muito ainda precisa ser conhecido sobre o presente fenótipo, entretanto, é consenso que essas células expressam CXCR5 e são capazes de produzir IL-21, quando ativadas (BENTEBIBEL *et al.*, 2013; LOCCI *et al.*, 2013; PALLIKUTH; PARMIGIANI; PAHWA, 2012). Embora represente um subtipo minoritário, algumas células T_{FH} que coexpressam PD-1 e ICOS parecem ser mais funcionais em auxiliar *in vitro* células B (BENTEBIBEL *et al.*, 2013; LOCCI *et al.*, 2013). Também recentemente, foi proposto que as células T_{FH} podem produzir outras citocinas em associação à IL-21, tais como IFN- γ , IL-17 e IL-10, sendo atualmente designadas como T_{FH1} , T_{FH17} e T_{FR} , respectivamente (MORITA *et al.*, 2011).

Dada sua importância na resposta a vacinas, bem como o seu envolvimento em doenças autoimunes mediadas por anticorpos, o estudo sobre o impacto de diferentes eventos ambientais na biologia funcional dessas células é importante, pois essas informações podem ajudar na construção de novas manobras

imunoproliféricas e imunoterapêuticas em favor da saúde humana. No contexto da infecção pelo HIV-1, por exemplo, o comprometimento das células T_{FH} favorece progressão da doença para AIDS (GRAFF-DUBOIS; ROUERS; MORIS, 2016; MILES *et al.*, 2016; WANG, X. *et al.*, 2016). Por outro lado, estudo recentemente publicado pelo nosso grupo demonstrou que a gestação, ao contrário, favorece a expansão de células T_{FH} funcionais (MONTEIRO *et al.*, 2017). O incremento na função dessas células pode ajudar na produção de IgG anti-HIV em gestantes infectadas, reduzindo o risco de transmissão vertical. Entretanto, até o momento, nenhum estudo avaliando o impacto da infecção pelo HIV-1 na frequência e função das células T_{FH} em gestantes foi conduzido.

1.3 O VÍRUS DA IMUNODEFICIÊNCIA HUMANA (HIV)

1.3.1 Dados Epidemiológicos

Desde a sua identificação em 1981, o vírus da imunodeficiência humana, assim como a AIDS, tornaram-se um grave problema de saúde pública mundial. Estima-se que o número de casos positivos de infecção pelo HIV em todo o mundo é de aproximadamente 35 milhões de pessoas, com 6.000 novas infecções por dia (KHARSANY & KARIM, 2016).

No Brasil, cerca de 830 mil pessoas vivem com HIV/AIDS em nosso país e a taxa de detecção vem apresentando estabilização nos últimos 10 anos, com média de 20,7 casos por 100 mil habitantes. As regiões Sul e Centro-Oeste apresentam uma estabilização de suas taxas de detecção, com valores médios de 27,9 e 18,5 casos por 100 mil habitantes, respectivamente. Já na região Sudeste, valores decrescentes da mesma têm sido notificados, chegando a 18,0 casos por 100 mil habitantes. Enquanto isso, as regiões Norte e Nordeste apresentam uma tendência significativa de crescimento, com 24,0 casos para a região Norte e 15,3 casos para a região Nordeste por 100 mil habitantes (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2016; UNAIDS Brasil, 2016) (Figura 4).

A transmissão heterossexual da infecção atualmente é o predominante na população, o que aumentou significativamente o número de mulheres infectadas (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2016). Esse processo de feminização do HIV propiciou

uma elevação no número de mulheres em idade reprodutiva infectadas pelo vírus, aumentando o risco de transmissão vertical em vigência da gestação (LIMA *et al.*, 2014).

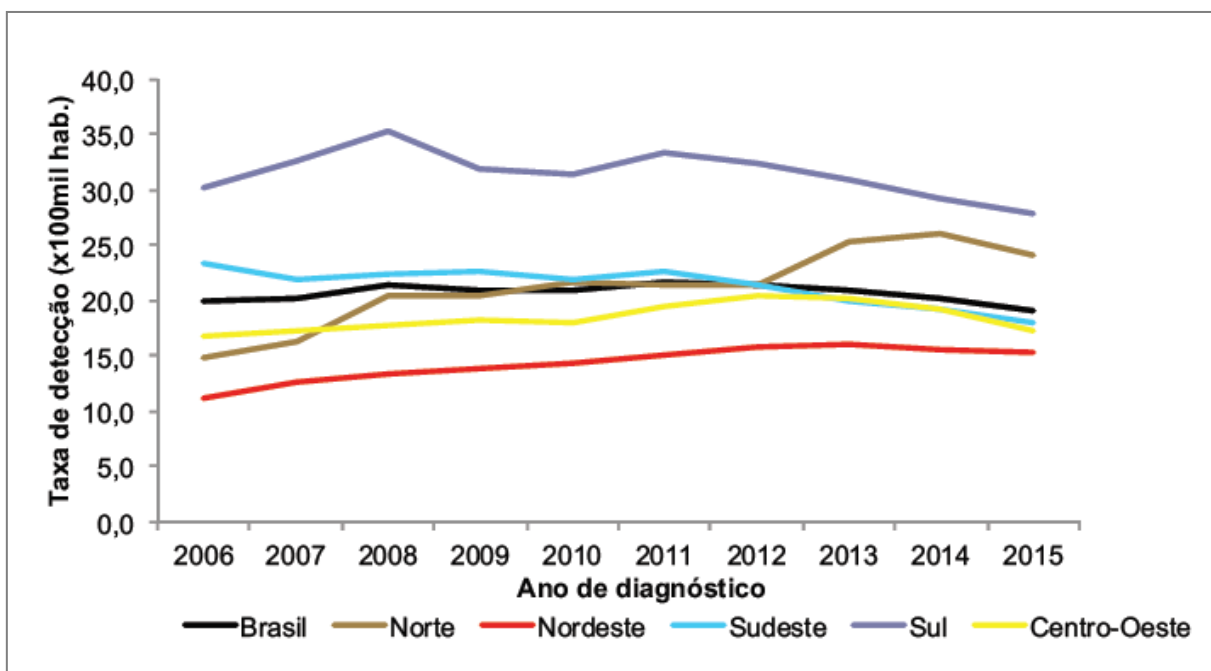


Figura 4: Taxa de detecção do HIV por 100 mil habitantes, segundo região de residência por ano de diagnóstico. Dados referentes aos anos 2006 à 2015.
Fonte: MS/SVS/Departamento de DST, AIDS e Hepatites virais (Boletim epidemiológico HIV/AIDS do ano de 2016).

No mundo, cerca de 200 milhões de mulheres ficam grávidas anualmente. No Brasil este número pode chegar a 3 milhões por ano (FIGUEIRÓ-FILHO; TAMURA; COELHO, 2009). Segundo estimativas do Ministério da Saúde (2016), do total de grávidas presentes em nosso país, cerca de 12 mil gestantes por ano são diagnosticadas com infecção pelo vírus HIV. Desde o ano 2000 até junho de 2016, já foram notificados 99.804 casos de gestantes infectadas pelo HIV. A taxa de infecção vem subindo desde 2005, quando era de 2,1 casos para cada mil nascidos vivos, passando para 2,7 casos em 2015, representando um aumento de 28,5% no total de casos diagnosticados (Figura 5).

Em nosso país, a infecção pelo HIV é de notificação compulsória, e toda gestante diagnosticada soropositiva deve ser acompanhada e tratada durante o pré-natal, parto e puerpério (LIMA *et al.*, 2014; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2010).

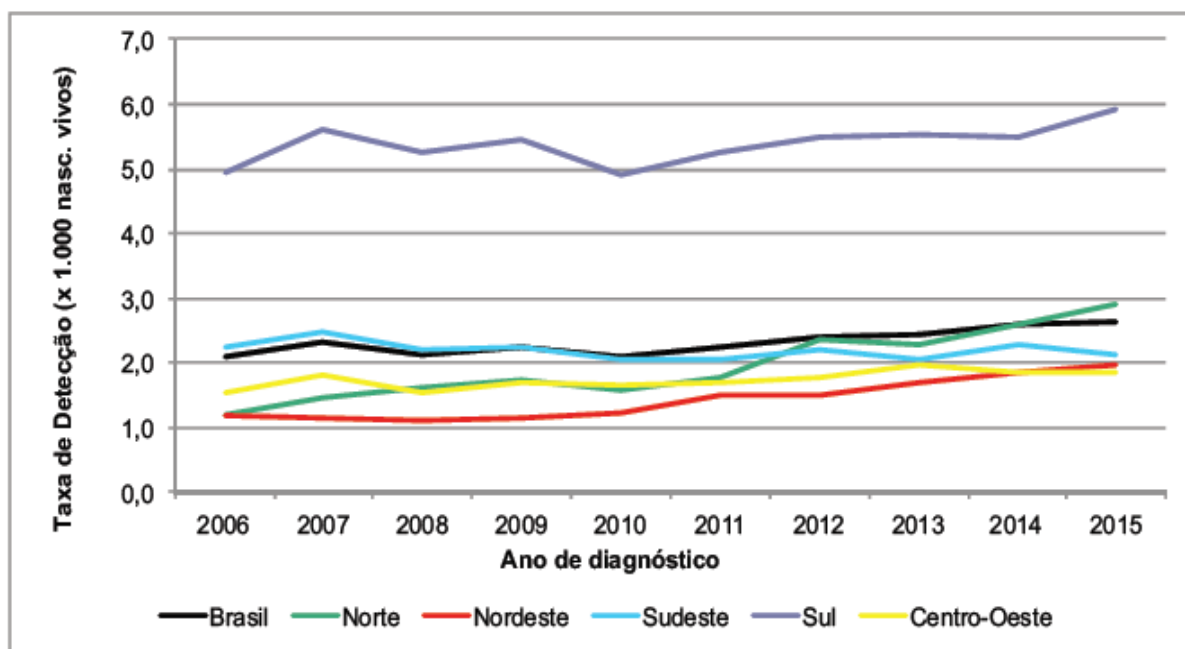


Figura 5: Taxa de detecção de HIV em gestantes por mil nascidos vivos, segundo região de residência e ano do parto. Dados referentes aos anos de 2006 à 2015.

Fonte: MS/SVS/Departamento de DST, AIDS e Hepatites virais (Boletim epidemiológico HIV/AIDS do ano de 2016).

1.3.2 HIV: Estrutura e Ciclo replicativo

A Síndrome da Imunodeficiência Adquirida humana, ou AIDS, é causada de pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV) pertencente à família *Retroviridae*, subfamília *Orthoretrovirinae*, gênero *Lentivirus*. Existem dois tipos virais, o HIV-1 e o HIV-2 (ICTV, 2016). Estruturalmente, o HIV possui um capsídeo em forma de cone que comporta o nucleocapsídeo contendo o genoma viral composto por duas moléculas de ácido ribonucleico (RNA, do inglês *Ribonucleic Acid*) de fita simples e polaridade positiva. Para ajudar na infecção da célula hospedeira, três enzimas estão associadas ao genoma do HIV, a transcriptase reversa, a integrase e a protease (FENG *et al.*, 2015; KONVALINKA *et al.*, 2015; WARD & WILSON, 2015). Entre o envelope e o capsídeo podemos encontrar uma matriz estrutural associada ao ácido mirístico. Todo este conjunto é envolvido por um envelope lipoproteico oriundo da membrana plasmática da célula da qual o vírus emergiu. Expostas em sua superfície podemos encontrar as glicoproteínas conhecidas como gp120, ancoradas ao envelope através de ligações com glicoproteínas transmembranas conhecidas como gp41 (SUNDQUIST & KRÄUSSLICH, 2012) (Figura 6).

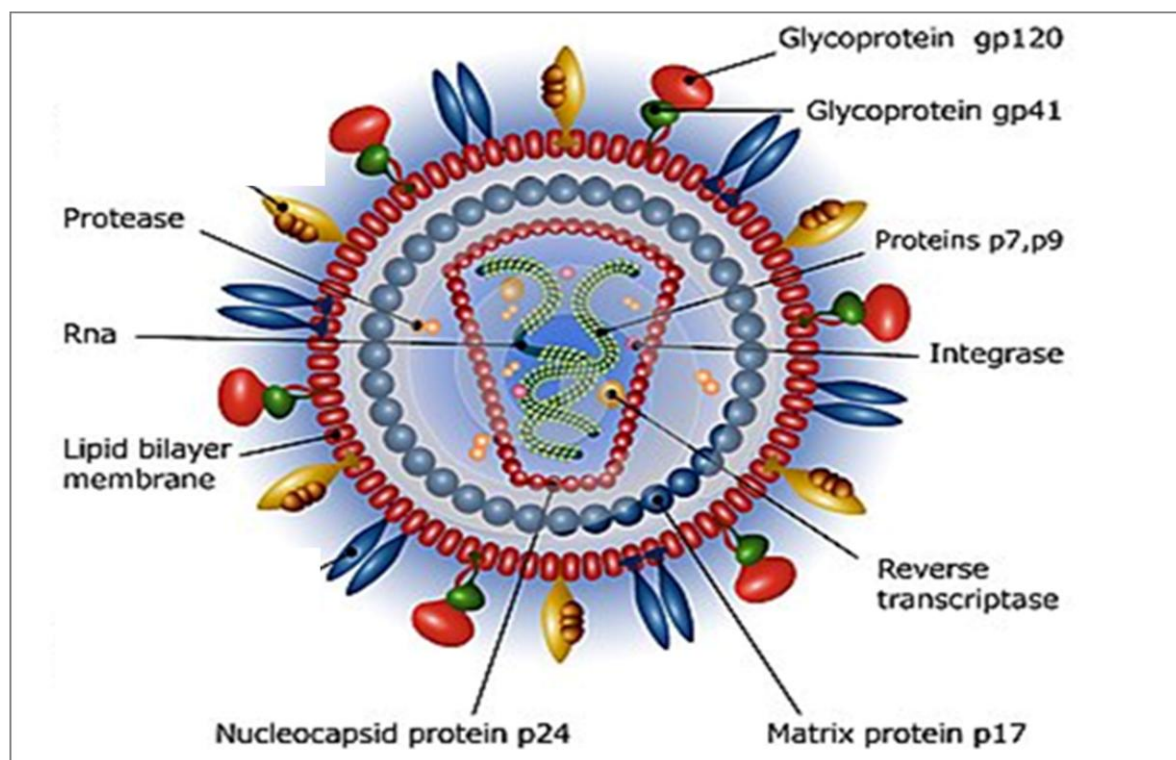


Figura 6: Composição estrutural do HIV. (Adaptado de BALTIMORE GROUP VI www.dreamstime.com).

O material genético do HIV é capaz de codificar 16 tipos distintos de proteínas, alguns com funções estruturais, outras regulatórias ou acessórias. Flanqueando a fita de RNA viral encontram-se longas sequências terminais repetitivas (LTR, do inglês *Long Terminal Repeats*). Todos os elementos que regulam o nível de transcrição viral se ligam dentro da região LTR. Os antígenos estruturais são codificados por três genes: *gag*, *pol* e *env* (LEE *et al.*, 2012). O gene *gag* codifica as proteínas internas do nucleocapsídeo (p7, p9 e p24) e da matriz (p17). O gene *pol* é responsável pela síntese da transcriptase reversa, integrase e da protease. Já o gene *env* codifica as glicoproteínas gp41 e gp120 do envelope viral (TEDBURY & FREED, 2014; YU *et al.*, 2015). A expressão de algumas proteínas não estruturais, tais como a transativadora transcricional (Tat) e a reguladora da transcrição viral (Rev) regulam a capacidade replicativa do vírus (ENSOLI *et al.*, 2016, RAUSCH & LE GRICE, 2015). Ademais, o HIV também possui genes que codificam proteínas acessórias que atuam nos processos de transcrição do vírus, como o fator de regulação negativo (Nef), o fator de infectividade vital (Vif) e as proteínas virais u e r

(Vpu e Vpr), no caso do HIV-1 ou (Vpu e Vpx) em HIV-2 (CASSIDAY *et al.*, 2015; HALLER *et al.*, 2014) (Figura 6).

Apesar das células da linhagem monocíticas serem suscetíveis a invasão pelo HIV, o maior impacto da infecção envolve a destruição numérica e funcional das hospedeiras mais sensíveis, os linfócitos T CD4⁺. A dinâmica de entrada do HIV envolve inicialmente a ligação da gp120 trimérica ao CD4, o que induz uma mudança conformacional da glicoproteína viral expondo o sítio de ligação ao coreceptor celular, mais frequentemente, os receptores de quimiocinas CCR5 e/ou CXCR4 (CONNELL & LORTAT-JACOB, 2013; JOSEPH *et al.*, 2015; ROCHE *et al.*, 2013). Essas ligações da gp120 com os respectivos receptores expõem a porção N-terminal da proteína gp41 que permite a fusão da membrana celular com o envelope viral, garantindo a liberação do nucleocapsídeo no citoplasma da célula hospedeira (ACHARYA *et al.*, 2015; CONNELL & LORTAT-JACOB, 2013; VEILLETTE *et al.*, 2014) (Figura 7).

Uma vez dentro da célula, o RNA viral é retrotranscrito numa fita de DNA complementar através da ação da transcriptase reversa. Uma vez formada, a dupla fita de DNA liga-se a um complexo nucleoproteico de pré-integração (PIC, do inglês *Pre-Integration Complex*) e é levado para dentro do núcleo (GRANDGENETT *et al.*, 2015). As proteínas virais presentes no PIC, como a integrase, Vpr e a p17 da matriz, apresentam regiões sinais de localização nucleares que são identificadas pelas importinas α e β , permitindo a importação do complexo PIC para o núcleo celular (BIN HAMID *et al.*, 2016). No núcleo, o DNA pró-viral é integrado ao material genético da célula hospedeira pela ação da integrase (CIUFFI, 2016).

Apesar de ser capaz de infectar células em repouso, o HIV só apresenta capacidade replicativa em células ativadas. Nessas células, fatores de transcrição como o NF- κ B (do inglês *Nuclear factor κ B*), SP-1 e NFAT (do inglês *Nuclear Factor of Activated T-cells*), por exemplo, iniciam a transcrição do HIV pela extremidade 5' do LTR viral, que possui uma sequência promotora ricas em nucleotídeos TATA (TATA-box) (MOUSSEAU *et al.*, 2015). Os primeiros RNA mensageiros exportados para o citoplasma celular codificam as proteínas regulatórias Tat e Rev e a proteína acessória Nef (JIN *et al.*, 2016). A proteína Tat, ao se ligar ao elemento de resposta à transativação (TAR, do inglês *Trans-activating Response Element*) melhora significativamente a eficiência da transcrição por favorecer indiretamente a atividade

da RNA polimerase II e por ativar as histonas acetiltransferases, enzimas que catalisam alterações na cromatina que mantêm o material genético viral disponível para ação dos fatores de transcrição (AGOSTO *et al.*, 2015; JIN *et al.*, 2016).

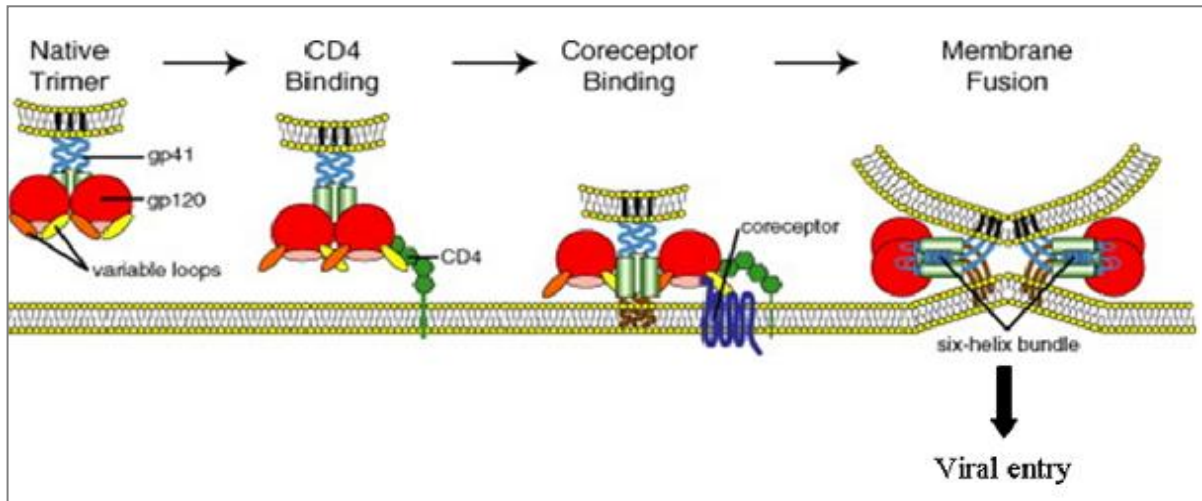


Figura 7: Mecanismo de entrada do vírus HIV na célula hospedeira. Durante o processo de entrada na célula a proteína trimérica gp120 interage com a molécula CD4 e com o coreceptor que pode ser o receptor de quimiocina CCR5 ou CXCR4. Após essa interação, ocorre uma modificação conformacional na proteína que expõe a gp 41. Esta interage na membrana fundindo-se com ela e inserindo o nucleocapsídeo com sucesso na célula hospedeira. (Adaptado de CONNELL & LORTAT-JACOB, 2013).

Na parte final do ciclo celular viral são sintetizados o RNA genômico e as proteínas estruturais. No entanto, os mRNA dessas proteínas estão parcialmente processadas ou não processadas no núcleo celular. Isso torna-se um fator complicador para a replicação viral, visto que a célula possui mecanismos para evitar a saída destes mRNA do núcleo (JAYARAMAN *et al.*, 2015). Nesse contexto, a proteína viral Rev possui grande relevância para o ciclo viral, pois ela se liga a esses mRNA virais através de uma sequência específica conhecida como elemento de resposta à Rev (RRE, do inglês *Rev Response Element*) e simultaneamente associa-se a proteína Crm1, responsável pela via de exportação de mRNAs através dos poros nucleares, propiciando a saída desses mRNAs não processados para o citoplasma da célula (JAYARAMAN *et al.*, 2015; RAUSCH & LE GRICE, 2015).

A construção final da partícula do HIV compreende a montagem, brotamento e maturação (SUNDQUIST & KRÄUSSLICH, 2012). De forma breve, enquanto a poliproteína Pol é clivada nas enzimas protease, transcriptase reversa e integrase

(NIKOLAITCHIK; HU, 2014), a clivagem da proteína Gag origina proteínas do nucleocapsídeo, da matriz e p6. O capsídeo que adquire forma cônica possui em seu interior um domínio básico contendo dois domínios de zinco retrovirais que capturam o RNA genômico viral durante a montagem do vírion. O domínio carboxi-terminal de Gag origina a proteína p6, servindo de sítio de ligação para diversas proteínas acessórias durante a montagem viral. Já o domínio amino-terminal de Gag dá origem a matriz proteica que se liga à membrana plasmática nos locais de fixação do complexo das proteínas gp120 e gp41, oriundas da clivagem da glicoproteína gp160 (CARLSON *et al.*, 2016; SUNDQUIST & KRÄUSSLICH, 2012). A liberação da partícula viral ocorre por brotamento. Ao final desse processo é originado um vírus ainda imaturo. A aquisição da capacidade infectante ocorre fora da célula-hospedeira e envolve maturação proteolítica do vírion (KONVALINKA *et al.*, 2015; MATTEI *et al.*, 2014).

1.3.3. Curso natural da infecção pelo HIV-1

1.3.3.1 Infecção Primária

As partículas virais que iniciam a infecção são encontradas em diferentes tecidos e/ou fluídos corporais, e são transmitidos a outros hospedeiros por via sexual, exposição a sangue e hemoderivados infectados ou via perinatal (BARRE-SINOSSI *et al.*, 1983; TASSIOPOULOS *et al.*, 2016). Quando a infecção se inicia via mucosas, são as DCs locais as primeiras células do sistema imune a encontrar o vírus. Apesar de essas APCs serem importantes na indução da resposta imune adquirida contra patógenos, no contexto da infecção pelo HIV, essa exposição, a princípio seria a principal responsável pela disseminação viral no hospedeiro (DUTRARTE *et al.*, 2016; LUBAN, 2012). Esse evento estaria relacionado ao fato de o HIV apresentar a capacidade de ligar-se, via gp120, a molécula DC-SIGN (do inglês *Dendritic Cell-specific Intercellular Adhesion Molecule-3-grabbind Non-integrin*) (ARRIGHI *et al.*, 2004). A ligação do vírus a esse receptor, além de não ativar as DCs, permite que a partícula viral permaneça intacta e protegida em vesículas intracelulares, enquanto as DCs migram para a zona de células T dos tecidos e órgãos linfoides secundários. Quando em contato com as células T CD4⁺, essas

DCs permitem que ocorra a trans-infecção através de sinapses infecciosas ou pela secreção de exossomos contendo o vírus (AHMED *et al.*, 2015; TEOW *et al.*, 2016).

Cabe ressaltar que as DCs expressam tanto o receptor CD4, em menor quantidade que as células T CD4⁺, quanto o coreceptor CCR5, fazendo com que essas células sejam permissivas à infecção pelo HIV (DUTRARTE *et al.*, 2016). No entanto, em células DCs maduras a presença de elevados níveis do fator de restrição SamHD1 (do inglês *Sterile motif and histidine aspartic domain and HD domain-containing protein 1*) impede replicação viral intracelular. As DCs imaturas, porém, são facilmente infectadas pelo vírus, pois além de apresentarem baixa expressão de SamHD1, as proteínas virais Vpu e Nef possuem a capacidade de degradar esta molécula no meio intracelular (DUTRARTE *et al.*, 2016; KOPPERNSTEINER *et al.*, 2012; LUBAN, 2012). Apesar de não ser tão permissiva à replicação viral como as células T CD4⁺, as DCs imaturas infectadas tornam-se APCs ineficientes, mesmo quando submetidas à estimulação. Esse evento impacta na progressão da doença desde a primo-infecção, pois compromete a resposta imune específica contra o HIV (CHEVALIER & WEIS, 2013; LUBAN, 2012).

Alguns dias após a primeira exposição ao HIV, uma replicação viral abundante pode ser detectada em várias cadeias de gânglios linfoides. Essa replicação leva a uma viremia, durante a qual, altos números de partículas de HIV estão presentes no sangue do indivíduo (ZHANG, C. *et al.*, 2015). Essa fase é acompanhada por uma síndrome de soroconversão que inclui uma variedade de sinais e sintomas inespecíficos observados em muitas outras doenças virais (ABBAS; LICHTMAN; PILLAI, 2012; BRUBAKER *et al.*, 2015; ZUNIGA *et al.*, 2015). Essa disseminação hematogênica permite ao vírus invadir muitas células T CD4⁺, macrófagos e DCs imaturas longe do sítio inicial de infecção (CAMPBELL *et al.*, 2014; DUTRARTE *et al.*, 2016; KUMAR & HERBEIN, 2014).

À medida que a infecção avança, o sistema imune adaptativo monta respostas imunológicas com mediação tanto humoral quanto celular dirigida aos antígenos virais (VAJPAYEE *et al.*, 2013). Na maioria dos pacientes essas respostas imunes da fase aguda de infecção permitem um controle parcial da replicação viral, sendo, portanto, o hospedeiro condicionado a manter níveis reduzidos de carga viral que podem durar anos, caracterizando a fase crônica, ou latência clínica (LANGFORD *et al.*, 2007; LOBRITZ *et al.*, 2011; POROPATICH & SULLIVAN, 2011).

1.3.3.2 Período de Latência Clínica

Durante o período de latência clínica, muitos distúrbios funcionais são observados no sistema imunológico, embora este ainda permaneça competente para lidar com infecções oportunistas, e poucas, ou nenhuma, manifestações clínicas da infecção pelo HIV são observadas (ABBAS; LICHTMAN; PILLAI, 2012). Apenas baixos níveis de transcritos virais são produzidos durante esta fase, e a maior parte das células T CD4⁺ do sangue periférico não abriga o vírus. Entretanto, a destruição das células T CD4⁺ dentro dos tecidos e órgãos linfoides progride lentamente durante este período, fazendo com que o número de células T CD4⁺ no sangue periférico declina de modo progressivo (ZHANG, C. *et al.*, 2015). Normalmente, 8 a 10 anos após a primo-infecção, a maioria dos indivíduos infectados pelo HIV-1 evolui para a última e mais dramática das fases da doença, a AIDS (LANGFORD *et al.*, 2007).

1.3.3.3 A Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (AIDS)

A infecção pelo HIV progride até a fase final e invariavelmente fatal, quando a destruição do tecido linfóide periférico está essencialmente terminada e a contagem de células T CD4⁺ periféricas cai abaixo de 200 células/mm³. A replicação viral nos reservatórios aumenta drasticamente e a viremia plasmática é substancialmente elevada (ABBAS; LICHTMAN; PILLAI, 2012).

Pacientes que desenvolvem a AIDS apresentam combinações de infecções oportunistas, neoplasmas, caquexia, insuficiência renal e degeneração do sistema nervoso central (BRUGNARO *et al.*, 2015; CAMPBELL *et al.*, 2014).

Uma vez que as células T CD4⁺ são essenciais para as respostas imunológicas tanto celular quanto humoral, a perda destes linfócitos torna os indivíduos infectados suscetíveis a infecções oportunistas. Muitos dos tipos de tumores que surgem nestes indivíduos têm etiologia viral, refletindo a incapacidade do paciente com AIDS em montar uma resposta imunológica contra vírus oncogênicos (ABBAS; LICHTMAN; PILLAI, 2012; BRUGNARO *et al.*, 2015; CAMPBELL *et al.*, 2014).

1.4. IMUNOPATOGÊNESE DA INFECÇÃO PELO HIV

1.4.1 Dinâmica viral e Resposta imune contra o HIV

Nas primeiras semanas após a exposição ao HIV, o sistema imunológico adaptativo começa a montar respostas imunes celular e humoral dirigidas contra os antígenos virais (VAJPAYEE *et al.*, 2013).

Apesar de não existir um consenso quanto aos eventos imunes envolvidos na proteção contra o HIV-1, resultados obtidos a partir de estudos em grupos seletos de pacientes infectados pelo HIV-1 com progressão lenta ou não progressão da doença (LTNP, do inglês *Long term non-progressors*) têm demonstrado um papel importante da resposta imune celular no controle da infecção associada a produção de anticorpos IgG neutralizantes (LANGFORD *et al.*, 2007; LIFSON *et al.*, 1991; LOBRITZ *et al.*, 2011; LOCCI *et al.*, 2013; POROPATICH & SULLIVAN, 2011).

A resposta imune celular mediada pelos linfócitos T CD8⁺ ativados é fundamental no combate a doenças infecciosas virais (ABBAS; LICHTMAN; PILLAI, 2012; HOFFMANN *et al.*, 2016; JONES & WALKER, 2016). Nesse sentido, durante a infecção primária, a frequência de precursores desses linfócitos que reconhecem proteínas estruturais do HIV-1 pode ser superior a 1% (KLEIN *et al.*, 1995; JONES & WALKER, 2016; RIVIÉRE *et al.*, 1995). Nos indivíduos LTNP essa resposta pode ser policlonal ou monoclonal com relação ao uso de diferentes membros das famílias TCRV β de receptores. A preservação de um repertório TCR restrito nesses pacientes, associado à baixa ou indetectável taxa de replicação viral estaria mais provavelmente relacionada a mutações de escape em epítomos da proteína viral Gag (p24) que apresentam um alto custo replicativo para o vírus (HAASE *et al.*, 1996; HARRER *et al.*, 1996; KLEIN *et al.*, 1995). Por outro lado, alguns LTNP revelaram a emergência de diferentes quase-espécies, refletindo a habilidade do seu sistema imune, ao ativar um repertório igualmente diverso de TCRs, exercer uma pressão seletiva negativa sobre o vírus (CLOVERPRIS; LESLIE; GOULDER, 2015; HAASE *et al.*, 1996; HARRER *et al.*, 1996; KLEIN *et al.*, 1995; LANGFORD *et al.*, 2007).

Nos indivíduos infectados pelo HIV-1, uma ativação eficiente dos linfócitos T CD8⁺ e a manutenção da memória imune parecem depender substancialmente do auxílio de células T CD4⁺ funcionais (HOFFMANN *et al.*, 2016; JONES & WALKER, 2016). Nos indivíduos LTNP as respostas de células T CD4⁺ anti-p24 com fenótipo

T_H1 são detectadas em culturas de células mononucleares do sangue periférico (CMSP). Aparentemente, a IL-2 secretada por essas células T_H1 é fundamental para manutenção das células T CD8⁺ HIV-1 específicas (CLERICI *et al.*, 1989; HOFFMANN *et al.*, 2016; PICKER & MAINO, 2000). Por fim, estudos afirmam que indivíduos LTNPs conseguem manter o compartimento de células T_{FH} funcionais, permitindo a produção de anticorpos IgG contra diferentes isolados do HIV-1 (LANGFORD *et al.*, 2007; LOBRITZ *et al.*, 2011; POROPATICH & SULLIVAN, 2011).

Como mencionado previamente, a ativação adequada das células T específicas depende de uma função igualmente eficiente das APCs. Nesse sentido, peptídeos da proteína Gag apresentados pelos alelos de HLA-B27 e HLA-B57 têm sido correlacionados a uma progressão mais lenta da doença. A relação entre a expressão desses haplótipos de HLA e a melhor resposta à infecção permanece obscura, mas evidências acumuladas no campo da imunogenética sugerem que uma maior plasticidade dos produtos desses alelos em ligar diferentes epítopos provenientes de mutação das moléculas antigênicas selvagens capacita a ativação de um repertório mais amplo de clones de células T no hospedeiro (CLOVERPRIS; LESLIE; GOULDER, 2015).

Desde sua ativação, as células T CD8⁺ clássicas, chamadas de linfócitos T citotóxicos (CTL, do inglês *Cytotoxic T Lymphocyte*), matam as células infectadas pelo HIV-1 pela via exocítica (perforinas, granzimas) ou via engajamento de receptores de superfície de morte celular Fas/FasL da célula-alvo com as CTLs (JONES & WALKER, 2016). Além disso, as células T CD8⁺ ativadas podem bloquear a infecção de células saudáveis por produzir e secretar β -quimiocinas (interferons do tipo I) (HOFFMANN *et al.*, 2016; JONES & WALKER, 2016; LUSSO, 2015; WALKER *et al.*, 1986). Finalmente, a frequência elevada de um subtipo especial de linfócitos T CD8⁺ foi detectada no sangue periférico dos LTNPs. Essas células secretam grande quantidade de um fator antirretroviral solúvel não-citolítico, chamado de CAF (do inglês, *Cell antiviral factor*), capaz de controlar a infecção de células T CD4⁺ autóloga ou heteróloga, permitindo que essas células T CD4⁺ infectadas permaneçam funcionais. Sabe-se que o CAF age sobre ligante de CAF (CAF-L) nas células T CD4⁺ infectadas, induzindo a expressão de STAT-1 (WALKER *et al.*, 1991). A proteína STAT-1 protege a célula infectada por inibir especificamente o acesso do NF- κ B aos LTRs do DNA pró-viral, bloqueando assim a replicação do HIV-1 sem interferir com a função das células T CD4⁺. Essa função não citotóxica

mediada pelas células T CD8⁺ é particularmente importante no contexto da infecção pelo HIV-1, pois eficientes respostas mediadas pelas CTLs têm sido igualmente implicadas na progressão da doença por contribuir na deleção das células T CD4⁺ infectadas ou não nos pacientes infectados (SHRIDHAR; CHENG; GUPTA, 2014).

Os pacientes infectados sem tratamento que evoluem para a AIDS são altamente suscetíveis a infecções oportunistas. A síntese de citocinas inflamatórias durante a resposta imunológica contra essas coinfeções estimulam a produção de novos vírions do HIV e contribuem ainda mais para a exaustão celular das células imunes verificada nesses indivíduos (JONES & WALKER, 2016; HOFFMANN *et al.*, 2016).

1.4.2 Papel das citocinas inflamatórias na progressão clínica para a AIDS

Embora a resposta inflamatória seja importante na resposta imune antiviral, a ativação crônica do sistema imune do paciente soropositivo para HIV que progride para a AIDS é essencial para a infecção produtiva de células T CD4⁺ (HOFFMANN *et al.*, 2016; LIEBERMAN *et al.*, 2001; RIBEIRO *et al.*, 2016).

Estudos mostraram que a expressão da proteína viral Nef induz os macrófagos a secretar quimiocinas e citocinas inflamatórias (IL-1 α , IL-1 β , IL-12 e TNF- α). Estas, em conjunto, favorecem a ativação e o recrutamento de células T CD4⁺ em repouso para o local da infecção (CAMPBELL *et al.*, 2014; DEEKS, 2011; GRAZIOSI *et al.*, 1996; HERBEIN & VARIN, 2010), aumentando assim o número de células-alvo para HIV-1. Ademais, a proteína Nef do HIV regula negativamente a expressão da molécula de MHC de classe I, protegendo os macrófagos infectados do ataque das células T CD8⁺ (DIKEAKOS *et al.*, 2010). Além disso, as células T CD8⁺ ativadas cronicamente podem colaborar com os macrófagos na produção de citocinas inflamatórias que aumentarão a síntese de novos vírions (DEEKS, 2011; KOPPERNSTEINER *et al.*, 2012; LIEBERMAN *et al.*, 2001; JONES & WALKER, 2016).

Ao longo da progressão da doença, o nível elevado de citocinas inflamatórias tem sido atrelado a um aumento progressivo no número de células T CD4⁺ e T CD8⁺ HIV-1- não específicas com deficiências funcionais. A frequência de linfócitos T que expressam marcadores de anergia, tais como PD-1, CLTA-4 e Tim (do inglês, *T-cell immunoglobulin mucin*)-3, e de apoptose, principalmente a expressão de CD95,

aumenta juntamente com os níveis sistêmicos de citocinas inflamatórias em pacientes que progridem para AIDS (HOFFMANN *et al.*, 2016; JONES & WALKER, 2016; WANG S. *et al.*, 2016; ZANG *et al.*, 2007).

Ademais, os linfócitos T CD8⁺ citotóxicos (CTLs – *cytotoxic T lymphocytes*) HIV-1-específicos, ao longo da progressão da doença, adquirem um fenótipo anormal, muito característico de imunossenescência (DEEKS, 2011). Neste contexto, os indivíduos com elevada frequência de células T CD8⁺ CD28⁻ CD38⁺ HLA-DR⁺ CD62L⁻ CCR7⁻, ou seja, com fenótipo senescente, após passarem pela soroconversão, desenvolvem uma forma mais agressiva da doença, com uma queda persistente e veloz da contagem das células T CD4⁺ periféricas (ALTMAN *et al.*, 1996). Estes linfócitos T CD8⁺ apresentam uma capacidade limitada em reconhecer antígenos associados às moléculas do HLA (CLOVERPRIS; LESLIE; GOULDER, 2015; SHRIDHAR; CHENG; GUPTA, 2014). Em adição, uma análise mais minuciosa destas CTLs indicou a ausência de perforina nos grânulos citoplasmáticos (APPAY *et al.*, 2000). Outro fator que pode contribuir para a disfunção *in vivo* dessas células T CD8⁺ é a elevada expressão de KIR (do inglês *Killing Inhibitory Receptors*) em decorrência da infecção. Esta molécula é conhecida por regular negativamente a citotoxicidade das células NK humanas (HENS; JENNES; KESTENS, 2016; MCMAHON & RAULET, 2001; ZWOLINSKA *et al.*, 2016). Além disso, esses linfócitos T CD8⁺ apresentam-se incapazes de expressar CCR7, o que os exclui dos gânglios linfáticos, sítios de replicação viral persistente (LIEBERMAN *et al.*, 2001).

Acredita-se que tais anormalidades fenotípicas e funcionais descritas aqui sobre a sub-população de células T CD8⁺, provavelmente, refletem uma falha funcional nos linfócitos T CD4⁺ HIV-1- específicos (SCHOENBERGER *et al.*, 1998; SHRIDHAR; CHENG; GUPTA, 2014).

1.4.3. Fibrose nos tecidos e órgãos linfoides secundários e a AIDS

Sabe-se que os santuários que dão sustentação a replicação viral são, inicialmente, os tecidos linfoides associados à mucosa, devido ao grau de ativação constitutiva nessa região, e os gânglios linfáticos, à medida que a infecção progride para AIDS (GRAFF-DUBOIS; ROUERS; MORIS, 2016; THORNHILL *et al.*, 2017; WANG, X. *et al.*, 2016). Em decorrência da intensa resposta inflamatória local, citocinas inflamatórias, como TNF- α , não apenas favorecem a replicação do HIV por

ativar nas células-alvo, o fator transcricional NF- κ B, como também estimulam as células da imunidade local a liberar um conjunto de enzimas líticas, as metaloproteínas, que conduzem a lesão tecidual local (GENOVESE & BRENDOLAN, 2016). Numa provável tentativa de reparar o processo lesivo, as células reticulares fibroblásticas locais, que representam as células estromais, se transformam em fibroblastos e passam a secretar grande quantidade de colágeno (GENOVESE & BRENDOLAN, 2016; WANG, X. *et al.*, 2016; ZENG *et al.*, 2012). Acredita-se que o estímulo para que essas células se tornem fibroblastos ativos decorra da grande produção do TGF- β , importante citocina anti-inflamatória e estimuladora da síntese de colágeno pelos fibroblastos (GENOVESE & BRENDOLAN, 2016; ZENG *et al.*, 2012). A intensa deposição de colágeno amplifica o grau de imunossupressão do paciente. Isso se deve a perda da estrutura natural dos tecidos e órgãos linfoides secundários, os locais onde a indução das respostas imunes específicas ocorrem (WANG, X. *et al.*, 2016; ZENG *et al.*, 2012). Outra causa para a imunodepressão verificada é a perda das células reticulares fibroblásticas (CRF), uma vez que essas, sob ação do TGF- β , se diferenciam em fibroblastos. Na verdade, as CRF exercem uma função capital na manutenção das células T virgens e T de memória central através de sua capacidade em produzir a citocina de sobrevivência dessas células, a IL-7 (RAJASURIAR *et al.*, 2010; WANG, X. *et al.*, 2016). Ademais, sabe-se que a capacidade das CRF em produzir IL-7 depende de sua estimulação pela linfotoxina- β (LT- β), uma citocina secretada pelas células T locais. Portanto, comprometimento do eixo LT- β /IL-7, por diferentes mecanismos, torna o paciente infectado pelo HIV cada vez mais incapaz de responder a novos antígenos, apresentados pelas células T virgens, e a antígenos de memória, apresentados pelas células T de memória central (GENOVESE & BRENDOLAN, 2016; ZENG *et al.*, 2012). Esse distúrbio é grave e, em pacientes em estágios avançados, não é normalizado com as drogas utilizadas no tratamento.

1.4.4. Distúrbios imunes na mucosa intestinal e progressão para a AIDS: Papel da translocação microbiana

O microambiente imune de mucosa é complexo e envolve interações entre diferentes células da imunidade inata e adaptativa, assim como dessas com os enterócitos. A complexa rede de sinais locais também tem repercussão sistêmica com implicação à saúde humana. No contexto da infecção pelo HIV e progressão para AIDS, a perda progressiva das células T_H17 $CCR5^+$ de memória da mucosa deve-se pela intensa replicação viral (ANCUTA; MONTEIRO; SEKALY, 2010; VALVERDE-VILLEGAS *et al.*, 2015; ZAMBRANO-ZARAGOZA *et al.*, 2014). A depleção numérica e funcional desse subtipo de célula T $CD4^+$ em razão da quebra da integridade da barreira protetora presente nos tecidos favorece intensa translocação microbiana que, associada à resposta imunológica local anti-HIV e auxilia na indução da exaustão dessas células imunes locais (VALVERDE-VILLEGAS *et al.*, 2015; ZAMBRANO-ZARAGOZA *et al.*, 2014). Elegantes estudos têm demonstrado uma correlação direta entre os níveis de PAMP circulantes com a translocação microbiana e a falência imunológica no paciente que evolui para a AIDS (ANCUTA; MONTEIRO; SEKALY, 2010; MARCHETTI; TINCATI; SILVESTRI, 2013; RAJASURIAR *et al.*, 2010; VALVERDE-VILLEGAS *et al.*, 2015). A presença sistêmica desses produtos microbianos sustenta a produção de $IL-1\beta$, $TNF-\alpha$ e $IL-6$ pelas células fagocíticas e endoteliais, com direta implicação no aumento da carga viral e exaustão imune crônica (ANCUTA; MONTEIRO; SEKALY, 2010; KIM *et al.*, 2012; MARCHETTI; TINCATI; SILVESTRI, 2013; VALVERDE-VILLEGAS *et al.*, 2015).

Outro subtipo de célula T $CD4^+$ presente em mucosas que é danificado ao longo da infecção pelo HIV é o T_H22 (JIA & WU, 2014). Tanto as células T_H22 locais quanto circulantes são altamente suscetíveis à infecção viral e a indução de apoptose (KIM *et al.*, 2012; PAGE *et al.*, 2014). A perda na produção de $IL-22$ compromete a síntese de proteínas de adesão envolvida na integridade das mucosas (KIM *et al.*, 2012).

Finalmente, o comprometimento funcional das células Tregs de mucosa acelera a progressão da doença para AIDS. Alguns autores sugerem que a infecção pelo HIV-1 induz expansão das células Tregs em relação a outros fenótipos T $CD4^+$ (RUEDA *et al.*, 2013). Entretanto, estas células são suscetíveis à infecção, mas não

a replicação viral, representando o provável maior reservatório viral (CHEVALIER & WEIS, 2013; VALVERDE-VILLEGAS *et al.*, 2015). As vias pelas quais o vírus favorece acúmulo das células Tregs envolvem mecanismos tanto diretos como indiretos. A gp120 do HIV, ao se ligar a molécula CD4, é capaz de inibir diretamente a morte por apoptose. De forma indireta, aumento no número de Tregs é favorecido pelo incremento na frequência de DCs tolerogênica infectadas pelo HIV-1 (CHEVALIER & WEIS, 2013). Em nível de mucosa, acúmulo de células Tregs disfuncionais prejudica os mecanismos de controle da resposta inflamatória (CHEVALIER & WEIS, 2013; LÓPEZ-ABENTE *et al.*, 2016; VALVERDE-VILLEGAS *et al.*, 2015).

Sistemicamente, o papel das células Tregs no decorrer da infecção pelo HIV ainda é bastante contraditório. Enquanto alguns trabalhos relatam uma função protetora dessas células contra a hiperativação imune e a replicação viral, outros sugerem um efeito adverso por regular negativamente respostas imunes protetoras anti-HIV (CHEVALIER & WEIS, 2013; VALVERDE-VILLEGAS *et al.*, 2015).

Além das células T_{H17} e T_{H22} , os linfócitos T_{FH} parecem ser o alvo preferencial de replicação viral nos gânglios linfáticos. Tanto na fase aguda, quanto na fase crônica, o número dessas células é diretamente correlacionado à viremia plasmática, sugerindo que eventos relacionados à infecção possam induzir o aumento dessa subpopulação (GRAFF-DUBOIS *et al.*, 2016; MILES *et al.*, 2016; WANG, X. *et al.*, 2016). Somente em progressores rápidos, ou em estágios mais avançados da doença, verifica-se uma depleção das células T_{FH} acentuada (WANG, X. *et al.*, 2016). Entretanto, em indivíduos controladores de elite, a frequência de células T_{FH} permanece estável na fase aguda e crônica da infecção. Isso sugere que, de alguma forma, a infecção pelo HIV possa exercer alguma influência na diferenciação das células T_{FH} (GRAFF-DUBOIS *et al.*, 2016; ONABAJO & MATTAPALLIL, 2013).

1.4.5 Infecção pelo HIV-1 e as células T_{FH}

Como previamente mencionado, a células T_{FH} representa o principal nicho de replicação viral nos tecidos e órgãos linfoides secundários, contribuindo efetivamente na carga viral plasmática (GRAFF-DUBOIS; ROUERS; MORIS, 2016; MILES *et al.*, 2016; WANG, X. *et al.*, 2016).

Embora seu número absoluto esteja elevado no contexto da infecção, a redução na expressão de ICOS e CD40L, e na síntese de IL-21 e IL-4, incapacita as células T_{FH} a auxiliarem eficientemente as células B na produção de anticorpos neutralizantes em pacientes infectados pelo HIV-1 (BORROW & MOODY, 2017; COLINEAU *et al.*, 2015; CUBAS *et al.*, 2013; GRAFF-DUBOIS; ROUERS; MORIS, 2016; PALLIKKUTH *et al.*, 2012; THORNHILL *et al.*, 2017). Por outro lado, a IL-6 parece ter sua produção aumentada em decorrência da infecção pelo HIV, beneficiando a formação de células T_{FH} disfuncionais (GRAFF-DUBOIS; ROUERS; MORIS, 2016; ONABAJO & MATTAPALLIL, 2013). A disfunção nesse compartimento de células T $CD4^+$ tem sido associada a dano na qualidade da resposta imune mediada pelas células B, apesar do quadro de hipergamaglobulinemia apresentado pelos pacientes que evoluem para AIDS (ONABAJO & MATTAPALLIL, 2013). Os anticorpos produzidos por essa parceria ineficiente entre as células T_{FH} e as células B apresentam reduzidas hipermutações somáticas e maturação de afinidade e em sua maioria não adquirem capacidade neutralizante (LINDQVIST *et al.*, 2012; MOIR & FAUCI, 2009; ONABAJO & MATTAPALLIL, 2013). Isso se deve em parte devido a baixa expressão de ICOS pelas células T_{FH} infectadas pelo vírus. No entanto, estudos demonstram que o tratamento antirretroviral apresentaria a capacidade de elevar a expressão dessa molécula e modular a síntese de citocinas por essas células (COLINEAU *et al.*, 2015; GRAFF-DUBOIS; ROUERS; MORIS, 2016; THORNHILL *et al.*, 2017).

Apesar do HIV impactar negativamente na sobrevivência e status funcional das células T_{FH} , recente estudo publicado pelo nosso grupo demonstrou que a gestação, ao contrário, favorece a expansão de células T_{FH} circulantes funcionais (MONTEIRO *et al.*, 2017). Até o momento, o impacto da infecção pelo HIV nesses linfócitos em mulheres grávidas não foi investigado, principalmente no cenário atual do tratamento das gestantes com terapia antirretroviral de alta eficiência.

1.5. TERAPIA ANTIRRETROVIRAL

O tratamento farmacológico da infecção pelo HIV-1 baseia-se na combinação de diferentes drogas que têm como alvo as diversas etapas do ciclo replicativo do HIV. De acordo com a Organização Mundial da Saúde (WHO, do inglês *World Health*

Organization), 22 drogas são licenciadas para o tratamento de indivíduos infectados pelo HIV (WHO, 2016; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2015). Estas podem ser divididas em quatro grandes classes de antirretrovirais: os inibidores da transcriptase reversa (TR), os inibidores da protease (IP), os inibidores da integrase e os inibidores de entrada. Os inibidores da TR, por sua vez, podem ser subdivididos em duas classes: os análogos sintéticos de nucleosídeos naturais e os não-análogos de nucleosídeos naturais (PROKOFJEVA; KOCHETKOV; PRASSOLOV, 2016) (Tabela 1).

No guia de tratamento dos países em desenvolvimento, criado pela Organização Mundial da Saúde, recomenda-se que a primeira linha de tratamento para adultos e adolescentes contenha dois inibidores nucleosídicos da transcriptase reversa aliado a um inibidor não nucleosídico da transcriptase reversa. Essa formulação contendo somente inibidores da transcriptase reversa são mais utilizadas, pois são mais baratas e possuem formulações genéricas disponíveis (HERNANDEZ *et al.*, 2017; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2015; PROKOFJEVA; KOCHETKOV; PRASSOLOV, 2016; WHO, 2016).

Como eventos relacionados à exaustão imune, a depleção das células T CD4⁺ e a formação dos reservatórios virais, são precoces. Quanto mais cedo a terapia antirretroviral (TARV) for iniciada, melhor é o prognóstico a longo prazo do paciente infectado (RIBEIRO *et al.*, 2016). Em contraste, quando os indivíduos recebem os antirretrovirais apenas na fase crônica da doença, mesmo com o a terapia de supressão total da viremia, o reservatório viral decai pouco. Ademais, os níveis de material genético viral são elevados nas células infectadas, prejudicando o prognóstico da doença (LAANANI *et al.*, 2015; RUTSTEIN *et al.*, 2015).

O tratamento precoce preserva as frequências dos diferentes perfis efetores e reguladores das células T CD4⁺ dos tecidos linfoides secundários e das mucosas, com menor perda das células de memória central (LAANANI *et al.*, 2015; LU *et al.*, 2015). Outro aspecto importante é que, a introdução da TARV nas fases iniciais da infecção, mantém os níveis de LPS e de sCD14, indicadores de translocação microbiana no intestino, estabilizados e próximos aos valores detectados em pessoas não infectadas e saudáveis (RAJASURIAR *et al.*, 2010). Isso se deve a maior preservação das células de memória presentes nos tecidos da mucosa, principalmente das T_H17 e T_H22, contribuindo para a manutenção da integridade de barreira do intestino (D'ETTORRE *et al.*, 2014).

Tabela 1. Grupos de antirretrovirais utilizados na terapia anti-HIV autorizados pelo Ministério da Saúde do Brasil.*

Inibidor nucleosídeos da Transcriptase Reversa (INRT)	Inibidor não nucleosídeos da Transcriptase Reversa (INNTR)	Inibidor de Protease (IP)	Inibidor de Integrase *	Inibidor de Fusão*	Inibidor de Co-receptor*
Zidovudina (ZDV, AZT)	Nevirapina (NVP) Efavirenz (EFZ)	Saquinavir (SQV)	Raltegravir (RAL)	Efuvertide (T-20)	Maraviroque (MVQ)
Didanosina (ddl) Abacavir (ABC)	Etraviripina (TMC-125)	Ritonavir (RTV) Indinavir (IDV)	Dolutegravir (DTG)		
Estavudina (d4T) Lamivudina (3TC) Tenofovir (TDF)		Amprenavir (APV) Lopinavir (LPV) Atazanavir (ATV) Darunavir (DRV) Tipranavir (TPV) Fosamprenavir (FPV)			

* www.aids.gov.br

Entretanto, a TARV possui limitações. Apesar de bloquear eficazmente a replicação viral, ela não consegue erradicar os pró-vírus latentes nas células reservatório (GRAFF-DUBOIS *et al.*, 2016, THORNHILL *et al.*, 2017; WANG, X. *et al.*, 2016). Outra limitação da terapia é que, apesar de reverter a maioria das disfunções nas células T CD4⁺ e células B em indivíduos infectados, o tratamento não parece ter efeito sobre a exaustão celular provocada sobre as células T CD8⁺ dos pacientes com HIV em progressão (GRAFF-DUBOIS *et al.*, 2016; MOIR & FAUCI, 2009; HOFFMANN *et al.*, 2016). A incapacidade da TARV em retomar a homeostase imune nos pacientes cronicamente infectados pode impactar indiretamente nos eventos imunes relacionados à gestação.

1.6 IMUNOMODULAÇÃO DO CICLO GESTACIONAL E O IMPACTO DA INFECÇÃO PELO HIV-1

1.6.1 Eventos iniciais da concepção

Um dos achados mais interessante é o reconhecimento recente da participação ativa do sêmen na concepção, não apenas representada pela presença de espermatozoides, como também de fatores solúveis com funções imunomoduladoras, tais como IFN- γ , TNF- α , IL-1 β , IL-6 e CXCL8 (BROMFIELD, 2014; RODRÍGUEZ-MARTÍNEZ *et al.*, 2011). Esses mediadores pró-inflamatórios favorecem o recrutamento de macrófagos, DCs, granulócitos e linfócitos que se acumulam no útero (ROBERTSON & SHARKEY, 2016; SHARKEY *et al.*, 2012; ZENCLUSSEN & HÄMMERLING, 2015). O recrutamento dos monócitos, por exemplo, é importante para a limpeza de resíduos potencialmente deletérios ao curso da gestação formados durante a nidação e a invasão do endométrio uterino (BROMFIELD, 2014; GRANOT *et al.*, 2012; SHARKEY *et al.*, 2012). O gradiente de citocinas e quimiocinas produzidas pelas células endometriais e imunes são responsáveis pelo direcionamento do blastocisto ao local de implantação, permitindo sua interação com as células do revestimento uterino (GRANOT *et al.*, 2012; VINKETOVA *et al.*, 2016).

Apesar de respostas pró-inflamatórias maternas serem inicialmente benéficas para a eficácia da nidação do blastocisto, quando persistentes, podem colocar em risco o desenvolvimento do concepto (GRANOT *et al.*, 2012; PAWAR *et al.*, 2014; VINKETOVA *et al.*, 2016; ZHANG *et al.*, 2013). Isso pode ocorrer devido a diferença genética entre a mãe e o embrião que é semi-alogênico. Nesse contexto, seria esperado que os linfócitos T maternos organizassem uma resposta imune que levasse a rejeição dos elementos celulares fetais que expressam antígenos paternos (GRANOT *et al.*, 2012; TAGLAUER *et al.*, 2010).

Estudos mostram que abortos espontâneos recorrentes, quando excluídas causas anatômicas ou uso de determinadas drogas, estão relacionados a uma intolerância materna ao feto (KWANK-KIM *et al.*, 2014; POLESE *et al.*, 2014; SAITO *et al.*, 2010; WANG *et al.*, 2010). Células T_H1, com a ajuda de citocinas relacionadas ao fenótipo T_H17, coordenam uma resposta materna embriotóxica envolvendo vasculopatia placentária, decorrente do ataque coordenado de perforinas e

granzimas liberadas pelas células NK clássicas e células T CD8⁺ citotóxicas. Adicionalmente, a citotoxicidade celular dependente de anticorpos pode amplificar a lesão placentária (POLESE *et al.*, 2014; SCULLY & ALTER, 2016). De fato, a elevada frequência de células T_{H1} e T_{H17} foi detectada no sangue periférico e na decídua de pacientes que sofreram espontaneamente abortos recorrentes (POLESE *et al.*, 2014; SAITO *et al.*, 2010; WANG *et al.*, 2010).

Para contrapor isso, o TGF- β e a IL-10 presentes no líquido seminal podem auxiliar na regulação da inflamação local por favorecer a indução de células T reguladoras maternas (GUERÍN *et al.*, 2011; ROBERTSON *et al.*, 2013; ROBERTSON & SHARKEY, 2016; RODRÍGUEZ-MARTÍNEZ *et al.*, 2011). Entretanto, são os hormônios da gestação que parecem protagonizar a imunomodulação materna envolvida com a aceitação e desenvolvimento do concepto (MONTEIRO *et al.*, 2017; SAITO, 2000).

1.6.2 Imunomodulação materna pelos hormônios gestacionais

Aproximadamente sete dias após a fecundação, o blastocisto passa a secretar gonadotrofina coriônica humana (hCG), e sua síntese aumenta consideravelmente durante o primeiro trimestre da gestação, diminuindo para 10% dos níveis iniciais nos trimestres seguintes (VINKETOVA *et al.*, 2016) (Figura 8). Este hormônio é importante para o estabelecimento da gestação, participando do processo de implantação do embrião na parede uterina e no desenvolvimento placentário, além de regular a esteroidogênese ovariana no início da gravidez (CHOI & SMITZ, 2014).

Além de exercer um papel importante no desenvolvido do concepto, o hCG reduz a proliferação e a produção de citocinas pró-inflamatórias pelas células T e B maternas, além de induzir a produção de citocinas anti-inflamatórias por células B e aumentar o recrutamento de células Tregs para a interface materno-fetal (DAUVEN *et al.*, 2016; FETTKE *et al.*, 2016; POLESE *et al.*, 2014; SHUMACHER *et al.*, 2014). *In situ*, por reduzir a expressão de moléculas coestimulatórias nas DCs, o hCG favorece a diferenciação das células T CD4⁺ virgens maternas em células Tregs (DAUVEN *et al.*, 2016). De forma interessante, antes de ter seus níveis sistêmicos reduzidos, o hCG estimula a manutenção do corpo lúteo nos ovários, o que acaba por elevar a produção de estrogênio por essas estruturas. A partir da 7ª semana de gestação, no entanto, a placenta, e não mais o corpo lúteo, torna-se a principal fonte

dos hormônios esteróides da gestação, a progesterona e estrogênio (LETH-MOLLER *et al.*, 2014).

Classicamente a progesterona exerce funções imunossupressoras (MIYAURA & YWATA, 2002; SZEKERES-BARTHO, 2009). Ela inibe a proliferação de células T CD4⁺ e CD8⁺ e diminui a produção de citocinas pró-inflamatórias, principalmente do perfil T_H1, como o IFN- γ , (GUTIÉRREZ-RODRÍGUEZ *et al.*, 2017; ROBINSON & KLEIN, 2012). Por reduzir a expressão de Fc γ R, a progesterona também diminui a capacidade das células NK e monócitos/macrófagos em mediar lesão placentária (HEL *et al.*, 2010; POLESE *et al.*, 2014). Assim como o hCG, a progesterona amplifica a diferenciação de células T CD4⁺ virgens em Tregs na interface materno-fetal (BUTTS *et al.*, 2007; MIYAURA & YWATA, 2002; POLESE *et al.*, 2014).

Da mesma forma que a progesterona, os níveis de estrogênios elevam-se ao longo da gestação, com pico no terceiro trimestre da concepção. Em mulheres três estrógenos naturais foram descritos: a estrona (E1), o 17 β -estradiol (E2) e o estriol (E3), sendo o 17 β -estradiol (E2) o mais biologicamente ativo (PATAS *et al.*, 2013; SHUMACHER *et al.*, 2014). Sua concentração sérica aumenta, em média, de 10 pM para 40nM durante a gestação (HIRANO *et al.*, 2007) (Figura 8). Em baixas concentrações, o E2 promove respostas T_H1 e T_H17 e aumenta a síntese de citocinas pró-inflamatórias, como IL-1 β , IL-6 e TNF- α (POLESE *et al.*, 2014; SHUMACHER *et al.*, 2014; UEMURA *et al.*, 2008). Já em altas concentrações, o E2 promove as respostas imunes humoral e reguladoras (MONTEIRO *et al.*, 2017; POLESE *et al.*, 2014; SHUMACHER *et al.*, 2014; UEMURA *et al.*, 2008). No compartimento inato, os efeitos do E2 também são dose-dependentes. Em elevadas concentrações o E2 induz o fenótipo alternativo e anti-inflamatório de ativação de macrófagos na interface materno-fetal, ou M2. Por outro lado, em baixas concentrações, esse esteroide induz o fenótipo inflamatório M1. Esses dados sugerem que o estrogênio pode tanto proteger, quanto promover respostas inflamatórias envolvidas na indução de abortos (POLESE *et al.*, 2014; ROBINSON & KLEIN, 2012 SHUMACHER *et al.*, 2014).

Numa gravidez sem intercorrências, APCs, como as DCs, num ambiente enriquecido de estrogênio e progesterona, contribuem não somente para a supressão da resposta imune celular como também são responsáveis pela indução de células T reguladoras que atuarão na tolerância imunológica, protegendo o concepto (GUERÍN *et al.*, 2009; GUERÍN *et al.*, 2011; POLESE *et al.*, 2014;

TAGLAUER *et al.*, 2010). Outra célula da imunidade inata que impacta a gestação é a célula NK uterina (uNK). As células uNK na interface materno-fetal participam da angiogênese, da formação da placenta e da indução de células Tregs (ZENCLUSSEN & HÄMMERLING, 2015).

Na gestação as Tregs apresentam um papel crucial para o estabelecimento e o desenvolvimento da gravidez. No decorrer da gestação, as frequências dessas células aumentam no sangue periférico durante o primeiro e o segundo trimestre, diminuindo no final do último trimestre da gravidez, preparando o organismo da mulher para os eventos imunológicos referentes à indução do parto (GUERÍN *et al.*, 2009; HEIKINENN *et al.*, 2004; SEOL *et al.*, 2008; XIONG *et al.*, 2013).

Apesar de esses achados sugerirem que a gravidez é marcada por um favorecimento de populações de células imunes supressoras, a gestação sabidamente favorece a resposta imune humoral. Segundo Fu e colaboradores (2011), altas concentrações de estradiol favoreceriam diretamente a produção de anticorpos por células B de memória, diminuindo a necessidade e sinais cognitivos por parte das células T_{FH}. Ademais, estudo publicado esse ano pelo nosso grupo demonstrou que a gestação favorece a expansão de células T_{FH} circulantes (MONTEIRO *et al.*, 2017). Até o momento nenhum trabalho avaliou o impacto da infecção pelo HIV-1 na proporção e perfil de citocina dessas células em mulheres grávidas infectadas pelo vírus.

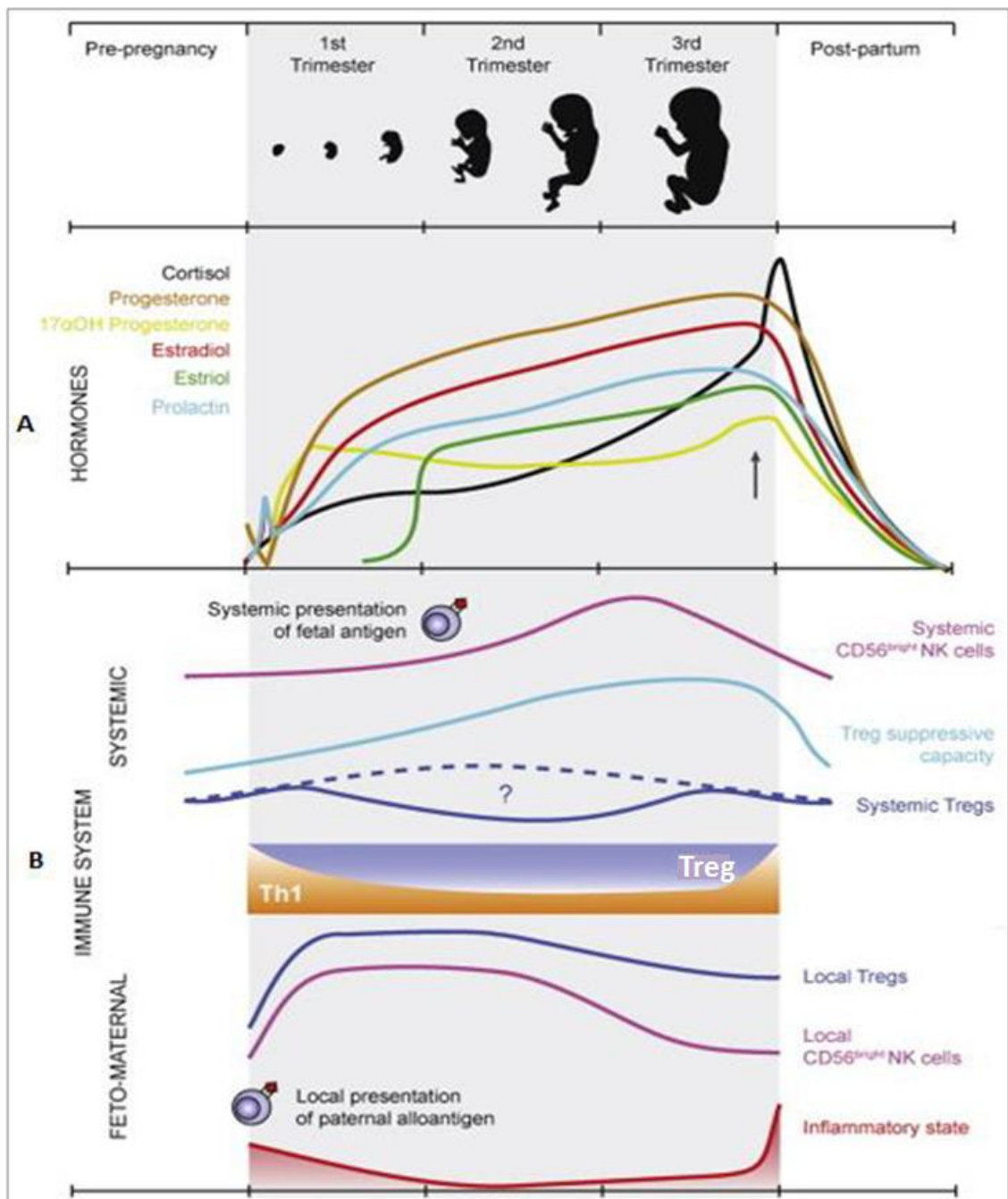


Figura 8: Resumo da imunomodulação materna em decorrência dos hormônios gestacionais. Mudanças nas concentrações de hormônios levam a mudanças imunológicas durante a gestação. Durante os três trimestres da gestação, há uma alteração no equilíbrio das respostas pró-inflamatórias e anti-inflamatórias. No terceiro trimestre, respostas anti-inflamatórias são elevadas e respostas inflamatórias, reduzidas. A) Propriedades imunomodulatórias dos hormônios gestacionais estrogênio e progesterona que têm suas concentrações mais elevadas durante o terceiro trimestre da gestação. Dias antes que antecedem o parto, os níveis de marcadores reguladores começam a cair junto com os níveis de progesterona e estrogênio. Nesse momento, o resgate dos eventos inflamatórios maternos devem ajudar no preparo do útero para o parto. B) Alguns eventos imunológicos na interface materno-fetal e sistemicamente. Fonte: PATAS *et al.*, 2013.

1.6.3. Infecção pelo HIV e gestação

Doenças infecciosas maternas podem ter consequências adversas à gestação por diferentes vias não excludentes. A primeira delas pode envolver severo prejuízo ao desenvolvimento fetal devido à infecção da placenta e disseminação do patógeno para o sangue do cordão umbilical do concepto (LIMA *et al.*, 2014; KUMAR *et al.*, 2012). A outra via pode estar relacionada ao rompimento do delicado equilíbrio envolvido na tolerância fetal devido à produção de citocinas inflamatórias maternas relacionadas aos fenótipos T_H1 e T_H17 em resposta aos patógenos (GROHMANN *et al.*, 2001; PASARE & MEDZHITOV, 2003). Dessa forma, frente a uma infecção, a manutenção e o desenvolvimento fetal vão depender da capacidade do sistema imune materno em montar uma resposta inflamatória adequada contra o agente infeccioso sem que os mecanismos envolvidos na tolerância aos antígenos polimórficos de origem paterna sejam perdidos. No caso específico da infecção pelo HIV-1, a resposta imunitária protetora contra o vírus contrasta dramaticamente com os eventos imunes responsáveis pela tolerância ao feto. No entanto, o risco de progressão clínica da doença não é aumentado pela gestação (GRAY & MCINTYRE, 2007).

1.6.3.1 A infecção materna pelo HIV-1 e a transmissão vertical

Na ausência de tratamento antirretroviral, o risco de a gestante transmitir a infecção ao feto, também conhecida como transmissão vertical varia entre 10-39%, elevando-se em 15% a mais quando ocorre o aleitamento materno do recém nascido com o leite proveniente da mãe infectada (KUMAR *et al.*, 2012; LUO *et al.*, 2015; TASSIOPOULOS *et al.*, 2016; WHITE *et al.*, 2015). A transmissão vertical do HIV depende da carga viral plasmática materna e pode ocorrer durante a gestação, intraparto e durante o aleitamento (KUMAR *et al.*, 2012; TASSIOPOULOS *et al.*, 2016). Entretanto, recentemente, com as diferentes manobras clínicas aplicadas, tais como a TARV, o parto cesáreo e a não amamentação das crianças a taxa de transmissão vertical caiu para 1-2% (LIMA *et al.*, 2014; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2015).

Além da TARV, alguns mecanismos têm sido propostos para explicar a proteção do feto contra o HIV-1 materno durante a gravidez. Os anticorpos maternos

e os linfócitos Tregs podem contribuir para limitar, no útero, a transmissão do HIV-1 (GUPTA *et al.*, 1989; LEE *et al.*, 1997; ROSSI *et al.*, 1989).

Ademais, evidências sugerem que a progesterona modula a infecção pelo HIV-1 (HAGEN & ALTFELD, 2016; RAGUPATHY *et al.*, 2013; VASSILIADOU *et al.*, 1999). Estudo *in vitro* realizado por Vassiliadou e colaboradores (1999) demonstrou que a adição de progesterona inibe a expressão dos coreceptores CCR5 e CXCR4 nas células mononucleares do sangue periférico ativadas, inibindo a infecção do HIV-1. A progesterona, por inibir a produção local de TNF- α , também limita a capacidade replicativa do HIV-1 nas células do trofoblasto e dos macrófagos (BUTTS *et al.*, 2007; GUTIÉRREZ-RODRÍGUEZ *et al.*, 2017; HAGEN & ALTFELD, 2016; POLESE *et al.*, 2014; SZEKERES-BARTHO, 2009). Um estudo prévio publicado pelo nosso grupo também demonstrou que gestante que mantêm elevados de células Tregs possuem menor carga viral e, portanto, menor risco de transmissão vertical (HYGINO *et al.*, 2012). Sabendo que elevados títulos de IgG anti-HIV maternos podem reduzir risco de infecção neonatal, até o momento nenhum estudo demonstrou como a infecção pelo HIV-1 e a TARV impactam na frequência das células T_{FH}.

2. OBJETIVOS

2.1 GERAL

Verificar o impacto da terapia antirretroviral (TARV) na frequência de células T_{FH} circulantes em gestantes infectadas pelo vírus HIV-1.

2.2 ESPECÍFICOS

- ✓ Avaliar a frequência das células T_{FH} circulantes em gestantes infectadas pelo HIV-1 antes e após a TARV.
- ✓ Verificar a proporção de células T_{FH} responsivas a antígenos do HIV-1 antes e após TARV.
- ✓ Quantificar os títulos de anticorpos IgG contra o antígeno de superfície do vírus da hepatite B (HBsAg) e dos níveis de estradiol e progesterona no plasma de gestantes infectadas pelo HIV-1 antes e após a TARV.
- ✓ Correlacionar a porcentagem das células T_{FH} circulantes com os níveis plasmáticos de anticorpos IgG anti-HBsAg e dos hormônios gestacionais nas gestantes infectadas pelo HIV-1.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 PACIENTES

Para o estudo, 14 gestantes (15 a 37 anos) HIV-1 positivas, assim como 19 gestantes (20 a 33 anos de idade) saudáveis e HIV-1 e HIV-2 negativas no último trimestre da gestação foram recrutadas do Instituto Fernandes Figueira (Fiocruz/RJ) entre 2014 e 2016. Nas gestantes infectadas, amostras de sangue foram colhidas nos períodos de tempo anterior a inserção da TARV, durante o primeiro trimestre da gestação (T0), e no último trimestre de gestação, de 4 a 6 meses após a introdução da terapia antirretroviral (T1). Como critério de exclusão para o presente estudo, gestantes portadoras de doenças autoimunes e neoplasias, tabagistas, imunodeprimidas ou usuárias de substâncias ilícitas foram excluídas. Ademais, nenhuma paciente incluída em nosso estudo apresentava alguma indicação clínica ou sorológica de infecção por influenza, HCV e HBV.

O presente estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Universitário Gaffrée e Guinle (HUGG/UNIRIO) (Anexo A) e as amostras só foram colhidas após cada participante ter dado seu consentimento oral e por escrito, através da assinatura de consentimento livre e esclarecido (Anexo B).

3.2 OBTENÇÃO E ESTIMULAÇÃO DAS CÉLULAS DO SANGUE PERIFÉRICO *EX VIVO*

Amostras de 10 mL de sangue periférico foram colhidas de todas as participantes do estudo por meio de agulhas e tubos estéreis contendo heparina (BD Vacutainer, Franklin Lakes, NY). Alíquotas de 2 mL do sangue periférico total foram mantidas em placas de 24 poços de fundo chato, na ausência (poços controles) e na presença de acetato miristato de forbol (PMA; Sigma-Aldrich) a 20 ng/mL e Ionomicina (IO; Sigma-Aldrich) a 600 ng/mL (poços ativados). Para otimizar a marcação intracelular de citocinas, todas as culturas foram mantidas na presença de brefeldina A (10 µg/mL; Sigma-Aldrich). As placas foram incubadas por 4 horas à 37 °C em atmosfera úmida com 5% de CO₂.

Para a avaliação dos níveis sistêmicos dos hormônios (progesterona e estrogênio), o volume restante de sangue colhido foi submetido à centrifugação em

1500 rpm por 5 minutos e os plasmas foram congelados a -20°C até o momento de uso. Os leucócitos e as hemácias obtidos após essa centrifugação foram encaminhados para obtenção das células mononucleares do sangue periférico.

3.3 OBTENÇÃO E ESTÍMULO DAS CÉLULAS MONONUCLEARES DO SANGUE PERIFÉRICO *IN VITRO*

As células mononucleares do sangue periférico (CMSP) foram obtidas por centrifugação do sangue total em Ficoll-Hypaque (GE Healthcare, Up). As células foram lavadas com solução de Hank's (Thermo Fisher) e avaliadas quanto à viabilidade celular com azul de Trypan (Sigma-Aldrich) e contadas em câmara de Neubauer. Em seguida, 2×10^6 CMSP viáveis foram mantidas em placas de 24 poços com 2 mL de RPMI 1640 completo (Thermo Fisher), acrescido de 10% de soro fetal bovino (SFB) e 1% de penicilina/estreptomicina, por 6 dias na presença só de meio de cultura (controle) ou com $1\mu\text{g/mL}$ da proteína p24 (p24HIV-1GAG, Sigma Co) ou $1\mu\text{g/mL}$ de uma combinação de peptídeos sintéticos imunodominantes do envelope (ppHIV-1ENV). A estimulação HIV-1-específica foi potencializada pela presença de IL-2 recombinante (20 U/mL , Sigma Co). Após esse período, as culturas mantidas na presença dos antígenos foram rapidamente estimuladas com PMA (Sigma-Aldrich) a 20 ng/mL e IO (Sigma-Aldrich) a 600 ng/mL . Para otimizar a marcação intracelular de citocinas, todas as amostras foram mantidas na presença de brefeldina A ($10\mu\text{g/mL}$; Sigma-Aldrich). Durante o tempo de incubação, todas as placas foram mantidas a 37°C em atmosfera úmida a 5% de CO_2 .

3.4 ANÁLISE FENOTÍPICA DOS LINFÓCITOS T CD4^+ POR CITOMETRIA DE FLUXO

Para a identificação dos diferentes fenótipos de células T CD4^+ , as células foram submetidas à citometria de fluxo após marcação com anticorpos monoclonais (mAbs) fluoresceínados (BioLegend, San Diego, CA, USA) em diferentes combinações. Para isso, $200\mu\text{L}$ das amostras de sangue ou CMSP foram marcadas com mAbs anti-CD3-PE, anti-CD4-FITC/PECy7, anti-CXCR5-PECy7/PE e anti-PD1-APC, por 20 minutos à temperatura ambiente protegidos da luz. Terminado o tempo

de incubação, a suspensão celular foi submetida tanto à lise das hemácias quanto à fixação através da incubação do sangue total com solução de lise/fixação (eBioscience) por 10 minutos, sob proteção da luz. As células foram lavadas duas vezes com solução de PBS (LGC Biotecnologia), suplementado com 1% de soro fetal bovino (SFB) e permeabilizadas, utilizando a solução Cytotfix/Cytoperm (BD Pharmingen, San Diego, CA) a 4°C por 20 minutos, sob proteção da luz.

Para determinar a frequência das células produtoras de citocinas, as células foram lavadas (PBS com 1% SFB) e submetidas à marcação intracelular a 4°C por 20 minutos utilizando os mAbs anti-IL-21-PE/APC, anti-IFN- γ -PE/APC, anti-IL-10-FITC/APC e anti-IL-6-PE. As células foram lavadas novamente com PBS suplementado com 1% de SFB e posteriormente submetidas à análise por citometria de fluxo. Para as nossas análises, 100.000 eventos foram adquiridos usando os citômetro Accuri C6 (Accuri™, Ann Arbor, MI, USA) e os dados foram analisados através dos softwares Cflow (Accuri™, Ann Arbor, MI, USA). Os linfócitos foram determinados através dos padrões de tamanho e granulosidade após a exclusão de células mortas e débris.

3.5 DOSAGEM DOS HORMÔNIOS ESTROGÊNIO E PROGESTERONA

A dosagem de hormônios gestacionais estrogênio e progesterona foram realizadas através do ensaio imunoenzimático ELISA (do inglês *Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay*), a partir das amostras do plasma de mulheres participantes do estudo. A dosagem de estrogênio foi realizada com o uso do kit Abcam's *Estradiol E2 in vitro competitive ELISA*, de acordo com o protocolo descrito pelo fabricante. Resumidamente, 25 μ L das amostras de plasma foram adicionadas aos poços em uma placa de 96 poços de fundo chato sensibilizada com anticorpo IgG de coelho anti-estradiol que acompanha o kit. Em seguida, foram adicionados 100 μ L do estradiol conjugado com *horseradish peroxidase* (HRP) e 50 μ L do reagente de coelho anti-estradiol. A placa foi coberta e incubada a temperatura ambiente por 90 minutos. Os poços foram lavados por cinco vezes com 300 μ L de água destilada. Após a remoção do excesso de líquido, foram adicionados 100 μ L do reagente TMB (3,3',5,5'-tetrametilbenzidina) para posterior incubação a temperatura ambiente por 20 minutos, sob a proteção da luz. A reação foi revelada após a adição de uma

solução de parada (ácido fosfórico à 1 M). Quanto maior a concentração de E2, maior é a densidade óptica obtida na leitura pelo espectrofotômetro. As concentrações de estrogênio nas amostras testes foram obtidas usando uma curva-padrão com reagentes fornecidos pelo fabricante e medidas a comprimento de onda de 450 nm.

Já a dosagem de progesterona foi realizada com o uso do kit Abcam's *Progesterone in vitro competitive* ELISA. Neste protocolo, 20 µL das amostras foram adicionados a cada poço de uma placa de 96 poços do kit contendo anticorpo primário anti-progesterona. Além disso, foram adicionados 200 µL do conjugado progesterona-HRP. Após 1 hora de incubação a 3°C sob proteção da luz, todos os poços foram lavados por 3 vezes com solução de lavagem (exclusiva do kit). Após a remoção total de líquido na placa, foram adicionados 100 µL da solução do substrato TMB. Após 15 minutos de incubação à temperatura ambiente no escuro, a reação foi revelada após da adição de 100 µL da solução de parada (ácido fosfórico à 1 M). A densidade óptica é diretamente proporcional a concentração do hormônio na amostra. As concentrações de progesterona nas amostras testes foram obtidas usando uma curva-padrão com reagentes fornecidos pelo fabricante e medidas a comprimento de onda de 450 nm.

3.6 DOSAGEM DE ANTICORPOS IgG ANTI-HBsAg

A dosagem plasmática dos anticorpos nas gestantes participantes do estudo também foi realizada através do ensaio imunoenzimático ELISA. O kit utilizado para o experimento foi o BIOLISA anti-HBs da Bioclin, de acordo com o protocolo da fabricante. De acordo com este, foram adicionados 50 µL das amostras de plasma em uma microplaca previamente sensibilizada com o antígeno HBs recombinante. As amostras foram incubadas por 2 horas e, posteriormente acrescentado 50 µL de anticorpo anti-IgG humano ligado a estreptovidina-horseradish peroxidase. Depois de nova incubação, desta vez, por 1 hora a temperatura de 37°C, sob proteção da luz. A microplaca foi lavada oito vezes com 350 µL da solução de lavagem disponibilizada pela fabricante. Após a remoção total do líquido da placa, foi adicionado 100 µL de substrato TMB (3,3',5,5'-tetrametilbenzidina) e a reação foi revelada após 30 minutos através da adição de solução de parada (Ácido fosfórico 1 M). A densidade óptica obtida no espectrofotômetro é proporcional a concentração

do anticorpo na amostra. O comprimento de onda utilizado na leitura foi de 450 nm e as curvas-padrão foram construídas à partir de reagentes fornecidos pelas fabricante.

3.7 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Todas as análises estatísticas foram realizadas através do programa GraphPad Prism versão 5.0 para Windows (GraphPad software). O teste paramétrico *t* de Student e os testes não paramétricos de Mann-Whitney U ou Wilcoxon foram utilizados para determinar se dois grupos eram estatisticamente diferentes para cada variável estudada. A correlação de Pearson foi utilizada para os dados paramétricos e o teste de Spearman foi utilizados para os dados não paramétricos, visando avaliar a correlação entre os diferentes eventos imunológicos estudados. A significância em todos os experimentos foi definida como $p < 0,05$.

4. RESULTADOS

4.1 CARACTERÍSTICAS DAS GESTANTES INFECTADAS PELO HIV-1

As gestantes infectadas pelo HIV-1 participantes do nosso estudo tiveram suas amostras analisadas antes (T0) e após (T1) a TARV. O tempo médio de tratamento das nossas participantes foi de 126 dias (desvio-padrão: 26 dias), a média do tempo gestacional referente à primeira coleta foi de 108,6 dias (desvio-padrão: 28,29) e a média referente à segunda coleta foi de 236,8 dias (desvio-padrão: 11,26).

O coquetel antirretroviral utilizado pelas nossas participantes foi composto pela combinação de alguns inibidores de protease (RTV, ATV e LPV), inibidores nucleosídeos da transcriptase reversa (AZT, TDF e 3TC) e do EFZ, que é inibidor não nucleosídeos da transcriptase reversa. Destas gestantes, 9 delas usavam o coquetel formado por AZT/3TC/RTV/LPV, 3 por TDF/3TC/EFZ, 1 por ATV/RTV/TDF/3TC e 1 por AZT/3TC/ATV/RTV.

Como esperado, a TARV aumentou de forma significativa a contagem média de células T CD4⁺ ($p=0,0037$), sem alterar a contagem de células T CD8⁺ ($p=0,9386$). Em T0 e T1, a contagem média das células T CD4⁺ foi 474,4 células/ μ L (desvio-padrão: 206,0) e 693,3 células/ μ L (desvio-padrão: 334), respectivamente. Para as células T CD8⁺ o número médio em T0 e T1 foi, respectivamente, de 886,9 células/ μ L e 900,9/ μ L (desvio-padrão: 460,5). Em relação à carga viral plasmática (CVP), os valores médios referentes ao período T1 (37.821 cópias/mL, desvio-padrão: 69.878) foram significativamente menores quando comparados ao tempo T0 (1.445 cópias/mL, desvio-padrão: 5.046, $p= 0,0049$) (Tabela 2). Apesar desta redução significativa da CVP, uma das nossas participantes infectadas não apresentou redução da CVP em T1. Das demais gestantes estudadas, 2 delas contraíram sífilis durante a gestação e receberam tratamento. Quanto ao parto, 12 das gestantes infectadas tiveram parto a termo (idade gestacional acima de 37 semanas), 1 gestante teve parto pré-termo e 1 outra gestante não foi possível obter esta informação.

Tabela 2. Características das gestantes infectadas pelo HIV-1.

	T0 ¹ (n=14)	T1 ² (n=14)
Contagem média de células T CD4 ⁺ (dp) ³	474,4 (206)	693,3 (334)*
Contagem média de células T CD8 ⁺ (dp) ³	886,9 (364,1)	900,9 (460,5)
Carga viral plasmática média [cópias/mL (dp)] ³	37.821 (69.878)	1.445 (5.046) [#]
Tempo de gestação em dias (dp) ³	108,6 (28,29)	236,8 (11,26)
Tempo de tratamento em dias (dp) ³	126,1 (26,16)	
Esquema antirretroviral ³		
AZT/3TC/RTV/LPV		9
TDF/3TC/EFZ		3
ATV/RTV/TDF/3TC		1
AZT/3TC/ATV/RTV		1

¹Antes do início da terapia antirretroviral.

²Após início da terapia antirretroviral, no terceiro trimestre de gestação.

³Dados obtidos a partir do prontuário médico.

* p=0,0037.

[#] p=0,0049.

AZT, zidovudina; 3TC, lamivudina; RTV, ritonavir; LPV, lopinavir; TDF, tenofovir; EFZ, efavirenz; ATV, atazanavir.

4.2 IMPACTO DA TARV NA FREQUÊNCIA DAS CÉLULAS T_{FH} CIRCULANTES EM GESTANTES INFECTADAS PELO HIV-1

A expansão das células T_{FH} nos folículos de pacientes infectados pelo HIV-1 tem sido associada a replicação viral e prejuízo na produção de anticorpos neutralizantes contra diferentes antígenos (GRAFF-DUBOIS *et al.*, 2016; MILES *et al.*, 2016; WANG, X. *et al.*, 2016). Seguindo as estratégias de confinamento para análise das células T CD4⁺ CXCR5⁺PD-1⁺ (Figura 9A), nós observamos que a introdução da TARV diminuiu a porcentagem de células T_{FH} totais e do subtipo PD-1⁺ (Figura 10A). Com relação ao perfil de citocinas, identificada através de histogramas demonstrados na figura 9B, a TARV reduziu de forma não significativa a porcentagem de células T_{FH} IL-6⁺ ao mesmo tempo que elevou de forma significativa a proporção do subtipo IFN- γ ⁺ nas culturas controles e ativadas (Figura 10B). Apesar de a TARV não ter alterado a porcentagem de células T_{FH} IL-21⁺, a proporção dessas células aumentou em decorrência da rápida estimulação das culturas com PMA mais IO (Figura 10B). Antes da TARV (T0) nenhuma diferença na porcentagem das células T_{FH} IL-10⁺ foi observada entre os poços controles e os ativados. A terapia, por sua vez, apesar de ter reduzido a proporção dessas células

em culturas não estimuladas, aumentou a porcentagem delas mediante estimulação *in vitro*.

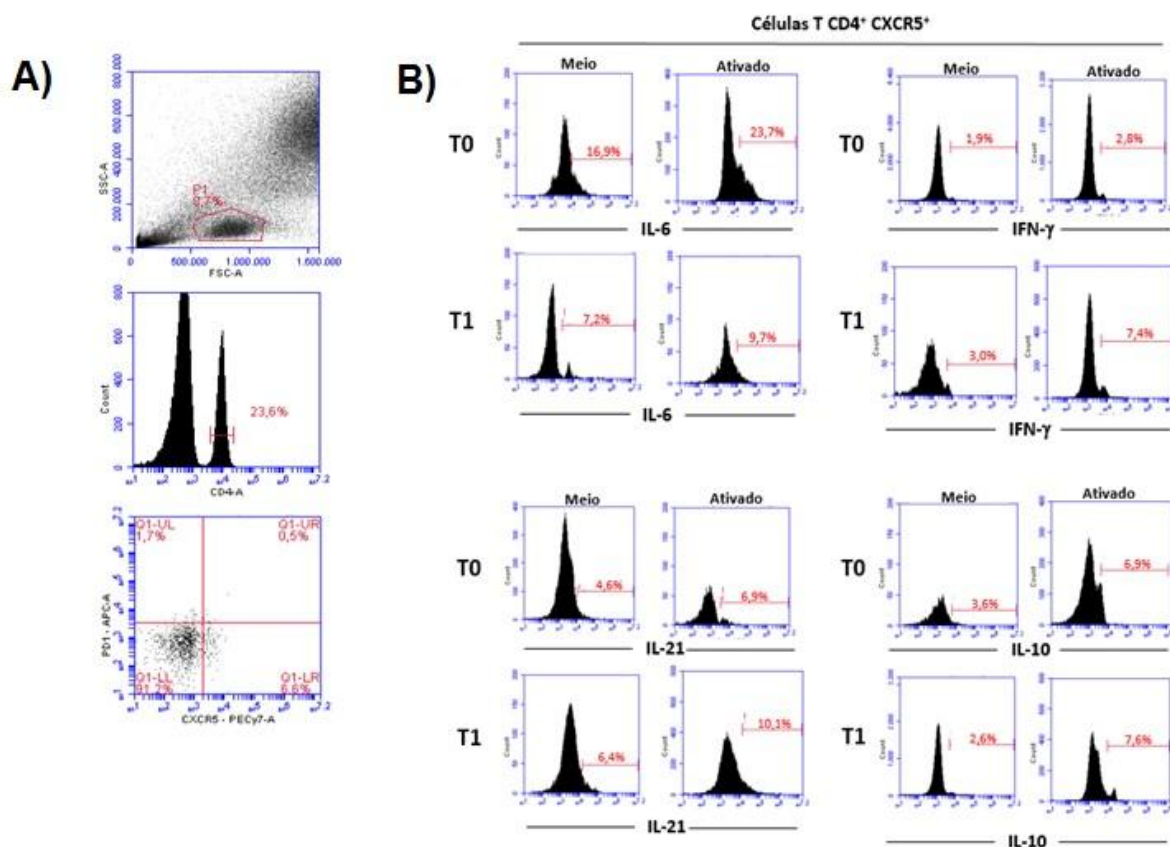


Figura 9: Estratégia de confinamento das células T CD4⁺ CXCR5⁺ circulantes em gestantes infectadas pelo HIV-1. (A) Dot-Plots representativos da distribuição das células T CD4⁺CXCR5⁺ expressando PD-1 antes (T0) e depois (T1) da terapia antirretroviral (TARV). (B) Histogramas representativos da porcentagem das células T CD4⁺CXCR5⁺ capazes de produzir IL-6, IFN-γ, IL-21 e IL-10 no sangue periférico de gestantes infectadas pelo HIV-1 antes (T0) e depois (T1) da terapia antirretroviral (TARV).

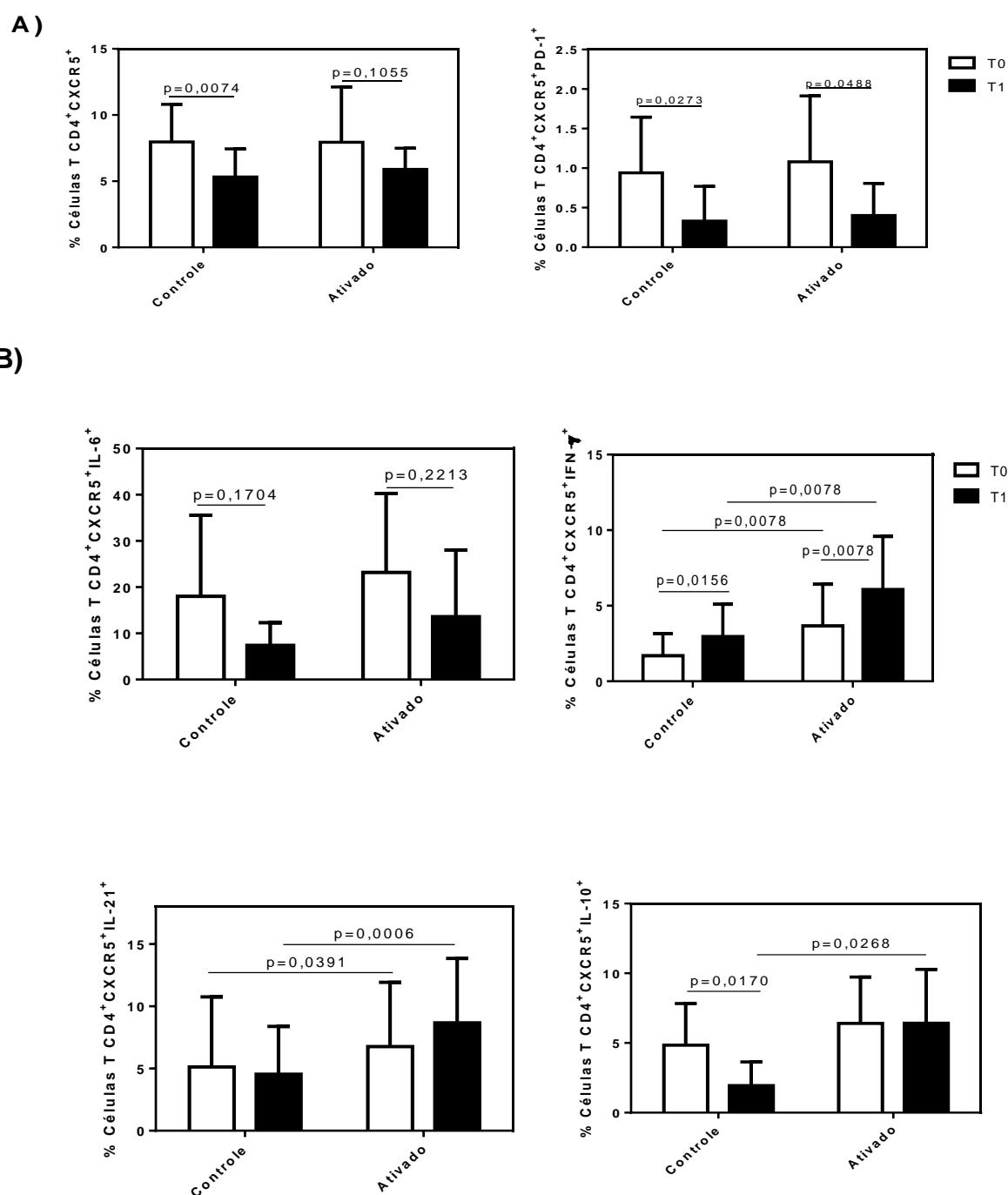


Figura 10: Impacto da terapia antirretroviral na porcentagem de células T CD4⁺ CXCR5⁺ periféricas produtoras de diferentes citocinas em gestantes infectadas pelo HIV-1. Amostras de sangue periférico de gestantes infectadas pelo HIV-1 antes do início da terapia antirretroviral (T0) e no terceiro trimestre da gestação (T1) foram incubadas por 4 horas na ausência (controle) e na presença de PMA e IO (ativado). (A) As células T CD4⁺ foram submetidas à marcação de superfície (CXCR5 e PD-1) (n=10) e (B) intracelular para identificar a expressão de IL-6 (n=7), IFN- γ (n=8), IL-21 (n=10), IL-10 (n=7). A frequência das células T_{FH} foi feita através do citômetro de fluxo Accuri C6. O teste *t* pareado foi utilizado para dados paramétricos e o teste Wilcoxon foi utilizado para dados não paramétricos. Os resultados estão representados como média \pm desvio-padrão e os valores de *p* estão representados na figura.

4.3 IMPACTO DA TERAPIA ANTIRRETROVIRAL NA FREQUÊNCIA DAS CÉLULAS T_{FH} DE MEMÓRIA CIRCULANTES EM RESPOSTAS AOS ANTÍGENOS DO HIV-1

Muitos dos distúrbios relacionados a AIDS têm sido associados a presença de antígenos virais (CHAO; WANG; HO, 2017; IVANOV *et al.*, 2016; WANG, 2013). Diante disso, nosso próximo passo foi avaliar o impacto da TARV na frequência de células T_{FH} circulantes em resposta aos antígenos do HIV-1 Gag e Env usando as estratégias de confinamento celular demonstradas na Figura 11. Vale a pena ressaltar que a adição de IL-2 humana recombinante foi necessária para que pudéssemos observar uma resposta detectável nas culturas de células.

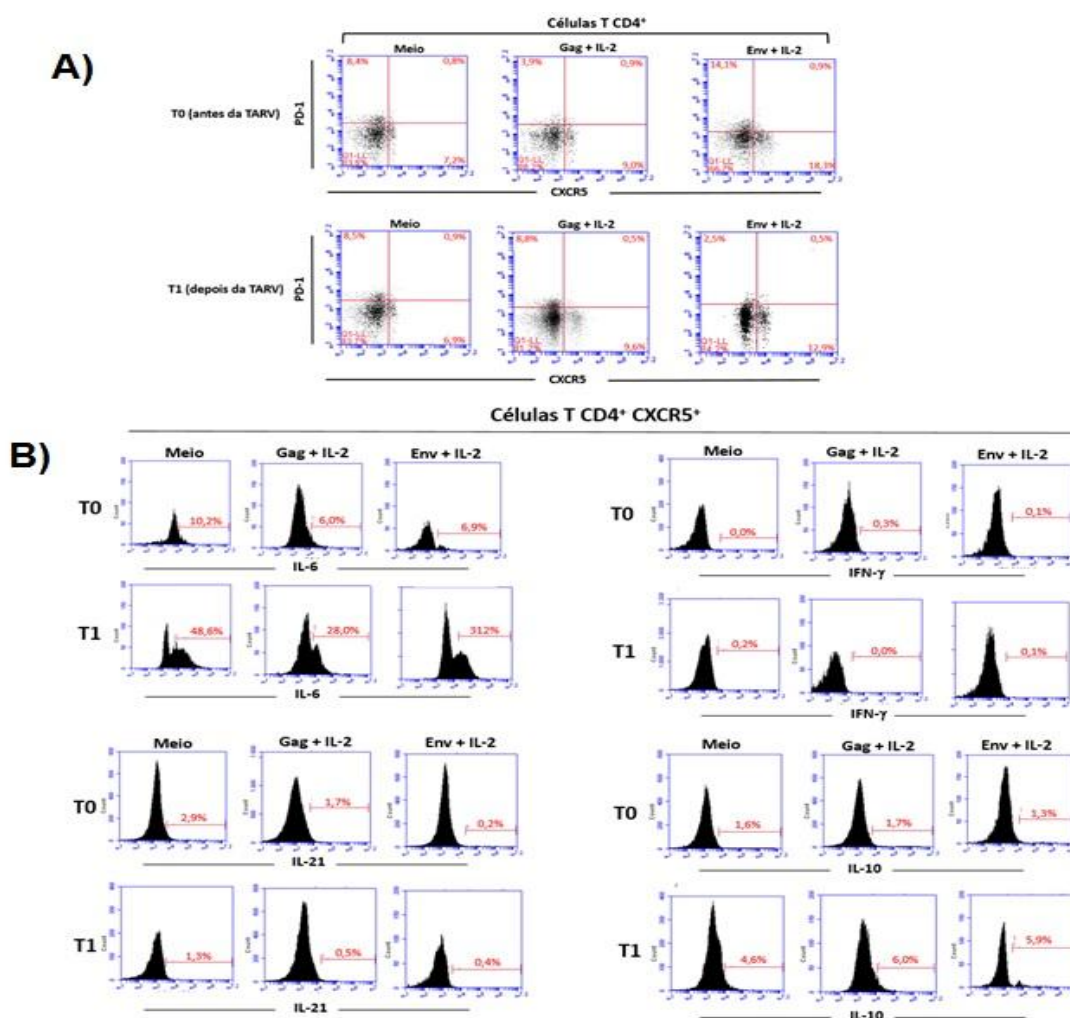


Figura 11: Estratégia de confinamento das células T CD4⁺ CXCR5⁺ de gestantes infectadas pelo HIV-1 em resposta a antígenos do HIV-1 antes e após a TARV. (A) Dot-Plots representativos da distribuição das células T CD4⁺ CXCR5⁺ expressando PD-1 antes (T0) e depois (T1) da terapia antirretroviral (TARV). (B) Histogramas representativos da percentagem das células T CD4⁺ CXCR5⁺ capazes de produzir IL-6, IFN- γ , IL-21 e IL-10 nas culturas de CMSP de gestantes infectadas pelo HIV-1 antes (T0) e depois (T1) da terapia antirretroviral (TARV).

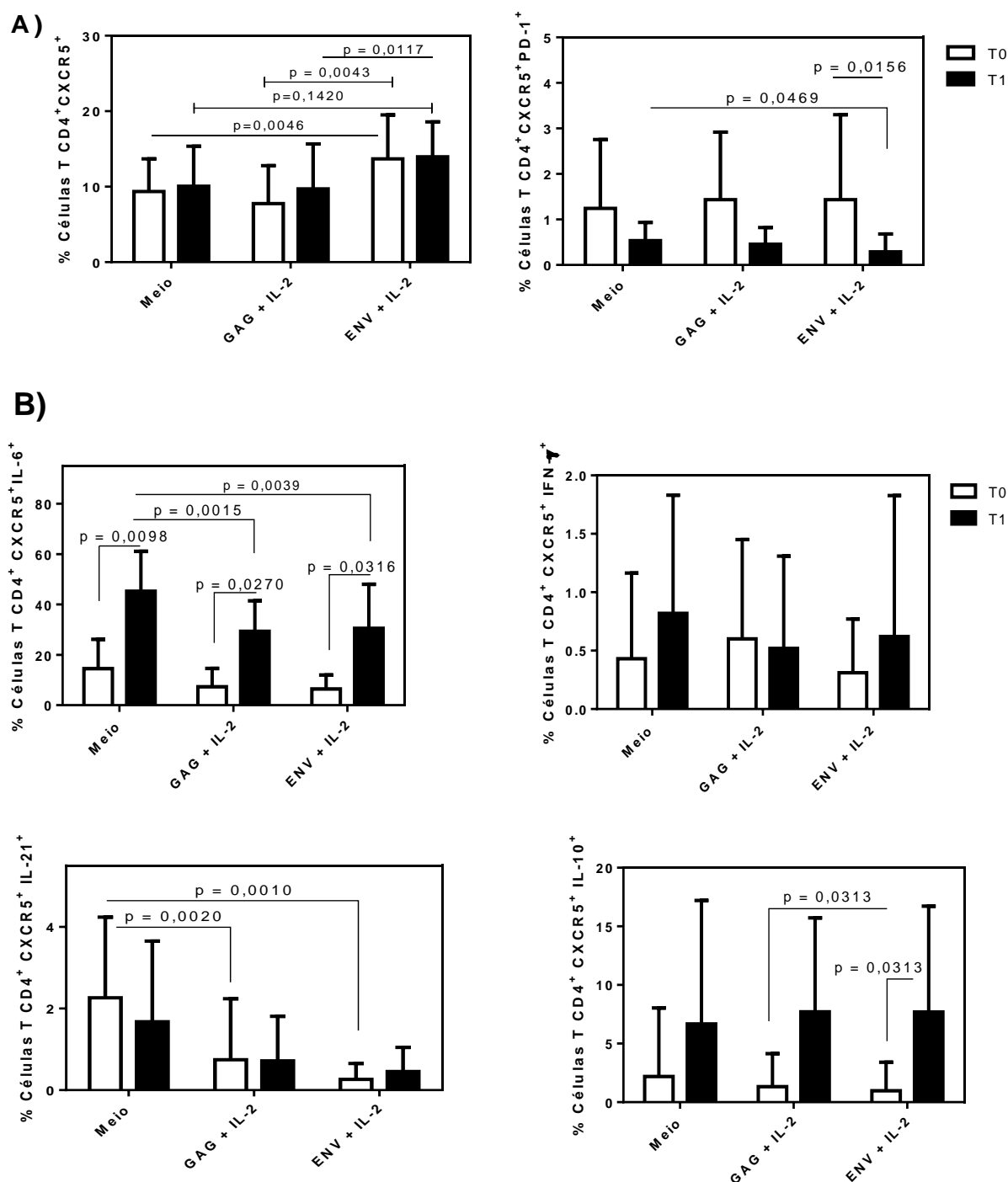


Figura 12: Impacto da terapia antirretroviral na porcentagem de células T CD4⁺ CXCR5⁺ em resposta a antígenos do HIV-1 de gestantes infectadas pelo vírus. As culturas de CMSP (1×10^6 /mL), obtidas das gestantes infectadas pelo HIV-1 antes do início da terapia antirretroviral (T0) e no terceiro trimestre da gestação (T1), foram mantidas por 6 dias na presença de Env ou Gag com IL-2 (20U/mL). As culturas de CMSP foram incubadas por 4 horas na ausência (meio) e na presença de PMA e IO (ativado). (A) As células T CD4⁺ foram submetidas à marcação de superfície (CXCR5 e PD-1) e (B) intracelular para identificar a expressão de IL-6, IFN- γ , IL-21, IL-10. A frequência das células T_{FH} foi feita através do citômetro de fluxo Accuri C6. O teste t pareado foi utilizado para dados paramétricos e o teste Wilcoxon foi utilizado para dados não paramétricos. Os resultados estão representados como média \pm desvio-padrão e os valores de p estão representados na figura.

Como demonstrado na figura 12A, o antígeno Env, mas não Gag, foi capaz de elevar a percentagem de células T_{FH} , sem nenhuma interferência da TARV. Por outro lado, a TARV reduziu a proporção dessas células que expressavam PD-1. Apesar do pequeno número de amostra analisada, a percentagem das células T_{FH} capazes de produzir IL-6 foi elevada após a TARV. Ademais, a percentagem dessas células T_{FH} foi reduzida quando estimuladas com os antígenos Gag e Env (Figura 12B). Embora a terapia não tenha mudado a proporção de células T_{FH} IL-21⁺, a percentagem desse subtipo celular foi dramaticamente reduzida nas culturas estimuladas com os antígenos do HIV-1. Por outro lado, a fração dessas células capazes de produzir IL-10 em resposta a esses antígenos foi elevada pela TARV. Nenhuma diferença foi observada no subtipo de células T_{FH} IFN- γ ⁺ em resposta a Gag ou a Env antes ou após TARV (Figura 12B).

4.4 COMPARAÇÃO DAS FREQUÊNCIAS DE CÉLULAS T_{FH} PERIFÉRICAS EM MULHERES GRÁVIDAS INFECTADAS OU NÃO PELO HIV-1

Para avaliar o impacto da infecção pelo HIV-1 na proporção de diferentes subtipos de células T_{FH} , amostras de sangue total de gestantes saudáveis e no último trimestre foram estimuladas e comparadas às amostras de gestantes infectadas também no terceiro trimestre de gestação. Como pode ser observado nas figuras 13A e 14A, a proporção das células T_{FH} , expressando ou não o marcador PD-1, foi significativamente menor nas gestantes positivas para o HIV-1 tratadas. Quanto ao perfil de citocinas, a percentagem de células T_{FH} produtoras de IL-6, IL-21 e IL-10, tanto em culturas controles ou estimuladas com PMA mais IO, foi significativamente superior nas amostras de gestantes saudáveis quando comparada às pacientes HIV-1 positivas sob TARV (Figura 14B). No caso das células T_{FH} IFN- γ ⁺, foram observadas diferenças significativas apenas nas culturas ativadas, nas quais as pertencentes às gestantes saudáveis apresentaram uma maior percentagem desse tipo celular (Figura 14B).

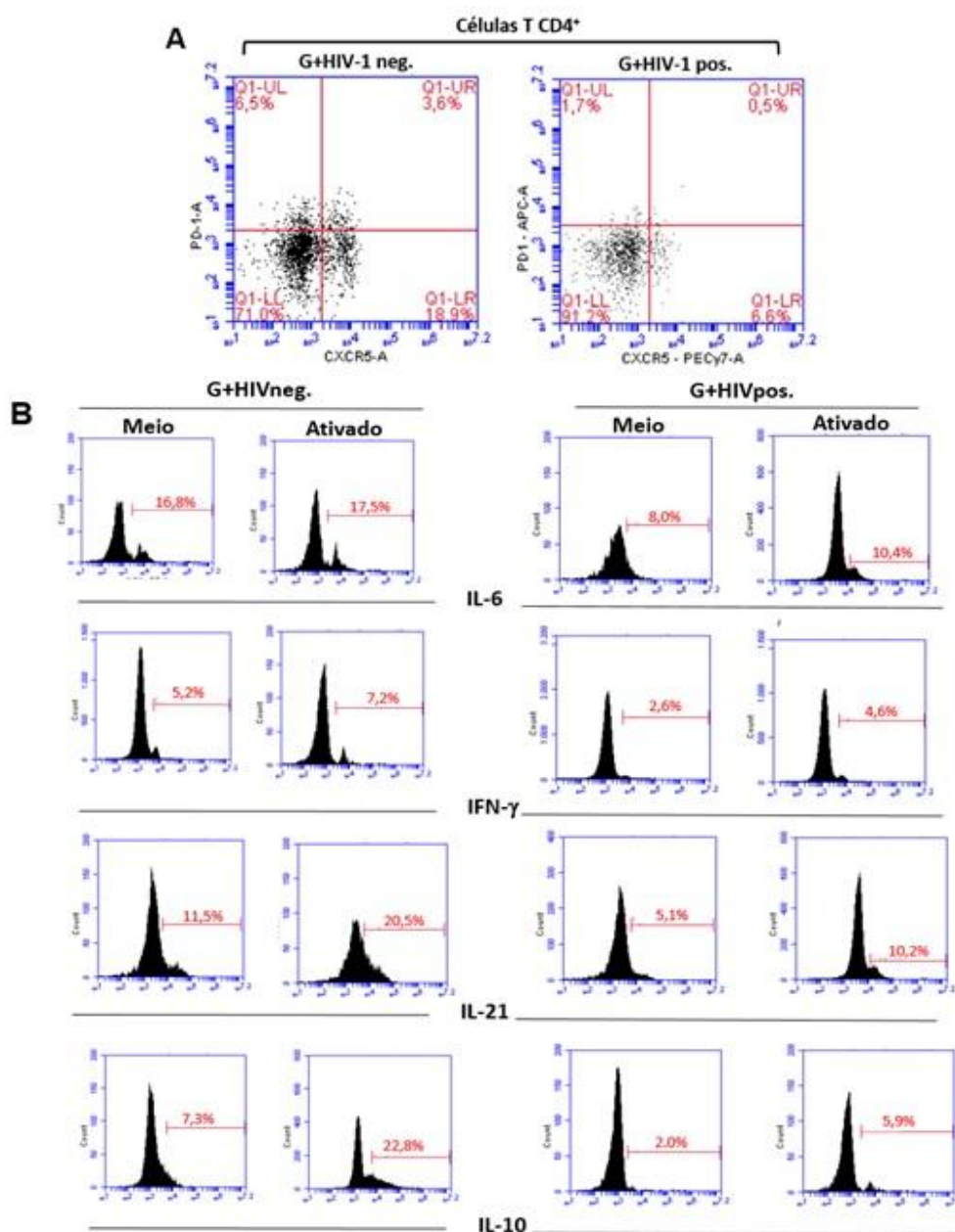


Figura 13: Estratégia de confinamento das células T CD4⁺ CXCR5⁺ circulantes em gestantes infectadas ou não pelo HIV-1. Dot-Plots (A) e histogramas (B) representativos da percentagem das células T CD4⁺CXCR5⁺ capazes de produzir IL-6, IFN- γ , IL-21 e IL-10 no sangue periférico de gestantes infectadas (G+HIVpos.) ou não (G+HIVneg.) pelo HIV-1 no terceiro trimestre da gestação.

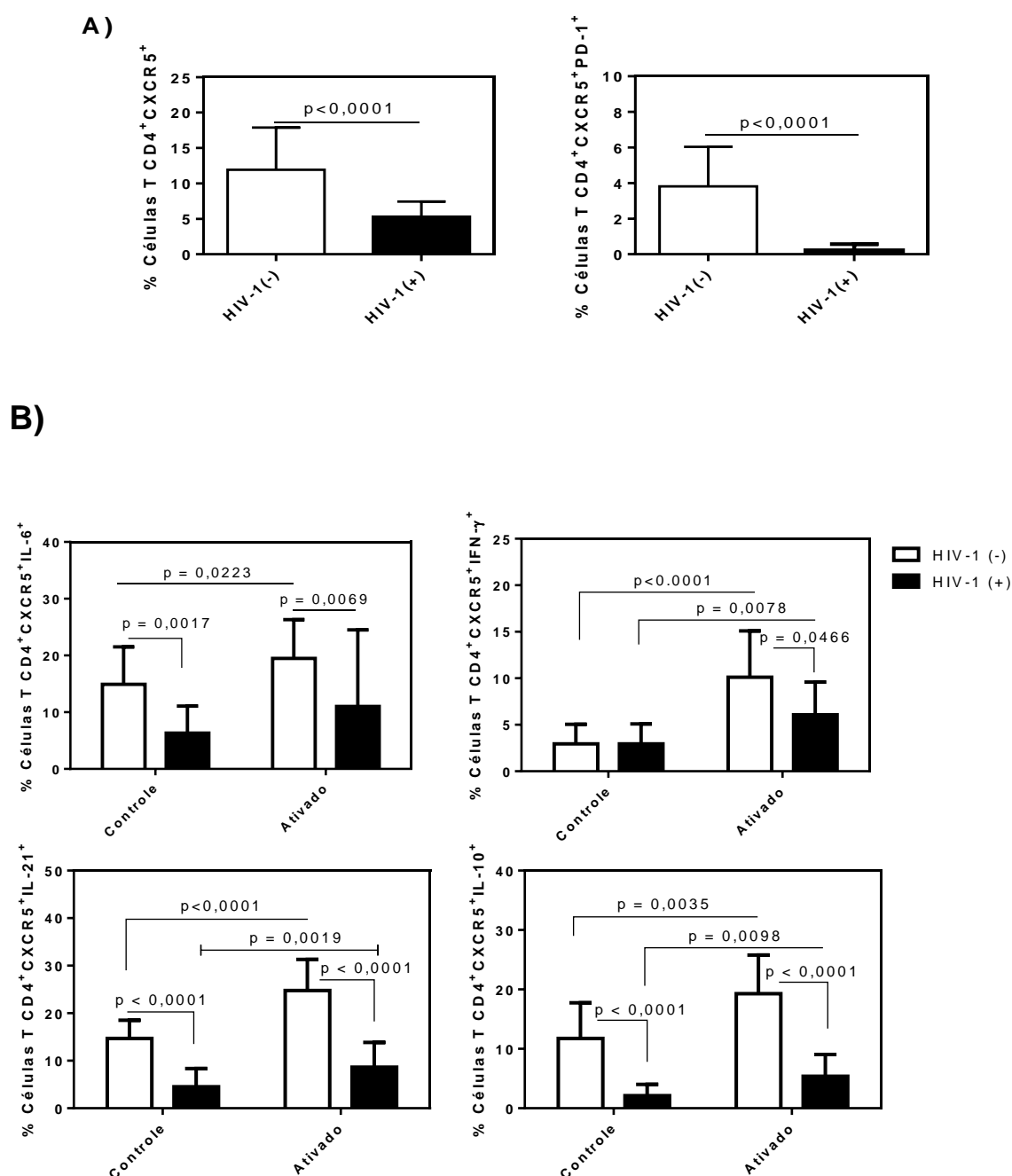


Figura 14: Impacto da infecção pelo HIV-1 na porcentagem de células T CD4⁺ CXCR5⁺ periféricas durante a gestação. Amostras de sangue periférico de gestantes saudáveis (HIV-1 (-), n=19) e gestantes infectadas pelo HIV-1 (HIV-1 (+), n=10), no terceiro trimestre de gestação, foram incubadas por 4 horas na ausência (meio) e na presença de PMA e IO (ativado) para a marcação de citocinas. (A) As células T CD4⁺ foram submetidas à marcação de superfície (CXCR5 e PD-1) (n=10) e (B) intracelular para identificar a expressão de IL-6 (n=7), IFN- γ (n=8), IL-21 (n=10), IL-10 (n=7). A frequência das células T_{FH} foi feita através do citômetro de fluxo Accuri C6. Os testes t pareado ou não pareado foram utilizados para dados paramétricos e os testes Wilcoxon ou Mann-Whitney foram utilizados para dados não paramétricos. Os resultados estão representados como média \pm desvio-padrão e os valores de *p* estão representados na figura.

4.5 IMPACTO DA INFECÇÃO PELO HIV-1 NA SÍNTESE DE ANTICORPOS E NOS NÍVEIS DOS HORMÔNIOS GESTACIONAIS

Estudo recente publicado pelo nosso grupo conduzido com mulheres adultas jovens saudáveis mostrou que a gestação eleva os níveis de IgG contra antígeno HBs do vírus da hepatite B (MONTEIRO *et al.*, 2017). Ademais, uma correlação positiva foi observada entre os títulos desses anticorpos com a frequência de células T_{FH} IL-21⁺ e os níveis circulantes de estrogênio (MONTEIRO *et al.*, 2017). No presente estudo, apesar da introdução da TARV ter elevado os títulos de IgG anti-HBs em pacientes infectadas pelo HIV-1, seus níveis ainda foram inferiores aos das gestantes saudáveis e HIV-1 negativas (Figura 15A). Com relação aos hormônios, os níveis de estradiol, mas não de progesterona, foram significativamente inferiores nas gestantes infectadas pelo HIV-1 no terceiro trimestre de gestação e sob a TARV (Figura 15B).

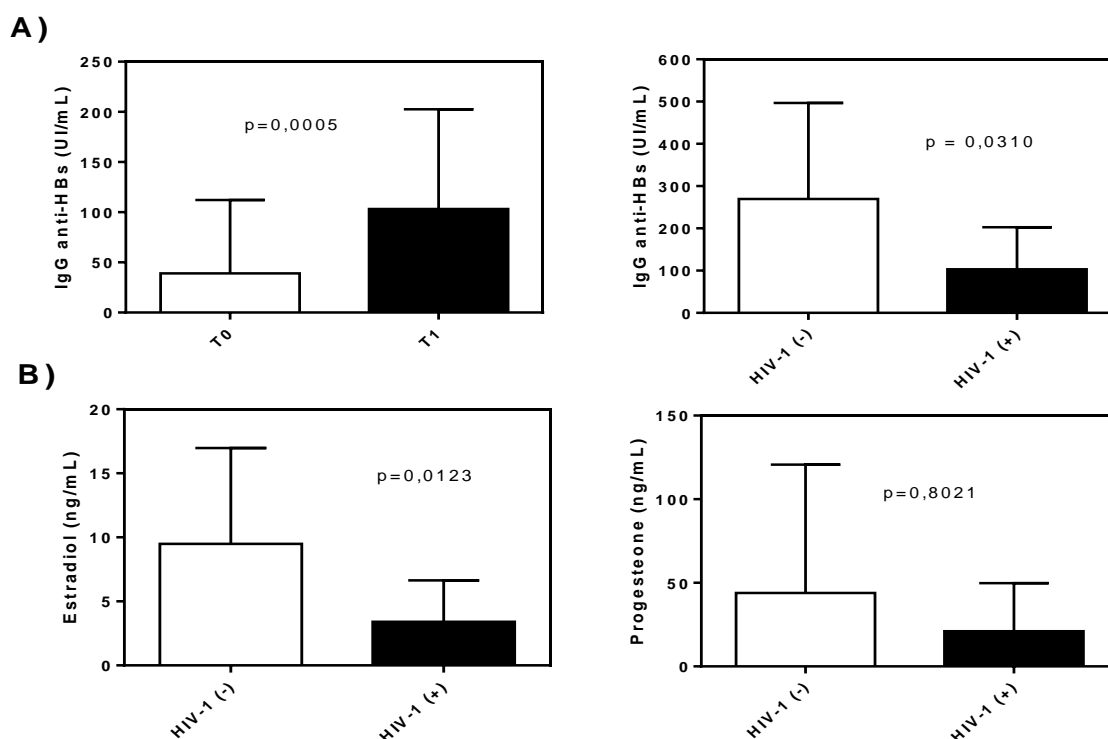


Figura 15: Impacto da infecção pelo HIV-1 nos níveis de IgG anti-HBs e nos níveis de estradiol e progesterona durante a gestação. O plasma de gestantes saudáveis (HIV-1 (-), n=14) e gestantes infectadas pelo HIV-1 (HIV-1 (+), n=13), no terceiro trimestre de gestação foi submetido a dosagem de IgG anti-HBs (A), estradiol e progesterona (B) pela técnica de ELISA. No caso das gestantes infectadas pelo HIV-1, os títulos de IgG anti-HBs foram quantificados antes (T₀) e após (T₁) a TARV (A). Os testes t pareado ou não pareado foram utilizados para dados paramétricos e os testes Wilcoxon ou Mann-Whitney foram utilizados para dados não paramétricos. Os resultados estão representados como média \pm desvio-padrão e os valores de p estão representados na figura.

4.6 CORRELAÇÃO ENTRE A PORCENTAGEM DAS CÉLULAS T_{FH} E OS NÍVEIS PLASMÁTICOS DE IgG ANTI-HBs E OS HORMÔNIOS EM GESTANTES INFECTADAS PELO HIV-1

Como demonstrado anteriormente, a TARV elevou os níveis de IgG anti-HBs. No presente estudo, quando analisados os subtipos de células T_{FH} capazes de produzir IL-21, IL-10 ou IFN- γ , apenas uma tendência foi observada entre uma maior frequência de células T_{FH} IL-21⁺ e os títulos de IgG anti-HBs ($p=0,0595$) (Figura 16A). Quanto aos hormônios (figura 16B e 16C), uma correlação direta e significativa foi observada entre os níveis de estrogênio e a proporção de células T_{FH} IL-21⁺ (Figura 16B). Resultado mais recente também revelou falta de correlação entre os títulos de IgG anti-HIV-1 e a frequência de diferentes fenótipos de células T_{FH} em gestantes infectadas, mesmo após a terapia (dados não demonstrados).

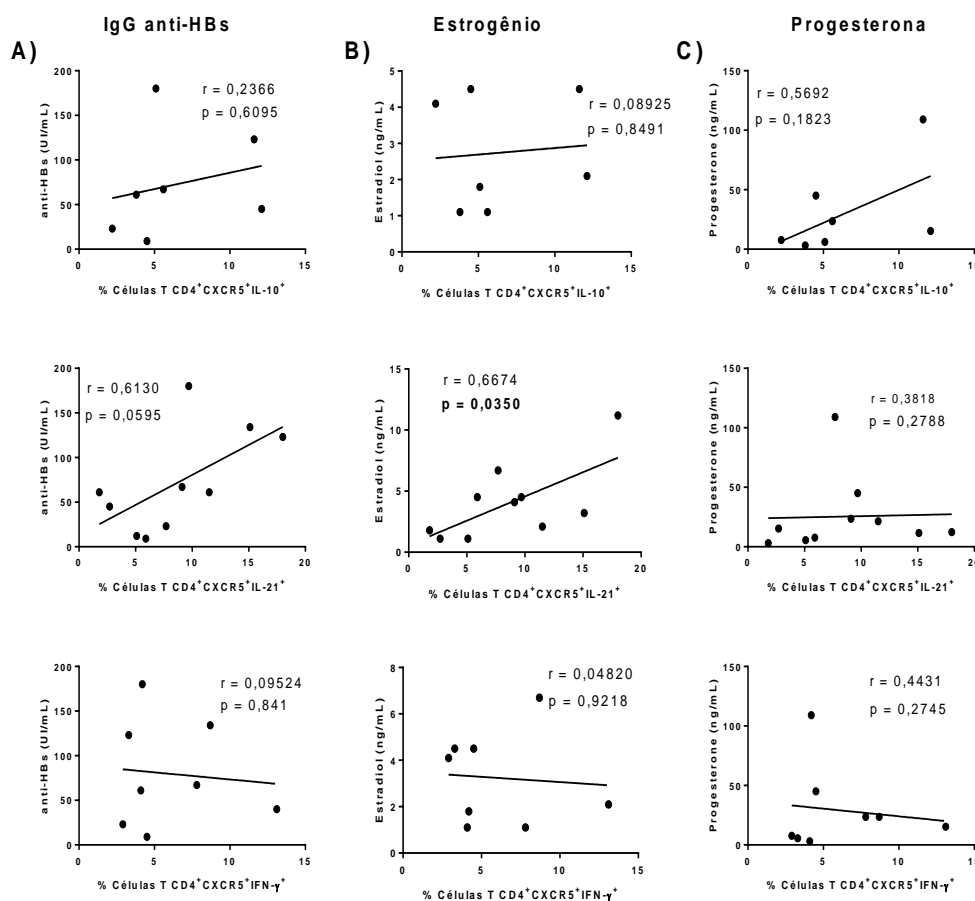


Figura 16: Correlação entre a porcentagem das células T_{FH} e os níveis plasmáticos de IgG anti-HBs, estradiol e progesterona em gestantes infectadas pelo HIV-1. O plasma de gestantes infectadas pelo HIV-1 (HIV-1 (+), n=13), no terceiro trimestre de gestação foi submetido à dosagem de IgG anti-HBs, estradiol e progesterona pela técnica de ELISA. O teste de Pearson foi utilizado para dados paramétricos e o teste de Spearman foi utilizado para dados não paramétricos. Os valores de p estão representados na figura.

5. DISCUSSÃO

Apesar da infecção pelo HIV-1 prejudicar a função de diversas células do sistema imunológico, os linfócitos T CD4⁺ são particularmente sensíveis devido a sua maior permissividade a replicação viral e menor capacidade em repor esse compartimento celular em razão da involução tímica (GRAFF-DUBOIS; ROUERS; MORIS, 2016; PALMER *et al.*, 2013). Dentre os subtipos de linfócitos T CD4⁺, as células T_{FH} são um dos alvos preferenciais durante o curso da infecção por representar o principal nicho de replicação e reservatório do HIV-1 nos gânglios linfáticos (GRAFF-DUBOIS; ROUERS; MORIS, 2016; THORNHILL *et al.*, 2017; WANG *et al.*, 2016). Ademais, o dano funcional observado nas células T_{FH} compromete a produção dos anticorpos neutralizantes contra diferentes patógenos (BORROW & MOODY, 2017; COLINEAU *et al.*, 2015; CUBAS *et al.*, 2013; GRAFF-DUBOIS; ROUERS; MORIS, 2016; PALLIKKUTH *et al.*, 2012; THORNHILL *et al.*, 2017).

Diferente da infecção pelo HIV-1, recente estudo publicado pelo nosso grupo demonstrou que a gestação favorece a expansão de células T_{FH} circulantes totais e do subtipo capaz de coexpressar PD-1 e ICOS (MONTEIRO *et al.*, 2017). Esse achado pode ajudar a explicar porque a gravidez potencializa a resposta imune humoral em detrimento da queda dos fenótipos T_{H1} e T_{H17} (MONTEIRO *et al.*, 2017; POLESE *et al.*, 2014; SHUMACHER *et al.*, 2014).

No presente estudo, apesar de não possuímos dados referentes sobre a frequência das células T_{FH} antes da gravidez, os níveis dessas células, como também do subtipo PD-1⁺, foram inferiores no terceiro trimestre da gestação de mulheres infectadas pelo HIV-1, submetidas à TARV, quando comparado ao grupo de gestantes saudáveis e HIV-1 negativas. Vale ressaltar que nenhuma das pacientes tinha critério clínico (doenças oportunistas) ou imunológico (contagem de células T CD4⁺ > 200/mm³) de AIDS, supondo, portanto, que todas encontravam-se, mais provavelmente, na fase crônica da infecção. Apesar de duas pacientes terem apresentado o diagnóstico de sífilis primária durante a gestação, suas amostras não foram, a princípio, excluídas, pois os valores de todas as variáveis imunológicas estudadas estavam próximos aos valores médios do grupo. Entretanto, para melhorar a força de nossas comparações, nosso grupo precisa aumentar o número de pacientes estudadas, o que está sendo feito. Outro fator limitante em nosso estudo

é o pouco tempo de terapia anti-HIV no qual as pacientes foram condicionadas, apenas 4 a 6 meses. Apesar de existirem muitas variáveis, a eficiente reconstituição numérica, e principalmente funcional, das células T CD4⁺ em pacientes infectados pelo HIV-1 não é vista em menos de 1 a 2 anos de sucesso terapêutico com os antirretrovirais (CHÉRET *et al.*, 2015; LAANANI *et al.*, 2015; LU *et al.*, 2015). Infelizmente, por problemas de logística o nosso grupo não conseguiu acompanhar prospectivamente as mulheres após o parto.

Apesar de estudos já terem descrito um aumento da frequência de células T_{FH} nos órgãos linfoides secundários de indivíduos infectados pelo HIV (GRAFF-DUBOIS; ROUERS; MORIS, 2016; MILES *et al.*, 2016; WANG X. *et al.*, 2016), esse evento tem sido associado ao aumento da IL-6 (GRAFF-DUBOIS; ROUERS; MORIS, 2016; ONABAJO & MATTAPALLIL, 2013). De forma interessante, apesar do pouco tempo de TARV, a proporção das células T_{FH} totais ou PD-1⁺, assim como do subtipo capaz de produzir IL-6, foi reduzida depois de instituir o tratamento. Esses benefícios podem estar diretamente relacionados ao controle da viremia, o que diminui a exaustão celular verificada (CUBAS *et al.*, 2013; GRAFF-DUBOIS; ROUERS; MORIS, 2016; HOFFMANN *et al.*, 2016; WANG S. *et al.*, 2016). Por exemplo, proteínas do HIV-1, por controlar a maquinaria celular, aumentam o metabolismo glicolítico da célula infectada elevando a expressão de receptores Glut 1 e Glut 3. Isso aparentemente pode estar envolvido com a hiperatividade imunológica e exaustão imune identificada, entre outros marcadores, pela elevada expressão de PD-1 (PALMER *et al.*, 2016). Adicionalmente, as proteínas virais gp120, Tat, Nef, Vpr e transcriptase reversa, provocam disfunções mitocondriais por várias vias diferentes, ocasionando estresse oxidativo na célula infectada e consequentemente a expressão de PD-1 (CHAO; WANG; HO, 2017; IVANOV *et al.*, 2016). Por outro lado, Wang S. e colaboradores (2016) relatam uma maior frequência de células T CD4⁺ expressando PD-1 na decídua de gestantes e que essa expressão estaria correlacionada à tolerância imune ao conceito e, portanto, a um curso saudável da gestação. Portanto, o impacto do acúmulo da expressão do PD-1 na resposta imune pode depender do tipo celular que expressa esse marcador, sendo sua expressão benéfica em células Tregs e T_{FH} no contexto da gestação, mas deletéria quando presente na superfície das células T cronicamente ativada (GRAFF-DUBOIS; ROUERS; MORIS, 2016; WANG, S. *et al.*, 2016; WANG, X. *et al.*,

2016). No contexto da infecção pelo HIV-1, a redução na expressão de PD-1 nas células T_{FH} pela TARV pode ajudar a reduzir o nível de exaustão dessas células, melhorando suas funções efetoras imunológicas, como por exemplo, a síntese de citocinas (CUBAS *et al.*, 2013; GRAFF-DUBOIS; ROUERS; MORIS, 2016; WANG, X. *et al.*, 2016).

Em nosso estudo, a TARV elevou a proporção de células T_{FH} capazes de produzir IFN- γ nas culturas estimuladas ou não. Isso poderia ser explicado como um efeito da terapia antirretroviral, visto que o aumento dessas células produtoras de IFN- γ poderia estar correlacionado ao aumento de anticorpos IgG específicos para o HIV-1 (MACKINSTRY *et al.*, 2010). Infelizmente, devido a limitações técnicas (citômetro de 4 cores), não foi possível determinar a coexpressão de IL-21 nesse subtipo celular, o que será possível a partir de agora que o laboratório acabou de receber um citômetro de fluxo com 14 cores. Com relação a porcentagem das células T_{FH} IL-21⁺, nenhum efeito da TARV foi observado nesse subtipo celular. Entretanto, a rápida ativação *in vitro* elevou a frequência dessas células, o que sugere que esse tipo celular é capaz de responder a estimulação antigênica, mesmo que em menor intensidade do que o observado em gestantes saudáveis e negativas para o vírus HIV-1. Adicionalmente, existe a possibilidade de a terapia ter elevado a frequência do subtipo de células T_{FH} capaz de produzir simultaneamente IL-21 e IFN- γ em gestantes infectadas pelo HIV-1. Finalmente, apesar de a TARV ter reduzido a proporção de células T_{FH} capaz de produzir IL-10 no sangue periférico, o tratamento elevou a porcentagem dessas células seguindo estimulação *in vitro*.

A IL-10 tem sido ligada à inibição da replicação viral nas células T infectadas pelo HIV-1, assim como prejudicaria respostas imunes efetoras contra o vírus (BENTO *et al.*, 2009; CHEVALIER & WEIS, 2013; LÓPEZ-ABENTE *et al.*, 2016; VALVERDE-VILLEGAS *et al.*, 2015). O incremento na frequência de células T_{FH} observada em gestantes infectadas pelo HIV-1 após a TARV seguido por rápida estimulação *in vitro* pode ajudar, portanto, no controle da replicação viral nos folículos dos gânglios linfáticos. Ademais, na gestação, elevados níveis de estrogênio e progesterona podem favorecer a expansão de células T foliculares reguladoras (T_{FR}), importante na manutenção da resposta de tolerância ao feto (POLESE *et al.*, 2014; ROBINSON & KLEIN, 2012). Em nosso estudo, apesar do pequeno número de amostras analisadas, níveis inferiores de estrogênio foram

dosados no sangue das gestantes infectadas pelo HIV-1, quando comparado ao grupo controle. Isso pode ser um dos mecanismos pelos quais as células T_{FH} podem estar disfuncionais.

De fato, não apenas os níveis de estrogênio foram menores, como a proporção de células T_{FH} circulantes capazes de produzir IL-21 foram inferiores em gestantes infectadas pelo HIV-1, quando comparado ao grupo controle. Entretanto, assim como observado em nosso estudo prévio conduzido em gestantes saudáveis (MONTEIRO *et al.*, 2017), uma correlação positiva foi observada entre a frequência de células T_{FH} IL-21⁺ e os níveis de estradiol no grupo de pacientes infectadas pelo HIV-1. Embora a TARV tenha elevado os títulos de IgG anti-HBs em pacientes infectadas pelo HIV-1, seus níveis ainda foram inferiores aos das gestantes saudáveis e não infectadas pelo HIV-1. Adicionalmente, diferente do que é observado em outros estudos (CROTTY, 2015; BENTEBIBEL *et al.*, 2013; LOCCI *et al.*, 2013; MONTEIRO *et al.*, 2017; ONABAJO *et al.*, 2013), nenhuma relação significativa foi observada entre os títulos desses anticorpos com a proporção de células T_{FH} . Isso pode estar relacionado ao pequeno número de amostra estudada e também ao pouco tempo de tratamento com TARV.

Vale ressaltar que o vírus HIV-1 também impacta negativamente os linfócitos B do organismo. Defeitos na resposta imune humoral de alta eficiência tem sido ligada a disfunção associada a ativação policlonal de células B e hipergamaglobulinemia. Um dos mecanismos propostos envolve a capacidade da gp120 de inibir a quimiotaxia dos linfócitos B para os linfonodos (BADR *et al.*, 2005; ONABAJO & MATTAPALLIL, 2013). Outro mecanismo pode envolver a queda nos níveis de estrogênio. Como já mencionado anteriormente, em um estudo publicado por Fu e colaboradores (2011), altas concentrações de estradiol diminuiriam a necessidade de coestimulação por parte das T_{FH} nas células B para a síntese de anticorpos. Até o momento, as causas para esta queda na concentração plasmática do estradiol ainda estão obscuras. Apesar de não ter sido significativo, os níveis médios de progesterona também foram menores em nossas gestantes infectadas pelo HIV-1.

Segundo Kumar e colaboradores (2012) o HIV replica-se localmente nas células decíduais do ambiente placentário. Isso poderia influenciar negativamente na síntese dos hormônios estradiol e progesterona, visto que, como anteriormente mencionado a placenta torna-se a principal fonte dos referidos hormônios nas fases

mais adiantadas da gestação. Outro mecanismo, não excludente para essa diminuição dos níveis dos hormônios gestacionais, pode envolver a TARV (LANDOLT *et al.*, 2014; PAPP *et al.*, 2015; SIOU *et al.*, 2016).

Segundo a Organização Mundial de Saúde, o coquetel antirretroviral usado para o tratamento de gestantes infectadas deve conter a princípio, dois inibidores nucleosídicos da transcriptase reversa, acompanhados de um inibidor não nucleosídico da mesma ou um inibidor de protease (HERNANDEZ *et al.*, 2017). Estudo publicado por Landolt e colaboradores (2014) observou efeitos de diminuição nos níveis de estradiol e progesterona séricos, mediante a administração de inibidores de protease e inibidores não nucleosídicos da transcriptase reversa, durante o tratamento de mulheres infectadas pelo HIV-1 com anticoncepcionais orais. Ademais, Papp e colaboradores (2015) e Siou e colaboradores (2016) relataram em seus estudos uma diminuição na progesterona plasmática em gestantes infectadas pelo HIV-1 em decorrência da ação dos inibidores de protease administrados no coquetel antirretroviral.

Quanto à influência dos antígenos virais do HIV-1 na indução de resposta imunológica, diversos estudos visam compreender o papel de cada um deles no curso da doença. Contudo, alguns dos mais estudados são os antígenos Gag e Env do vírus (DEL CORNÒ *et al.*, 2014; KORSHOLM *et al.*, 2013; SHETE *et al.*, 2016). De acordo com nossos resultados, os antígenos Gag e, principalmente Env, elevaram a frequência de células T_{FH} totais, mas não o subtipo $PD-1^+$ nas pacientes infectadas pelo HIV-1, tratadas ou não com TARV. Esse efeito foi dependente do estado infectado do paciente, desde que esse fenômeno não foi observado em indivíduos saudáveis e HIV-1 negativos (dados não demonstrados). De forma interessante, quanto ao perfil de citocina, Env reduziu a proporção das células T_{FH} $IL-21^+$. A percentagem das células $IL-6^+$ foi reduzida pelo Env, mais continuou elevada quando comparado a outros fenótipos de células T_{FH} produtores de citocinas. Esses resultados sugerem um interessante mecanismo de manipulação imune mediado pelos antígenos virais, favorecendo a expansão da própria célula hospedeira capaz de produzir IL-6, uma citocina que favorece a replicação viral (GRAFF-DUBOIS; ROUERS; MORIS, 2016; ONABAJO & MATTAPALLIL, 2013), mas de reduzir o aporte da citocina mais importante na colaboração eficiente entre as células T $CD4^+$ e B na indução da imunidade humoral de alta eficiência, a IL-21.

Coletivamente os dados apresentados aqui sugerem que a infecção pelo HIV-1 compromete o compartimento das células T_{FH} , sendo esse fenômeno ligado, ao menos em parte, a presença de antígenos do vírus.

6. CONCLUSÃO

- ✓ A introdução da TARV no primeiro trimestre da gestação foi capaz de elevar o número de células $T\ CD4^+$ e reduzir a viremia em gestantes infectadas pelo HIV-1;
- ✓ O uso de TARV durante a gestação não foi capaz de elevar a proporção *ex vivo* de células T_{FH} circulantes funcionais em gestantes infectadas pelo HIV-1, identificadas, principalmente, pela expressão de CXCR5 e produção de IL-21;
- ✓ O antígeno Env elevou a porcentagem das células $T_{FH}\ PD-1^+$ em gestantes infectadas pelo HIV.
- ✓ A proporção das células T_{FH} produtoras de IL-6 e IL-21 foram significativamente diminuídas pelos antígenos Env e Gag.
- ✓ A TARV aumentou os títulos de anticorpos anti-HBs nas pacientes infectadas, porém esses níveis ainda foram significativamente inferiores aos observados no nosso grupo controle.
- ✓ Nenhuma correlação foi observada entre a proporção das células T_{FH} produtoras de diferentes citocinas e os títulos de anticorpos anti-HBs ou os níveis plasmáticos dos hormônios estrogênio e progesterona.
- ✓ A porcentagem das células T_{FH} produtoras de IL-21 foi positivamente correlacionada com os níveis plasmáticos de estradiol nas nossas participantes infectadas pelo HIV-1.

Apesar de preliminares, nossos achados sugerem que a introdução da terapia antirretroviral no primeiro trimestre, apesar de reduzir a viremia e elevar a contagem de células $T\ CD4^+$ periféricas, não foi capaz de aumentar a proporção de células T_{FH} funcionais nas nossas participantes infectadas. Isso pode estar relacionado a dois

eventos não excludentes, o pouco tempo de terapia e a presença de antígenos Env circulantes que, em nosso estudo, mostrou-se capaz de diminuir a porcentagem dessas células em cultura.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABBAS, A.K.; LICHTMAN, A.H.; PILLAI, S. Imunodeficiências Congênitas e Adquiridas. **Imunologia Celular e Molecular**. São Paulo. Editora: Saunders Elsevier, tradução as 7^a ed., cap. 20, p. 457-468, 2012.

ACHARYA, P.; LUSVARGHI, S.; BEWLEY, C.A.; KWONG, P.D. HIV-1 gp120 as therapeutic target: Navigating a moving labyrinth. **Journal Expert Opinion on Therapeutic Target**. Londres, v. 19, n. 6, p. 765-783, 2015.

ACOSTA-RODRIGUEZ, E.C.; RIVINO, L.; GEGINAT, J.; JARROSSAY, D.; GATTORNO, M.; LANZAVECCHIA, A.; SALLUSTO, F.; NAPOLITANI, G. Surface phenotype and antigen specificity of human interleukin 17-producing T helper memory cells. **Nature Immunology**. Nova Iorque, v. 8, n. 6, p. 639-646, 2007.

AGOSTO, L.M.; GAGNE, M.; HENDERSON, A.J. Impact of chromatin on HIV replication. **Genes**, v. 6, n. 4, p. 957-976, 2015.

AHMED, Z.; KAWAMURA, T.; SHIMADA, S.; PIGUET, V. The role of human dendritic cells in HIV-1 infection. **The Journal of Investigative Dermatology**. Baltimore, v. 135, n. 5, p. 1225-1233, 2015.

ALTMAN, J.D.; MOSS, P.A.; GOULDER, P.J.; BAROUCH, D.H.; MCHEYZER-WILLIAMS, M.G.; BELL, J.I.; MCMICHAEL, A.J.; DAVIS, M.M. Phenotypic analysis antigen-specific T lymphocytes. **Science**. Nova Iorque, v. 274, n. 5284, p. 94-96, 1996.

ALROQI, F.; CHATILA, T.A. T regulatory cell biology in health and disease. **Current Allergy and Asthma Report**. Filadélfia, v. 16, n. 4, p. 4-7, 2016.

ANCUTA, P.; MONTEIRO, P.; SEKALY, R.P. T_H17 lineage commitment and HIV-1 pathogenesis. **Current Opinion in HIV and AIDS**. Hagerstown, v. 5, n. 2, p. 158-165, 2010.

ANTONELLI, A.; FERRARI, S.M.; GIUGGIOLI, D.; FERRANNINI, E.; FERRI, C.; FALLAHI, P. Chemokine (C-X-C motif) ligand (CXCL) 10 in autoimmune diseases. **Autoimmunity Reviews**. Amsterdã, v. 13, n. 3, p. 272-280, 2014.

ANNUNZIATO, F.; COSMI, L.; SANTARLASCI, V.; MAGGI, L.; LIOTTA, F.; MAZZINGHI, B.; PARENTE, E.; FILÌ, L.; FERRI, S.; FROSALI, F.; GIUDICI, F.; ROMAGNANI, P.; PARRONCHI, P.; TONELLI, F.; MAGGI, E.; ROMAGNANI, S. Phenotypic and functional features of human T_H17 cells. **Journal of Experimental Medicine**. Nova lorque, v. 204, n. 8, p. 1849-1861, 2007.

ANNUNZIATO, F.; ROMAGNANI, C.; ROMAGNANI, S. The 3 major types of innate and adaptative cell-mediated effector immunity. **The Journal of Allergy and Clinical Immunology**. Saint Louis, v. 135, n. 3, p. 626-635, 2015.

APPAY, V.; NIXON, V.F.; DONAHOE, S.M.; GILLESPIE, G.M.; DONG, T.; KING, A.; OGG, G.S.; SPIEGEL, H.M.; CONLON, C.; SPINA, C.A.; HAVLIR, D.V.; RICHMAN, D.D.; WATERS, A.; EASTERBROOK, P.; MCMICHAEL, A.J.; ROWLAND-JONES, S.L. HIV-specific CD8⁺ produce antiviral cytokines but are impaired in cytolytic function. **The Journal of Experimental Medicine**. Nova lorque, v. 192, n. 1, p. 63-75, 2000.

ARRIGHI, J.F.; PION, M.; GARCIA, E.; ESCOLA, J.M.; KOOYK, Y.; GEIJTENBEEK, T.B.; PINGUET, V. DC-SIGN-mediated infectious synapse formation enhances X4 HIV-1 transmission from dendritic cells to T cells. **The Journal of Experimental Medicine**. Nova lorque, v. 200, n. 10, p. 1279-1288, 2004.

AZIZ, G.; POUYANI, M.R.; NAVABI, S.S.; YAZDANI, Z.; KIAEE, F.; MIRSHAFIEY, A. The newly identified T helper 22 cells lodge in leukemia. **Internacional Journal of Hematology-Oncology and Stem Cell Research**. Terã, v. 9, n. 3, p. 143-154, 2015.

BADR, G.; BORHIS, G.; TRETON, D.; MOOG, C.; GARRAUD, O.; RICHARD, Y. HIV type1 glycoprotein 120 inhibits human B cell chemotaxis to CXC chemokine ligand (CXCL)12, CC chemokine ligand (CCL)20, and CCL21. **Journal of Immunology**. Bethesda, v. 175, n. 1, p. 302-310, 2005.

BALTIMORE GROUP VI. Disponível em: <www.dreamstime.com>. Acessado em: 20/11/2016.

BAO, K.; LEE REINHARDT, R. The differential expression of IL-4 and IL-13 and its impact on type-2 immunity. **Cytokine**. Filadélfia, v. 75, n. 1, p. 25-37, 2015.

BARRE-SINOUSI, F.; CHERMANN, J.C.; REY, F.; NUGEYRE, M.T.; CHAMARET, S.; GRUEST, J.; DAUGUET, C.; AXLER-BLIN, C.; VEZINET-BRUN, F.; ROUZIOUX, C.; ROZENBAUM, W.; MONTAGNIER, L. Isolation of a T-lymphotropic retrovirus from a patient at risk for acquired immunodeficiency syndrome (AIDS). **Science**. Nova Iorque, v. 220, n. 4599, p. 868-871. 1983.

BENTEBIBEL, S.E.; LOPEZ, S.; OBERMOSER, G.; SCHMITT, N.; MUELLER, C.; HARROD, C.; FLANO, E.; MEJIAS, A.; ALBRECHT, R.A.; BLANKENSHIP, D.; XU, H.; PASCUAL, V.; BANCHEREAU, J.; GARCIA-SASTRE, A.; PALUCKA, A.K.; RAMILO, O.; UENO, H. Induction of ICOS⁺CXCR3⁺CXCR5⁺ TH cells correlates with antibody responses to influenza vaccination. **Science Translational Medicine**. Washington, v. 5, n. 176, 176ra32, 2013.

BENTEBIBEL, S.E.; SCHMITT, N.; BANCHEREAU, J.; UENO, H. Human tonsil B-cell lymphoma 6 (BCL6)-expressing CD4⁺ T-cell subset specialized for B-cell help outside germinal centers. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**. Washington, v. 108, n. 33, p. E488-E497, 2011.

BENTO, C.A.M.; HYGINO, J.; ANDRADE R.M.; SARAMAGO C.S.; SILVA, R.J.; SILVA, A.A.; LINHARES, U.C.; BRINDEIRO, R.M.; TANURI, A.; ROSENZWAJG, M.; KLATZMANN, D.; ANDRADE, A.F. IL-10-secreting T cells from HIV-infected pregnant women downregulate HIV-1 replication: effect enhanced by antiretroviral treatment. **AIDS**. Londres, vol. 23, n. 1, p. 9-18, jan. 2009.

BETTINI, M.L.; VIGNALLI, D.A.A. Development of typically-derived natural regulatory T cells. **Annals of the New York Academy of Science**. Nova Iorque, v. 1183, p. 1-12, 2010.

BIN HAMID, F.; KIM, J.; SHIN, C.G. Cellular and viral determinants of retroviral nuclear entry. **Canadian Journal of Microbiology**. Ottawa, v. 62, n. 1, p. 1-15, 2016.

BLANCHE, S.; ROUZIOUX, C.; MOSCATO, M.L.; VEBER, F.; MAYAUX, R.J.; JACOMET, C.; TRICOIRE, J.; DEVILLE, A.; VIAL, M.; FIRTION, G. A prospective study of infants born to women seropositive for human immunodeficiency virus type 1. HIV infection in newborns french collaborative study group. **The New England Journal of Medicine**. Boston, v. 320, n. 25, p. 1643-1648, 1999.

BORROW, P.; MOODY, M.A. Immunologic characteristics of HIV-infected individuals who make broadly neutralizing antibodies. **Immunological Reviews**. Copenhagen, v. 275, n. 1, p. 62-78, 2017.

BROMFIELD, J.J. Seminal fluid and reproduction: Much more than previously thought. **Journal of Assisted Reproduction and Genetics**. Nova Iorque, v. 31, n. 6, p. 627-636, 2014.

BRUBAKER, S.W.; BONHAM, K.S.; ZANONI, I; KAGAN, J.C. Innate immune pattern recognition: A cell biological perspective. **Annual Review of Immunology**. Palo Alto, v. 33, p. 257-290, 2015.

BRUGNARO, P.; MORELLI, E.; CATTELAN, F.; PETRUCCI, A.; PANESE, S.; ESEME, S.; CAVINATO, F.; BARELLI, A.; RAISE, E. Non AIDS defining malignancies after two decades of HAART era. **World Journal of Virology**. Hong Kong, v. 4, n. 3, p. 209-218, 2015.

BUTTS, C.L.; SHUKAIR, S.A.; DUNCAN, K.M.; BOWERS, E.; HORN, C.; BELYAVSKAYA, E.; TONELLI, L.; STERNBERG, E.M. progesterone inhibits mature rats dendritic cells in a receptor-mediated fashion. **International Immunology**. Oxford, v. 19, n. 3, p. 287-296, 2007.

CAMPBELL, J.H.; HEARPS, A.C.; MARTIN, G.E.; WILLIAMS, K.C.; CROWE, S.M. The importance of the monocytes and macrophages in HIV pathogenesis, treatment, and cure. **AIDS**. Londres, v. 28, n. 15, p. 2175-2187, 2014.

CARLSON, L.A.; BAI, Y.; KEANE, S.C.; DOUDNA, J.A.; HURLEY, J.H. Reconstitution of selective HIV-1 RNA packaging in vitro by membrane-bound Gag assemblies. **eLife**. Cambridge, v. 5, e14663, 2016.

CASSIDAY, P.A.; DEPAULA-SILVA, A.B.; CHUMLEY, J.; WARD, J.; BARKER, E.; PLANELLES, V. Understanding the molecular manipulation of DCAF1 by the lentiviral accessory proteins Vpr and Vpx. **Virology**. Londres, v. 476, p. 19-25, 2015.

CHAO, T.; WANG, H.; HO, P.C. Mitochondrial control and guidance of cellular activities of T cells. **Frontiers in Immunology**. Lausanne, v. 8, n. 473, 2017.

CHÉRET, A.; BACHUS-SOUFFAN, C.; AVETTAND-FENOËL, V.; MÉLARD, A.; NEMBOT, G.; BLANC, C.; SAMRI, A.; SÁEZ-CIRIÓN, E.; HOCQUELOUX, L.; LASCOUX-COMBE, C.; ALLAVENA, C.; GOUJARD, C.; VALANTIN, M.A.; LEPLATOIS, A.; MEYER, L.; ROUZIOUX, C.; AUTRAN, B. Combined ART started during acute HIV infection protects central memory CD4⁺ T cells and can induce remission. **The Journal of Antimicrobial Chemotherapy**. Londres, v. 70, n. 7, p. 2108-2120, 2015.

CHEVALIER, M.F.; WEIS, L. The split personality of regulatory T cells in HIV infection. **Blood**. Nova Iorque, v. 121, n. 1, p. 29-37, 2013.

CHOI, J.; SMITZ, J. Luteinizing hormone and human chorionic gonadotropin: Distinguishing unique physiologic roles. **Gynecological Endocrinology**. Londres, v. 30, n. 3, p. 174-181, 2014.

CHOI, Y.S.; KAGEYAMA, R.; ETO, D.; ESCOBAR, T.C.; JOHNSTON, R.J.; MONTICELLI, N.; LAO, C.; CROTTY, S. ICOS receptor instructs T follicular helper cell versus effector cell differentiation via induction of the transcriptional repressor Bcl6. **Immunity**. Cambridge, v. 34, n. 6, p. 932-946, 2011.

CHOI, Y.S.; ETO, D.; YANG, J.A.; LAO, C.; CROTTY, S. Cutting edge: STAT1 is required for IL-6-mediated Bcl6 induction for early follicular helper cell differentiation. **Journal of Immunology**. Baltimore, v. 190, n. 7, p. 3049-3053, 2013.

CIUFFI, A. The benefits of integration. **Clinical Microbiology and Infection**. Londres, v. 22, n. 4, p. 324-332, 2016.

CLERICI, M.; STOCKS, N.I.; ZAJAC, R.A.; BOSWELL, R.N.; BERNSTEIN, D.C.; MANN, D.L.; SHEARER, G. M.; BERZOFKY, J.A. Interleukin-2 production used to detect antigenic peptide recognition by T-helper lymphocytes from asymptomatic HIV-seropositive individuals. **Nature**. Londres, v. 339, n. 6223, p. 383-385, 1989.

CLOVERPRIS, H.N.; LESLIE, A.; GOULDER, P. Role of HLA adaptation in HIV evolution. **Frontiers in Immunology**. Lausanne, v. 6, n. 665, 2015.

COLINEAU, L.; ROUERS, A.; YAMAMOTO, T.; XU, Y.; URRUTIA, A.; PHAN, H.P.; CARDINAUD, S.; DORGHAM, K.; COULON, P.G. CHEYNIER, R.; HOSMALIN, A.; OKSENHENDLER, E.; SIX, A.; KELLEHER, A.D.; ZAUNDERS, J.; KOUP, R.A.; AUTRAN, B.; MORIS, A.; GRAFF-DUBOIS, S. HIV-infected spleens present altered follicular helper T cell (T_{FH}) subsets and skewed B cell maturation. **PlosOne**. San Francisco, v. 10, n. 10, e0140978, 2015.

CONNELL, B.J.; LORTAT-JACOB, H. Human immunodeficiency virus and heparin sulfate: From attachment to entry inhibition. **Frontiers in Immunology**. Lausanne, v. 4, p. 385, 2013.

COSMI, L.; ANNUNZIATO, F.; MAGGI, E.; ROMAGNANI, S.; MANETTI, R. Chemoattractant receptors expressed on type 2 T cells and their role in diseases. **Internacional Archieves of allergy and Immunology**. Nova Iorque, v. 125, n. 4, p. 273-279, 2001.

CROTTY, S. Follicular helper CD4 T cells (T_{FH}). **Annual Reviews Immunology**. Palo Alto, v. 29, p. 621-663, 2011.

CROTTY, S. A brief history of T cell help to B cells. **Nature Reviews Immunology**. Londres, v. 15, n. 3, p. 185-189, 2015.

CUBAS, R.A.; MUDD, J.C.; SAVOYE, A.L.; PERREAU, M.; GREVENYNGHE, J.; METCALF, T.; CONNICK, E.; MEDITZ, A.; FREEMAN, G.J.; ABESADA-TERK, G.; JACOBSON, J.M.; BROOKS, A.D.; CROTTY, S.; ESTES, J.B.; PANTALEO, G.; LEDERMAN, M.M.; HADDAD, E.K. Inadequate T follicular T cell help impairs B cell immunity during HIV infection. **Nature Medicine**. Nova Iorque, v. 19, n. 4, p. 494-499, 2013.

DAUVEN, D.; EHRENTAUT, S.; LANGWISCH, S.; ZENCLUSSEN, A.C.; SCHUMACHER, A. Immune modulatory effects of human chorionic gonadotropin on dendritic cells supporting fetal survival in murine pregnancy. **Frontiers in Endocrinology**. Lausanne, v. 7, n. 146, 2016.

D'ETTORRE, G.; BARONCELLI, S.; MICCI, L.; CECCARELLI, G.; ANDREOTTI, M.; SHARMA, P.; FANELLO, G.; FIOCCA, F.; CAVALLARI, E.N.; GIUSTINNI, N.; MALLANO, A.; GALLUZZO, C.M.; VELLA, S.; MASTROIANNI, N.; SILVESTRI, G.; PAIARDINNI, M.; VULLO, V. Reconstitution of CD4 and T_H17 T cells in antiretroviral therapy suppressed HIV-infected subjects: Implication for residual immune activation from the results of a clinical trial. **PlosOne**. San Francisco, v. 9, n. 10, e109791, 2014.

DEEKS, S.G. HIV infection, inflammation, immunosenescence, and aging. **Annual Review of Medicine**. Palo Alto, v. 62, p. 141-155, 2011.

DE FRANCO, A.L. The germinal Center antibody response in health and disease. **F1000 Research**. Londres, v. 5, 2016.

DE SILVA, N.S.; KLEIN, U. Dynamics of B cells in germinal centres. **Nature Reviews Immunology**. Londres, v. 15, n. 3, p. 137-148, 2015.

DEL CORNÒ, M.; DONNINELLI, G.; VARANO, B.; DA SACCO, L.; MASOTTI, A.; GESSANI, S. HIV-1 gp120 activates the Stat 3/Interleukin-6 axis in primary human monocyte-derived dendritic cells. **Journal of Virology**. Washington, v. 88, n. 19, p. 11045-11055, 2014.

DIKEAKOS, J.D.; ATKINS, K.M.; THOMAS, L.; BYEON, J.; JUNG, J.; AHN, J.; KUKULL, B.; SAITO, M.; KOIZUMI, H.; WILLIANSO, D.M.; HIYOSHI, M.; BARKLIS, E.; TAKIGUSHI, M.; SUZU, S.; GRONEMBORN, A.M.; SMITHGALL, T.E.; THOMAS, G. Small molecule inhibition of HIV-1-induced MHC I down-regulation identifies a temporally regulated switch in nef action. **Molecular Biology of the Cell**. Bethesda, v. 21, n. 9, p. 3279-3292, 2010.

DUSTIN, M.L.; TSENG, S.Y.; VARMA, R.; CAMPI, G. T cell-dendritic cell immunological synapses. **Current Opinion of Immunology**. Filadélfia, v. 18, n. 4, p. 512-516, 2006.

DUTRARTE, H.; CLAVIÈRE, M.; JOURNO, C.; MAHIEUX, R. Cell-free versus cell-to-cell infection by human immunodeficiency virus type 1 and human T lymphotropic virus type 1: Exploring the link among viral source, viral trafficking, and viral replication. **Journal of Virology**. Baltimore, v. 90, n. 17, p. 7607-7617, 2016.

ENSOLI, B.; NCHABELENG, M.; ENSOLI, F.; TRIPICIANO, A.; BELLINO, S.; PICCONI, O.; SGADARI, C.; LONGO, O.; TAVOSHI, L.; JOFFE, D.; CAFARO, A.; FRANCAVILLA, V.; MORETTI, S.; COSSUT, M.R.P.; COLLACCHI, B.; ARANCIO, A.; PANICCIA, C.; CASABIANCA, A.; MAGNANI, M.; BUTTO, S.; LEVENDAL, E.; NDIMANDE, J.V.; ÁSIA, B.; PILLAY, Y.; GARACI, E.; MONINI, P. HIV-Tat immunization induces cross-clade neutralizing antibodies and CD4+ T cell increases in antiretroviral-treated South African volunteers: randomized phase II clinical trial. **Retrovirology**. Londres, v. 13, 2016.

EYERICH, K.; EYERICH, S. T_H22 cells in allergic disease. **Allergo Journal International**. Berlim, v. 24, n. 1, p. 1-7, 2015.

FARD, N.A.; AZIZ, G.; MIRSHAFIEY, A. The potential role of T helper cell 22 and IL-22 in immunopathogenesis of multiple sclerosis. **Innovations Clinical Neuroscience**. Edgermont, v. 13, n. 8, p. 30-36, 2016.

FARRAR, J.D.; ASNAGLI, H.; MURPHY, K.M. T helper subset development: roles of instruction, selection, and transcription. **The Journal of Clinical Investigation**. New Heaven, v. 109, n. 4, p. 431-435, 2002.

FENG, L.; LARUE, L.C.; SLAUGHTER, A.; KESSL, J.J.; KVARATSKHELIA, M. HIV-1 integrase multimerization therapeutic target. **Current Topics in Microbiology e Immunology**. Heidelberg, v. 389, p. 93-119, 2015.

FETTKE, F.; SCHUMACHER, A.; CANELLADA, A.; TOLEDO, N.; BEKEREDJIAN-DING, I.; BONDT, A.; WUHRER, M.; COSTA, S.D.; ZENCLUSSEN, A.C. Maternal and fetal mechanisms of B cell regulation during pregnancy: Human chorionic gonadotropin stimulates B cells to produce IL-10 while alpha-fetoprotein drives them into apoptosis. **Frontiers in Immunology**. Lausanne, v. 7, n. 495, 2016.

FIGUEIRÓ-FILHO, E.A.; TAMURA, I.A.; COELHO, L.R. Infecção pelo vírus HIV e gestação. **Femina**. Rio de Janeiro, v. 37, n. 4, p. 181-188, abr. 2009.

FU, Y.; LI, L.; LIU, X.; MA, C.; ZHANG, J.; JIAO, Y.; YOU, L.; ZHAO, Y. Estrogen promotes B cell activation in vitro through down-regulating CD80 molecule expression. **Gynecological Endocrinology**. Londres, v. 27, n. 8, p. 593-596, 2011.

GENOVESE, L.; BRENDOLAN, A. Lymphoid tissue mesenchymal stromal cells in development and tissue remodeling. **Stem Cells International**. Londres, ID: 8419104, 2016.

GRAFF-DUBOIS, S.; ROUERS, A.; MORIS, A. Impact of chronic HIV/SIV infection on T follicular helper cells subsets and germinal centers homeostasis. **Frontiers in Immunology**. Lausanne, v. 7, p. 501, 2016.

GRANDGENETT, D.P.; PANDEY, K.K.; BERA, S.; AIHARA, H. Multifunctional facets of retrovirus integrase. **World Journal of Biological Chemistry**. Hong Kong, v. 6, n. 3, p. 83-94, 2015.

GRANOT, I.; GNAINSKY, Y.; DEKEL, N. Endometrial inflammation and effect on implantation improvement and pregnancy outcome. **Reproduction**. Cambridge, v. 144, n. 6, p. 661-668, 2012.

GRAY, G.E.; MCINTYRE, J.A. HIV and pregnancy. **BMG**. Londres, v. 334, n. 7600, p. 950-953, 2007.

GRAZIOSI, C.; GANTT, K.R.; VACCAREZZA, M.; DEMAREST, J.F.; DAUCHER, M.B.; SAAG, M.S.; SHAW, G.M.; QUINN, T.C.; COHEN, O.J.; WELBON, C.C.; PANTALEO, G.; FAUCI, A.S. Kinetics of cytokine expression during primary human immunodeficiency virus type 1 infection. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**. Washington, v. 93, n.9, p. 4386-4391, 1996.

GROHMANN; U.; FALLARINO, F.; BIANCHI, R.; BELLADONNA, M.L.; VACCA, C.; ORABONA, C.; UYTENHOVE, C.; FIORETTI, M.C.; PUCCETTI, P. IL-6 inhibits the tolerogenic function of CD8 alpha + dendritic cells expressing indoleamine 2,3-dioxygenase. **Journal of Immunology**. Baltimore, v. 167, n. 2, p. 708-714, 2001.

GROOM, J.R.; LUSTER, A.D. CXCR3 in T cell function. **Experimental Cell Research**. Nova lorque, v. 317, n. 5, p. 620-631, 2011.

GUERÍN, L.R.; MOLDENHAUER, L.M.; PRINS, J.R.; BROMFIELD, J.J.; HAYBALL, J.D.; ROBERTSON, S.A. Seminal fluids regulates accumulation of FoxP3⁺regulatory T cells in the preimplantation mouse uterus through expanding the FoxP3⁺ pool and CCL19-mediated recruitment. **Biology of Reproduction**. Nova lorque, v. 85, n. 2, p. 397-408, 2011.

GUERÍN, L.R.; PRINS, J.R.; ROBERTSON, S.A. ROBERTSON, S.A. Regulatory T-cells and immune tolerance in pregnancy: a new target for infertility treatment? **Human Reproduction Update**. Oxford, v. 15, n. 5, p. 517-535, 2009.

GUPTA, P.; BALACHANDRAN, R.; HO, M.; ENRICO, A.; RINALDO, C. Cell-to-cell transmission of human immunodeficiency virus type 1 in the presence of azidothymidine and neutralizing antibody. **Journal of Virology**. Baltimore, v. 63, n. 5, p. 2361-2365, 1989.

GUTCHER, I.; BECHER, B. APC-derived cytokines and T cell polarization in autoimmune inflammation. **Journal of Clinical Investigation**. New Heaven, v. 117, n. 5, p. 1119-1127, 2007.

GUTIÉRREZ-RODRÍGUEZ, A.; HANSBERG-PASTOR, V.; CAMACHO-ARROYO, I. Proliferative and invasive effects of progesterone-induced blocking factor in human glioblastoma cells. **BioMed Research Internacional**. Nova Iorque, ID: 1295087, 2017.

HAASE, A.T.; HENRY, K.; ZUPANCIC, M.; SEDGEWICK, G.; FAUST, R.A.; MELROE, H.; CAVERT, W.; GEBHARD, K.; STASKUS, K.; ZHANG, Z.Q.; DAILEY, P.J.; BALFOUR, H.H. JR.; ERICE, A.; PERELSON, A.S. Quantitative image analysis of HIV-1 infection in lymphoid tissue. **Science**. Nova Iorque, v. 274, n. 5289, p. 985-989, 1996.

HAGEN, S.; ALTFELD, M. The X awakens: Multifactorial ramifications of sex-specific differences in HIV-1 infection. **Journal of Virus Eradication**. Londres, v. 2, n. 2, p. 78-81, 2016.

HALLER, C.; MÜLLER, B.; FRITZ, J.V.; LAMAS-MURUA, M.; STOLP, B.; PUJOL, F.M.; KEPPLER, O.P.; FACKLER, O.T. HIV-1 Nef and Vpu are functionally redundant broad-spectrum modulators of cell surface receptors, including tetraspanins. **Journal of Virology**. Baltimore, v. 88, n. 24, p. 14241-14257, 2014.

HARRER, T.; HARRER, E.; KALAMS, S.A.; BARBOSA, P.; TROCHA, A.; JOHNSON, R.P.; ELBEIK, T.; FEINBERG, M.B.; BUCHBINDER, S.P.; WALKER, B.D. Cytotoxic T lymphocytes in asymptomatic long-term nonprogressing HIV-1 infection. Breadth and specificity of the response and relation to in vivo viral quasispecies in a person with prolonged infection and low viral load. **The Journal of Immunology**. Baltimore, v. 156, n. 7, p. 2616-2623, 1996.

HEIKINENN, J.; MÖTTÖNEN, M.; ALANEN, A.; LASSILA, O. Phenotypic characterization of regulatory T cells in the human deciduas. **Clinical and Experimental Immunology**. Oxford, v. 136, n. 2, p. 373-378, 2004.

HEL, Z.; STRINGER, E.; MESTECKY, J. Sex steroid hormones, hormonal contraception, and the immunobiology of human immunodeficiency virus-1 infection. **Endocrine Reviews**. Nova lorque, v. 31, n. 1, p. 79-97, 2010.

HELBEIN, G.; GRAS, G.; KHAN, K.A.; ABBAS, W. Macrophage signaling in HIV-1 infection. **Retrovirology**. Londres, v. 7, p. 34, 2010.

HENS, J.; JENNES, W.; KESTENS, L. The role of NK cells in HIV-1 protection: autologous, allogeneic or both. **AIDS Research and Therapy**. Londres, p. 13-15, 2016.

HERBEIN, G.; VARIN, A. The macrophage in HIV-1 infection: From activation and deactivation? **Retrovirology**. Londres, v. 7, p. 33, 2010.

HERNANDEZ, S.; MOREN, C.; CATALÁN-GARCÍA, M.; LOPEZ, M.; GUITART-MAMPEL, M.; COLL, O.; GARCIA, L.; MILISENDA, J.; JUSTAMANTE, A.; GATELL, J.M.; CARDELLACH, F.; GRATACOS, E.; MIRO, O.; GARRABOU, G. Mitochondrial toxicity and caspase activation in HIV pregnant women. **Journal of Cellular and Molecular Medicine**. Oxford, v. 21, n. 1, p. 26-34, 2017.

HIRANO, S.; FUTURAMA, D.; HANAFUSA, T. Physiologically high concentrations of 17 β -estradiol enhance NF-kappaB activity in human T cells. **American Journal of Physiology**. Bethesda, v. 292, n. 4, R1465-R1471, 2007.

HOFFMANN, M.; PANTAZIS, N.; MARTIN, G.E.; HICKLING, S.; HURST, J.; MEYEROWITZ, J.; WILLBERG, C.B.; ROBINSON, N.; BROWN, H.; FISHER, M.; KINLOCH, S.; BABIKER, A.; WEBER, J.; NWONKOLO, N.; FOX, J.; FIDLER, S.; PHILLIPS, R.; FRATER, J. Exhaustion of activated CD8 T cells predicts disease progression in primary HIV-1 infection. **Plos Pathogen**. San Francisco, v. 12, n. 7, e1005661, 2016.

HUBER, M.; LOHOFF, M. IFR4 at the crossroads of effector T-cell fate decision. **European Journal of Immunology**. Weinheim, v. 44, n. 7, p. 1886-1895, 2014.

HYGINO, J.; VIEIRA, M.M.; KASAHARA, T.M.; XAVIER, L.F.; BLANCO, B.; GUILLERMO, L.V.; FILHO, R.G.; SARAMAGO, C.S.; LIMA-SILVA, A.A.; OLIVEIRA, A.L.; GUIMARÃES, V.; ANDRADE, A.F.; BENTO, C.A.M. The impact of pregnancy on the HIV-1-specific T cell function in infected pregnant women. **Clinical Immunology**. Orlando, v. 145, n. 3, p. 177-188, 2012.

ICTV – INTERNATIONAL COMMITTEE ON TAXONOMY OF VIRUSES. Disponível em: <http://www.ictvdb.org/taxonomyHistory.asp?taxnode_id=20154280&taxa_name=Human%20immunodeficiency%20virus%201>. Acesso em: 14/08/2016.

IVANOV, A.V.; VALLUEV-ELLISTON, V.T.; IVANOVA, O.G.; KOCHETKOV, S.N.; STARODUBOVA, E.S.; BARTOSCH, B.; ISAGULIANTS, M.G. Oxidative stress during HIV infection: Mechanisms and consequences. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**. Nova lorque, ID: 8910396, 2016.

JAYARAMAN, B.; MAVOR, D.; GROSS, J.D.; FRANKEL, A.D. Thermodynamics of Rev-RNA interactions in HIV-1 Rev-RRE assembly. **Biochemistry**. Washington, v. 54, n. 42, p. 6545-6554, 2015.

JOGDAND, G.M.; MOHANTY, S.; DEVADAS, S. Regulators of T_{FH} cell differentiation. **Frontiers in Immunology**. Lausanne, v. 7, p. 520, 2016.

JIA, L.; WU, C. The biology and functions of T_H22 cells. **Advances in Experimental Medicine and Biology**. Nova lorque, v. 841, p. 209-230, 2014.

JIN, H.; LI, D.; SIVAKUMARAN, H.; LOR, M.; RUSTANTI, L.; CLOONAN, N.; WANI, S.; HARRICH, D. Shutdown of HIV-1 transcription in T cells by Nullbasic, a mutant Tat protein. **mBIO**. Washington, v. 7, n. 4, e00518-16, 2016.

JONES, R.B.; WALKER, B.D. HIV-specific CD8⁺ T cells and HIV eradication. **The Journal of Clinical Investigation**. New Haven, 126, n. 2, p. 455-463, 2016.

JOSEPH, S.B.; SWANSTROM, R.; KASHUBA, A.D.M.; COHEN, M.S. Bottlenecks in HIV-1 transmission: insights from the study of founder viruses. **Nature Reviews Microbiology**. Londres, v. 13, n. 7, p. 414-425, 2015.

KAPLAN, M.H. T_H9 cells: Differentiation and diseases. **Immunological Review**. Copenhagen, v. 252, n. 1, p. 104-115, 2013.

KHARSANY, A.B.M; KARIM, Q.A. HIV Infection and AIDS in Sub-Saharan Africa: Current Status, Challenges and Opportunities. **The Open AIDS Journal**. Hilversum, v. 10, p. 34-48, 2016.

KIM, C.J.; NAZLI, A.; ROJAS, O.L.; CHEGE, D.; ALIDINA, Z.; HUIBNER, S.; MUJIB, S.; BENKO, E.; KOVACS, C.; SHIN, L.Y.; GRIN, A.; KANDEL, G.; LOUTFY, M.; OSTROWSKI, M.; GOMMERMAN, J.L.; KAUSHIC, C.; KAUL, R. A role for mucosal IL-22 production and T_H22 cells in HIV-associated mucosal immunopathogenesis. **Mucosal Immunology**. Nova lorque, v. 5, n. 6, p. 670-680, 2012.

KLEIN, M.R.; VAN BAALEN, C.A.; HOLWERDA, A.M.; KERKHOF GARDE, S.R.; BENDE, R.J.; KEET, I.P.; EEFTINCK-SCHATTENKERK, J.K.; OSTERHAUS, A.D.; SCHUITEMAKER, H.; MIEDEMA, F. Kinetics gag-specific cytotoxic T lymphocyte responses during the clinical course of HIV-1 infection: a longitudinal analysis of rapid progressors and long-term asymptomatics. **The Journal of Experimental Medicine**. Nova lorque, v. 181, n. 4, p. 1365-1372, 1995.

KLEIN, S.L. Immune cells have sex and so should journal articles. **Endocrinology**. Nova lorque, v. 153, n. 6, p. 2544-2550, 2012.

KLUGUER, M.A.; LUIG, M.; WEGSCHEID, C.; GOERKE, B.; PAUST, H.J.; BRIX, S.R.; YAN, I.; MITTRÜCKER, H.W.; HAGL, B.; RENNER, E.D.; TIEGS, G.; WIECH, T.; STAHL, R.A.K.; PANZER, H.; STEINMETZ, O.M. Stat3 programs T_H17-specific regulatory T cells to control GN. **Journal of American Society of Nephrology**. Baltimore, v. 25, n. 6, p. 1291-1302, 2014.

KONVALINKA, J; KRÄUSSLICH, H.G.; MÜLLER, B. Retroviral proteases and their roles in virion maturation. **Virology**. Nova lorque, v. 479-480, p. 403-417, mai 2015.

KOPPENSTEINER, H.; BRACK-WERNER, R.; SCHINDLER, M. Macrophages and their relevance in Human Immunodeficiency Virus Type I infection. **Retrovirology**. Londres, v. 9, p. 82, 2012.

KORSHOLM, K.S.; KARLSSON, I.; TANG, S.T.; BRANDT, L.; AGGER, E.M.; AAGAARD, C.; ANDERSEM, P.; FOMSGAARD, A. Broadening of the T-cell repertoire of HIV-1 Gag p24 by vaccination of HLA-A2/DR transgenic mice with overlapping peptides in the CAF05 adjuvant. **PlosOne**. San Francisco. v. 8, n. 5, e63575, 2013.

KREBS, C.F.; STEINMETZ, O.M. CD4⁺ T cell fate in glomerulonephritis: A tale of T_H1, T_H17, and novel Treg subtypes. **Mediators of Inflammation**. Oxford, v. 2016, ID: 5393894, 2016.

KROENKE, M.A.; ETO, D.; LOCCI, M.; CHO, M.; DAVIDSON, T.; HADDA, E.K.; CROTTY, S.; Bcl6 and Maf cooperate to instruct human follicular helper CD4 T cell differentiation. **Journal of Immunology**. Baltimore, v. 188, n. 8, p. 3734-3744, 2012.

KUMAR, S.B.; RICE, C.A.; MILNER Jr, D.A.; RAMIREZ, N.S.; ACKERMAN, W.E.; MWAPASA, V.; TURNER, A.N.; KWIEK, J.J. Elevated cytokine and chemokine levels in the placenta are associated with in utero HIV-1 mother-to-child transmission. **AIDS**. Londres, v. 26, n. 6, p. 685-694, 2012.

KUMAR, A.; HERBEIN, G. The macrophage: a therapeutic target in HIV-1 infection. **Molecular and Cellular Therapies**. Londres, v. 2, p.10, 2014.

KUROSAKI, T.; KOMETANI, K.; ISE, W. Memory B cells. **Nature Reviews Immunology**. Londres, v. 15, n. 3, p. 149-159, 2015.

KWANK-KIM, J.; BAO, S.; LEE, S.K.; KIM, J.W.; GILMAN-SACHS, A. Immunological modes of pregnancy loss: inflammation, immune effectors, and stress. **American Journal of Reproductive Immunology**. Nova lorque, v. 72, n. 2, p. 129-140, 2014.

LAANANI, M.; GHOSN, J.; ESSAT, A.; MELARD, A.; SENG, R.; GOUSSET, M.; PANJO, H.; MORTIER, E.; GIRARD, P.M.; GOUJARD, C.; MEYER, L.; ROUZIOUX, C. Impact of the timing of initiation of antiretroviral therapy during primary HIV-1 infection on decay of cell-associated HIV-DNA. **Clinical Infectious Diseases**. Chicago, v. 60, n. 11, p. 1715-1721, 2015.

LANDOLT, N.K.; PHANUPHAK, N.; UBOLYAM, S.; PINYAKORN, S.; KERR, S.; AHLUWALIA, J.; THONGPAENG, P.; THAMMAJARUK, N.; CREMERS, S.; THOMAS, T.; CHAITHONGWONGWATTHANA, S.; LANGE, J.M.; ANANWORANICH, J. Significant decrease of ethinylestradiol with nevirapine, and of etonogestrel with efavirenz in HIV-positive women. **Journal of Acquired Immune Deficiency Syndrome**. Nova lorque, v. 66, n. 2, e50-52, 2014.

LANGFORD, S.E.; ANANWORANICH, J.; COOPER, D.A. Predictors of disease progression in HIV infection: A review. **AIDS Research and Therapy**. Londres, v. 4, p. 4-11, 2007.

LEE, B.N.; ORDONEZ, N.; POPEK, E.J.; LU, J.G.; HELFGOT, A.; ERIKSEN, N.; HAMMILL, H.; KOZINETZ, C.; DOYLE, M.; KLINE, M.; LANGSTON, C.; SHEARER, W.T.; REUBEN, J.M. Inflammatory cytokine expression is correlated with the level of human immunodeficiency virus (HIV) transcripts in HIV-infected placental trophoblastic cells. **Journal of Virology**. Baltimore, v. 71, n. 5, p. 3628-3635, 1997.

LEE, S.K.; POTEMPA, M.; SWANSTRON, R. The choreography of HIV-1 proteolytic processing and virion assembly. **The Journal of Biological Chemistry**. Baltimore, v. 287, n. 49, p. 40867-40874, 2012.

LETH-MOLLER, K.; JAGD, S.H.; HUMAIDAN, P. The luteal phase after GnRHa trigger-understanding an enigma. **International Journal of Fertility & Sterility**. Terã, v. 8, n. 3, p. 227-234, 2014.

LI, M.O.; RUDENSKY, A.Y. T cell receptor signaling in the control of regulatory T cell differentiation and function. **Nature Reviews Immunology**. Londres, v. 16, n. 4, p. 220-233, 2016.

LIEBERMAN, J.; SHANKAR, P.; MANJUNATH, N.; ANDERSSON, J. Dressed to kill? A review of why antiviral CD8 T lymphocytes fail to prevent progressive immunodeficiency in HIV-1 infection. **Blood**. Nova Iorque, v. 98, n. 6, p.1667-1677, 2001.

LIFSON, A.R.; BUCHBINDER, S.P.; SHEPPARD, H.W.; MAWLE, A.C.; WILBER, J.C.; STANLEY, M.; HART, C.E.; HESSOL, N.A.; HOLMBERG, S.D. Long-term human immunodeficiency virus infection in asymptomatic homosexual and bisexual men with normal CD4⁺ lymphocyte counts: immunologic and virologic characteristic. **The Journal of Infectious Diseases**. Oxford, v. 163, n. 5, p. 959-965, 1991.

LIMA, A.C.M.A.C.C.; COSTA, C.C.; TELES, L.M.R.; DAMASCENO, A.K.C.; ORIÁ, M.O.B. Avaliação epidemiológica da prevenção da transmissão vertical do HIV. **Acta Paulista de Enfermagem**. São Paulo, v. 27, n. 4, p. 311-318, 2014.

LINDQVIST, M.; LUNZEN, J.; SOGHOIAN, D.Z.; KUHL, B.D.; RANASINGHE, S.; KRANIAS, G.; FLANDERS, M.D.; CUTLER, S.; YUDANIN, N.; MULLER, M.I.; DAVIS, I.; FARBER, D.; HARTJEN, P.; HAAG, F.; ALTER, G.; WIESCH, J.S.; STREECK, H. Expansion of HIV-specific T follicular helper cells in chronic HIV infection. **The Journal of Clinical Investigation**. New Heaven, v. 122, n. 9, p. 3271-3280, 2012.

LIU, X; NURIEVA, R.I.; DONG, C. Transcriptional regulation of follicular T-helper (T_{FH}) cells. **Immunological Reviews**. Oxford, v. 252, n. 1, p. 139-145, 2013.

LOBRITZ, M.A.; LASSEN, K.G.; ARTS, E.J. HIV-1 replicative fitness in elite controllers. **Current Opinion in HIV and AIDS**. Hagerstown, v. 6, n. 3, p. 214-220, 2011.

LOCCI, M.; HAVENAR-DAUGHTON, C.; LANDAIS, E.; WU, J.; KROENKE, M.A.; ARLEHAMN, C.L.; SU, L.F.; CUBAS, R.; DAVIS, M.M.; SETTE, A.; HADDAD, E.C.; POIGNARD, T.; CROTTY, S. Human circulating PD1+CXCR3-CXCR5+ memory TFH cells are highly functional and correlate with broadly neutralizing HIV antibody responses. **Immunity**. Cambridge, v. 39, n. 4, p. 758-769, 2013.

LÓPEZ-ABENTE, J.; CORREA-ROCHA, R.; PION, M. Functional mechanisms of Treg in the context of HIV infection and the janus face of immune suppression. **Frontier in Immunology**. Lausanne, v. 7, p. 192, 2016.

LU, W.; MEHRAJ, V.; VYBOH, K.; CAO, W.; LI, T.; ROUTY, J.P. CD4 : CD8 ratio as a frontier marker for clinical outcome, immune dysfunction and viral reservoir size in virologically suppressed HIV-positive patients. **The Journal of International AIDS Society**. Londres, v. 18, n. 1, 20052, 2015.

LUBAN, J. Innate immune sensing of HIV-1 by dendritic cells. **Cell Host and Microbe**. Cambridge, v. 12, n. 4, p. 408-418, 2012.

LUO, M.; EMBREE, J.; RAMDAHIN, S.; BIELAWNY, T.; LAYCOCK, T.; TUFF, J.; HABER, D.; PLUMMER, M.; PLUMMER, M.A. HLA classe II antigens and their interactive effect on perinatal mother-to-child HIV-1 transmission. **PlosOne**. San Francisco, v. 10, n. 5, e0126068, 2015.

LUSSO, P. Chemokines e HIV: The first close encounter. **Frontiers in Immunology**. Lausanne, v. 6, n. 294, 2015.

LUTZ M.B. Induction of CD4⁺ regulatory and polarized effector/helper T cells by dendritic cells. **Immune Network**. Seoul, v. 16, n. 1, p. 13-25, 2016.

MA, C.S.; AVERY, D.T.; CHAN, A.; BATTEN, M.; BUSTAMANTE, J.; BOISSON-DUPOIS, S.; ARKWRIGHT, P.D.; KREINS, A.Y.; AVERBUCH, D.; ENGELHARD, D.; MAGDORF, K.; KILIC, S.S.; MINEGISHI, Y.; NONOYAMA, S.; FRENCH, M.A.; CHOO, S.; SMART, J.M.; PEAKE, J.; WONG, M.; GRAY, P.; COOK, M.C.; FULCHER, D.A.; CASANOVA, L.J.; DEENICK, E.K.; TANGYE, S.G. Functional STAT3 deficiency compromises the generation of human T follicular helper cells. **Blood**. Nova lorque, v. 119, n. 17, p. 3997-4008, 2012.

MA, C.S.; DEENICK, E.K. Human T follicular helper (T_{FH}) cells and disease. **Immunology and Cell Biology**. Adelaide, v. 92, p. 64-71, 2014.

MALEK, T.R.; CASTRO, I. Interleukin-2 receptor signaling: At the interface between tolerance and immunity. **Immunity**. Cambridge, v. 33, n.2, p. 153-165, 2010.

MANAKI, S.S.; JEN, K.Y.; FINN, P.W. New Costimulatory Families: Signaling Lymphocytic Activation Molecule in Adaptive Allergic Responses. **Current Molecular Medicine**. Hilversum, v. 8, n. 5, p. 369-364, 2008.

MARCHETTI, G; TINCATI, C.; SILVESTRI, G. Microbial Translocation in the Pathogenesis of HIV Infection and AIDS. **Clinical Microbiology Reviews**. Washington, v. 26, n. 1, p. 2-18, 2013.

MATTEI, S.; ANDERS, M.; KOVALINKA, J.; KRÄUSSLICH, H.G.; BRIGGS, J.A.G.; MÜLLER, B. Induced maturation of human immunodeficiency virus. **Journal of Virology**. Washington, v. 88, n. 23, p. 13722-13731, 2014.

MACKINSTRY, K.K.; STRUTT, T.M.; SWAIN, S.L. The potential of CD4 T-cell memory. **Immunology**. Oxford, v. 130, n. 1, p. 1-9, 2010.

MCCMAHON, C.; RAULET, D.H. Expression and function of NK cell receptors in CD8⁺ T cell. **Current Opinion in Immunology**. Londres, v. 13, n. 4, p 465-470, 2001.

MILES, B.; MILLER, S.M.; CONNICK, E. CD4 T follicular helper and regulatory cell dynamics and function in HIV infection. **Frontiers in Immunology**. Lausanne, v. 7, p. 659, 2016.

MINISTÉRIO DA SAÚDE (Brasil). Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de DST, Aids e Hepatites Virais. **Recomendações para profilaxia da transmissão vertical do HIV e terapia antirretroviral em gestantes**. Brasília, 2010.

MINISTÉRIO DA SAÚDE (Brasil). Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de DST, Aids e Hepatites Virais. **Protocolo clínico e diretrizes terapêuticas para a prevenção da transmissão vertical de HIV, sífilis e hepatites virais**. Brasília, 2015.

MINISTÉRIO DA SAÚDE (Brasil). Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de DST, Aids e Hepatites Virais. **Boletim Epidemiológico HIV/Aids**. Brasília, 2016.

MIOSSEC, P. IL-17 and T_H17 cells in human inflammatory diseases. **Microbes and Infection**. Paris, v. 11, n. 5, p. 625-630, 2009.

MIYAURA, H.; YWATA, M. Direct and indirect inhibition of T_H1 development by progesterone and glucocorticoids. **The Journal of Immunology**. Baltimore, v. 168, n. 3, p. 1087-1094, 2002.

MOIR, S.; FAUCI, A.S.; B cells in HIV infection and disease. **Nature Reviews Immunology**, v. 9, n. 4, p. 235-245, 2009.

MONTEIRO, C.; KASAHARA, T.S.; CASTRO, J.R.; MENDONÇA, P.; HYGINO, H.; CENTURIÃO, N.; CASSANO, T.; LOPES, L.M.F.; LEITE, S.; SILVA, V.G.; GUPTA, S.; BENTO, C.A.M. Pregnancy favors the expansion of circulating functional follicular

T helper cells. **Journal of Reproductive Immunology**. Londres, v. 121, p. 1-10, 2017.

MORITA, R.; SCHMITT, N.; BENTEBIBEL, S.E.; RANGANATHAN, R.; BOURDERY, L.; ZURAVSKY, G.; FOUCAT, E.; DULLAERS, M.; OH, H.; SABZGHABAEI, N.; LAVECCHIO, E.M.; PUNARO, M.; PASCUAL, V.; BANCHEREAU, J.; UENO, H., H. Human blood CXCR5(+)CD4(+) T cells are counterparts of T follicular cells and contain specific subsets that differentially support antibody secretion. **Immunity**. Cambridge, v. 34, n. 1, p. 108-121, 2011.

MOUSSEAU, G.; MEDIOUNI, S.; VALENTE, S.T. Targeting HIV transcription: The quest for a functional cure. **Current Topics in Microbiology and Immunology**. Berlin, v. 389, p. 121-145, 2015.

NIKOLAITCHIK, O.A.; HU, W.S. Deciphering the role of the Gag-Pol ribosomal frameshift signal in HIV-1 RNA genome packaging. **Journal of Virology**. Washington, v. 88, n. 8, p. 4040-4046, 2014.

ONABAJO, O.O.; GEORGE, J.; LEWIS, M.G.; MATTAPALLIL, J.J. Rhesus Macaque lymph node PD1^{hi}CD4⁺ T cells express high levels of CXCR5 and IL-21 and display a CCR7^{lo}ICOS⁺Bcl6⁺ T-follicular helper (TFH) cell phenotype. **PlosOne**. San Francisco, v. 8, n. 3, e59758, 2013.

ONABAJO, O.O.; MATTAPALLIL, J. Expansion or depletion of T follicular helper cells during HIV infection: Consequences for B cell responses. **Current HIV Research**. Hilversum, v. 11, n. 8, p. 595-600, 2013.

PAGE, E.E.; GREATHEAD, L.; METCALF, R.; CLARK, S.A.; HART, M.; FUCHS, D.; PANTELIDIS, P.; GOTCH, F.; POZNIAK, A.; NELSON, N.; BOASSO, A.; GAZZARD, B.; KELLEHER, P. Loss T_H22 cells is associated with increased immune activation andIDO-1 activity in HIV-1 infection. **Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes**. Hagerstown, v. 67, n. 3, p. 227-235, 2014.

PALLIKKUTT, S.; PARMAGIANI, A.; PAHWA, S. The role of interleukin-21 in HIV infection. **Cytokine & Growth Factor Reviews**. Oxford, v. 23, n. 4-5, p. 173-180, 2012.

PALMER, B.E.; NEFF, C.P.; LECUREAUX, J.; EHLER, A.; DSOUZA, M.; REMLING-MULDER, L.; KORMAN, A.J.; FONTENOT, A.P.; AKKINA, A. In Vivo blockade of the PD-1 receptor suppresses HIV-1 viral loads and improves CD4⁺ T cells levels in humanized mice. **The Journal of Immunology**. Baltimore, v. 190, n.1, p. 211-219, 2013.

PALMER, C.S.; CHERRY, C.L.; SADA-OVALE, I.; SINGH, A.; CROWE, S.M. Glucose metabolism in T cells and monocytes: New perspectives in HIV pathogenesis. **EBioMedicine**. Amsterdã, v. 6, p. 31-41, 2016.

PANKRATS, S.; RUCK, T.; MEUTH, S.G.; WIENDL, H. CD4⁺HLA-G⁺ regulatory T cells: Molecular signature and pathophysiological relevance. **Human Immunology**. Nova lorque, v. 77, n. 9, p. 727-733, 2016.

PANTALEO, G.; FAUCI, A.S. New concepts in the imunopathogenesis of HIV infection. **Annual Reviews of Microbioloy**. Palo Alto, v. 50, p. 825-854, 1995.

PANTSIL E.; ANDIMAN, W.A. Update on sucessses and challenges regarding mother-to-child transmission to HIV. **Current Opinion in Pediatrics**. Filadélfia, v. 21, n. 1, p. 94-101, 2009.

PAPP, E.; MOHAMMMADI, H.; LOUTFY, M.R.; YUDIN, M.H.; MURPHY, K.E.; WALMSLEY, S.L.; SHAH, R.; MACGILLIVRAY, J.; SILVERMAN, M.; SERGHIDES, L. HIV inhibitor protease use during pregnancy is associated with decreased progesterone levels, suggesting a potential mechanism contributing to fetal growth restriction. **The Journal of Infectious Diseases**. Oxford, v. 211, n. 1, p. 10-18, 2015.

PASARE, C.; MEDZHITOV, R. Toll pathway-dependent blockade of CD4⁺CD25⁺ T cell-mediated suppression by dendritic cells. **Science**. Nova lorque, v. 299, n. 5609, p. 1033-1036, 2003.

PATAS, K.; ENGLER, J.B.; FRIESE, M.A.; GOLD, S.M. Pregnancy and multiple sclerosis: Feto-maternal immune cross talk and its implications for disease activity. **Journal of Reproductive Immunology**. Amsterdã, v. 97, n. 1, p. 140-146, 2013.

PAWAR, S.; HANTAK, A.M.; BAGSHI, I.C.; BAGSHI, M.K. Mini review: Steroid-regulated paracrine mechanisms controlling implantation. **Molecular Endocrinology**. Baltimore, v. 28, n. 9, p. 1408-1422, 2014.

PICKER, L.J.; MAINO, V.C. The CD4⁺ T cell response to HIV-1. **Current Opinion in Immunology**. Nova Iorque, v. 12, n. 4, p. 381-386, 2000.

PITRAK, D.L.; TSAI, H.C.; MULLANE, K.N.; SUTTON, S.H.; STEVENS, P. Accelerated neutrophil apoptosis in the acquired immunodeficiency syndrome. **The Journal of the Clinical Investigation**. New Heaven, v. 98, n. 12, p. 2714-2719, 1996.

POLESE, B.; GRIDELET, V.; ARAKLIOTI, E.; MARTENS, H.; D'HAUTERIVE, S.P.; GEENEN, V. The endocrine milieu a CD4 T lymphocyte polarization during pregnancy. **Frontiers in Endocrinology**. Lausanne, v. 5, n. 106, 2014.

POROPATICH, K.; SULLIVAN, D.J. Human immunodeficiency virus type 1 long-term non-progressors: The viral, genetic and immunological basis of disease non-progression. **The Journal of General Virology**. Londres, v. 92, p. 247-268, 2011.

PROKOFJEVA, M.M.; KOCHETKOV, S.M.; PRASSOLOV, V.S. Therapy of HIV Infection: Current approaches and prospects. **Acta Naturae**. Moscow, v. 8, n. 4, p. 23-32, 2016.

RABIN, R.L.; ALSTON, M.A.; SIRCUS, J.C.; KNOLLMANN-RITSCHER, B.; MORATZ, C.; NGO, D.; FARBER, J.M. CXCR3 is induced early on the pathway of CD4⁺ T cell differentiation and bridges central and peripheral functions. **Journal of Immunology**. Baltimore, v. 171, n. 6, p. 2812-2824, 2003.

RAGUPATHY, V.; DEVADAS, K.; TANG, S.; WOOD, O.; LEE, S.; DASTYER, A.; WANG, X.; DAYTON, A.; HEWLETT, I. Effect of sex steroid hormones on replication and transmission of major HIV subtypes. **The Journal of Steroid and Molecular Biology**. Oxford, v. 138, p. 63-71, 2013.

RAJASURIAR, R.; BOOTH, D.; SOLOMON, A.; CHUA, K.; SPELMAN, T.; GOUILLIOU, M.; SCHLUB, T.E.; DAVENPORT, M.; CROWE, S.; ELLIOT, J.; HOY, J.; FAIRLEY, C.; STEWART, G.; CAMERON, P.; LEWIN, S.R. Biological determinants of immune reconstitution in HIV-infected patients receiving antiretroviral therapy: The role of interleukin 7 and interleukin 7 receptor α and microbial translocation. **The Journal of Infectious Diseases**. Oxford, v. 202, n. 8, p. 1254-1264, 2010.

RASAIYAAH, J.; TAN, C.P.; FLETCHER, A.J.; PRICE, A.J.; HILDITCH, L.; JACQUES, D.A.; SELWOOD, D.; JAMES, L.C.; NOURSADEGHI, M.; TOWERS, G.J. HIV-1 evades innate immune recognition through specific co-factor recruitment. **Nature**. Londres, v. 503, n. 7476, p. 402-405, 2013.

RAUSCH, J.W.; LE GRICE, S.F.J. HIV Rev assembly on the Rev Response Element (RRE): A structural perspective. **Viruses**. Basel, v.7, n. 6, p. 3053-3055, jun 2015.

RIBEIRO, S.P.; MILUSH, J.M.; CUNHA-NETO, E.; KALLAS, E.G.; KALIL, J.; PASSERO, L.F.D.; HUNT, P.W.; DEEKS, S.G.; NIXON, D.F.; SENGUPTA, D. p16^{INK4a} expression and immunologic aging in chronic HIV infection. **PlosOne**. San Francisco, v. 11, n. 11, e0166759, 2016.

RIVIÈRE, Y.; MCCHESENEY, M.B.; PORROT, F.; TANNEAU-SALVADORI, F.; SANSONETTI, P.; LOPEZ, O.; PIALOUX, G.; FEUILLIE, V.; MOLLEREAU, M.; CHAMARET, S. Gag-specific cytotoxic responses to HIV type 1 are associated with a decreased risk of progression to AIDS-related complex or AIDS. **AIDS Research and Human Retroviruses**. Nova lorque, v. 11, n. 8, p. 903-907, 1995.

ROBERTSON, S.A.; PRINS, J.R.; SHARKEY, D.J.; MOLDENHAUER, L.M. Seminal fluids and the generation of regulatory T cells for embryo implantation. **American Journal of of Reproductive Immunology**. Nova lorque, v. 69, n. 4, p. 315-330, 2013.

ROBERTSON, S.A.; SHARKEY, D.J. Seminal fluid and fertility in women. **Fertility and Sterility**. Nova lorque, v. 106, n. 3, p. 511-519, 2016.

ROBINSON, D.P.; KLEIN, S.L. Pregnancy and pregnancy-associated hormones alter immune responses and disease pathogenesis. **Hormones and Behavior**. Nova lorque, v. 62, n. 3, p. 263-271, 2012.

ROCHE, M.; SALIMI, H.; DUNCAN, R.; WILKINSON, B.L.; CHIKERE, K.; MOORE, M.S.; WEEB, N.E.; ZAPPI, H.; STERJOVSKI, J.; FLYNN, J.K.; ELLETT, A.; GRAY, L.R.; LEE, B.; JUBB, B.; WESTBY, M.; RAMSLAND, P.A.; LEWIN, S.R.; PAYNE, R.J.; CHURCHILL, M.J.; GORRY, P.R. A common mechanisms of clinical HIV-1 resistance of CCR5 antagonist maraviroc despite divergent resistance levels and lack of common gp120 resistance mutations. **Retrovirology**. Londres, v. 10, n. 43, 2013.

RODRÍGUEZ-MARTÍNEZ, H; KVIST, U.; ERNERUDH, J.; SANZ, L.; CALVETE, J.J. Seminal plasma proteins: What role do they play? **American Journal of Reproductive Immunology**. Nova lorque, v. 66, n. 1, p. 11-22, 2011.

ROSSI, P.; MOCHESI, V.; BROLIDEN, P.A.; FUNDARÓ, C.; QUINTI, I.; PLEBANI, A.; GIAQUINTO, C.; TOVO, P.A.; LJUGGREN, K.; ROSEN, J. Presence of maternal antibodies to human immunodeficiency virus 1 envelope glycoprotein gp120 epitopes correlates with the uninfected status of children born to seropositive mothers. **Proceedings of the National Academy of Science of the United States of America**. Washington, v. 86, n. 20, p. 8055-8058, 1989.

RUEDA, C.M.; VELLILA, P.A.; CHOUGNET, C.A.; RUGELES, M.T. Incomplete normalization of regulatory T-cell frequencies in the Gut mucosa of Colombian HIV-infected patients receiving long-term antiretroviral treatment. **PlosOne**. San Francisco, v. 8, n. 8, e71062, 2013.

RUTSTEIN, S.E.; SELLERS, C.J.; ANANWORANICH, J.; COHEN, M.S. The HIV treatment cascade in acutely infected people: Informing global guidelines. **Current Opinion in HIV and AIDS**. Hagerstown, v. 10, n. 6, p. 395-402, 2015.

SAITO, S. Cytokine network at the feto-maternal interface. **Journal of Reproductive Immunology**. Amsterdã, v. 47, n. 2, p. 87-103, 2000.

SAITO, S.; NAKASHIMA, A.; SHIMA, T.; ITO, M. $T_H1/T_H2/T_H17$ and regulatory T-cell paradigm in pregnancy. **American Journal of Reproductive Immunology**. Nova lorque, v. 63, n. 3, p. 601-610, 2010.

SCHMITT, N.; BUSTAMANTE, J.; BOURDERY, L.; BENTEBIBEL, S.E.; BOISSON-DUPUIS, S.; HAMLIN, F.; TRAN, M.V.; BLANKENSHIP, D.; PASCUAL, V.; SAVINO, D.A.; BANCHEREAU, J.; CASANOVA, J.L.; UENO, H. IL-12 receptor $\beta 1$ deficiency alters in vivo T follicular helper cell response in humans. **Blood**. Nova lorque, v. 121, n. 17, p. 3375-3385, 2013.

SCHIMITT, N.; LIU, Y.; BENTEBIBEL, S.E.; UENO, H. Molecular mechanism regulating T helper 1 versus T follicular helper cell differentiation in humans. **Cell Reports**. Cambridge, v. 16, n. 4, p. 1082-1095, 2016.

SCHOENBERGER, S.P.; TOESM R.E.; VAN DER VOORT, E.I.; OFFRINGA, R.; MELIEF, C.J. T cell help for cytotoxic T lymphocytes is mediated by CD40-CD40L interactions. **Nature**. Nova lorque, v. 393, p. 480-483, 1998.

SCULLY, E.; ALTER, G. NK cells in HIV disease. **Currents HIV/AIDS Reports**. Filadélfia, v. 13, n. 2, p. 85-94, 2016.

SEOL, H.J.; OH, M.J.; LIM, J.E.; JUNG, N.H.; YOON, S.Y.; KIM, H.J. The role of $CD4^+CD25^{bright}$ regulatory T cells in the maintenance of pregnancy, premature rupture of membranes, and labor. **Yonsei Medical Journal**. Seul, v. 49, n. 3, p. 366-371, 2008.

SHARKEY, D.J.; MACPHERSON, A.N.; TREMELLEN, K.P.; MOTTERSHEAD, D.G.; GILCHRIST, R.B.; ROBERTSON, S.A. TGF- β mediates proinflammatory seminal fluid signaling in human cervical epithelial cells. **Journal of Immunology**. Baltimore, v. 189, n. 2, p. 1024-1035, 2012.

SHETE, A.; SURYAWANSHI, P.; GODBOLE, S.; PAWAR, J.; PARANJAPE, R.; THAKAR, M. HIV-infected CD4⁺ T cells use T-bet-dependent pathway for production of IL-10 upon antigen recognition. **Scandinavian Journal of Immunology**. Londres, v. 83, n. 4, p. 288-296, 2016.

SHRIDHAR, V.; CHENG, Y.; GUPTA, P. The CD8 antiviral factor (CAF) can suppresses HIV-1 transcription from the long terminal repeat (LTR) promoter in the absence of elements upstream, of the CATATAA box. **Virology Journal**. Londres, v. 11, n. 130, 2014.

SHULMAN, Z. GITLIN, A.; TARG, S.; JANKOVIC, M. PASQUAL, G.; NUSSENZWEIG, M.C.; VICTORIA, G.D. T follicular helper cell dynamics in germinal centers. **Science**. Nova Iorque, v. 341, n. 6146, p. 673-677, 2013.

SHUMACHER, A.; COSTA, S.D.; ZENCLUSSEN, A.C. Endocrine factors modulating immune responses in pregnancy. **Frontiers in Immunology**. Lausanne, v. 5, n. 196, 2014.

SIOU, K.; WALMSLEY, S.L.; MURPHY, K.E.; RABOUD, J.; LOUTFY, M.; YUDIN, M.H.; SILVERMAN, M.; LADHANI, N.N.; SERGHIDES, L. Progesterone supplementation for HIV-positive pregnant women on protease inhibitor-based antiretroviral regimens (the ProSPAR study): a study protocol for a pilot randomized controlled trial. **Pilot and Feasibility Studies**. Londres, v. 2, p. 49, 2016.

SOROOSH, P.; DOHERTHY, T.A. T_H9 and allergic diseases. **Immunology**. Oxford, v. 127, n. 4, p. 450-458, 2009.

SUNDQUIST, W.I.; KRÄUSSLICH, H.G. HIV-1 assembly, budding and maturation. **Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine**. Nova lorque, v. 2, n. 7, a006924, 2012.

SZEKERES-BARTHO, J. Progesterone-mediated immunomodulation in pregnancy: its relevance to leukocyte immunotherapy of recurrent miscarriage. **Immunotherapy**. Londres, v. 1, n. 5, p. 873-882, 2009.

TAGLAUER, E.S.; WANDORF, K.M.A.; PETROFF, M..G. The hidden materno-fetal interface: events involving the lymphoid organs in materno-fetal tolerance. **The International Journal of Developmental Biology**. Viscaya, v. 54, n. 3-4, p. 421-430, 2010.

TAN, C.; GERY, I. The unique features of T_H9 cells and their products. **Critical Reviews in Immunology**. Nova lorque, v. 32, n. 1, p. 1-10, 2012.

TANGYE, S.G.; MA, C.S.; BRINK, R.; DEENICK, E.K. The good, the bad and the ugly – T_{FH} cells in human health and disease. **Nature Reviews Immunology**. Londres, v. 13, n. 6, p. 412-426, 2013.

TASSIOPOULOS, K.; PATEL, K.; ALPEREN, J.; KACANEK, D.; ELLIS, A.; BERMAN, C.; ALLISON, S.M.; HAZRA, R.; BARR, E.; CANTOS, K.; SIMINSKI, S.; MASSAGLI, M.; BAUERMEISTER, J.; SIDDIQUI, D.Q.; PUGA, A.; DYKE, R.V.; SEAGE, G.R. Following young people with perinatal HIV infection from adolescence into adulthood: the protocol for PHACS AMP Up, a prospective cohort study. **Journal of Clinical Pathology**. Londres, v. 6, n. 6, e011396, 2016.

TEDBURY,P.R.; FREED, E.O. The role of matrix in HIV-1 envelope glycoprotein incorporation. **Trends in Microbiology**. Cambridge, v. 22, n. 7, p. 372-378, 2014.

TEOW, S.Y.; NORDIN, A.C.; ALI, S.A.; KHOO, A.S.B. Exosomes in human immunodeficiency virus type 1 pathogenesis: Threat or opportunity? **Advances in Virology**. Nova lorque, v. 2016, 9852494, 2016.

THORNHILL, J.P.; FIDLER, S.; KLENERMAN, P.; FRATER, J.; PHETSOUPHANH, C. The role of CD4⁺ T follicular T helper cells in HIV infection: From the germinal center to the periphery. **Frontiers in Immunology**. Lausanne, v. 8, p. 46, 2017.

UEMURA, Y.; LIU, T.Y.; NARITA, Y.; SUZUKI, M.; MATSUSHITA, S. 17 beta-estradiol (E2) plus tumor necrosis factor-alpha induces a distorted maturation of human monocyte-derived dendritic cells and promotes their capacity to initiate T-helper 2 responses. **Human Immunology**. Nova Iorque, v. 69, n. 3, p. 149-157, 2008.

UNAIDS Brasil. Estatísticas. Disponível em: <<http://www.unaids.org.br/estatisticas>>. Acessado em: 30/08/2016.

VAJPAYEE, M.; NEGI, N.; KURAPATI, S. The enduring tale of T cells in HIV immunopathogenesis. **The Indian Journal of Medical Research**. Nova Délhi, v. 138, n. 5, p. 682-699, 2013.

VALVERDE-VILLEGAS, J.A.; MATTE, M.C.C.; MEDEIROS, R.M.; CHIES, J.A.B. New insights about Treg and T_H17 cells in HIV infection and disease progression. **Journal of Immunology Research**. Cairo, ID: 647916, 2015.

VASSILIADOU, N.; TUCKER, L.; DEBORAH, J.; ANDERSON, D.J. Progesterone induced inhibition of chemokine receptor expression on peripheral blood mononuclear cells correlates with reduced HIV-1 infectability in vitro. **The Journal of Immunology**. Baltimore, v. 162, n. 12, p. 7510-7518, 1999.

VÉGRAN, F.; APETOH, L.; GHIRINGHELLI, F. T_H9 cells: A novel CD4 T-cell subset in the immune war against cancer. **Cancer Research**. Baltimore, v. 75, n. 3, p. 475-479, 2015.

VEILLETTE, M.; DÉSORMEAUX, A.; MEDJAHED, H.; GHARSALLAH, N.E.; COUTU, M.; BAALWA, J.; GUAN, Y.; LEWIS, G.; FERRARI, G.; HAHN, B.H.; HAYNES, B.F.; ROBINSON, J.E.; KAUFMANN, D.E.; BONSIGNORI, M.; SODROSK, J.; FINZI, A. Interaction with cellular CD4 exposes HIV-1 envelope epitopes targeted

by antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity. **Journal of Virology**. Baltimore, v. 88, n. 5, p. 2633-2634, 2014.

VERBOOGEN, D.R.; DINGJAN, I; REVELO, N.H.; VISSER, L.J.; TER BEEST, M.; VAN DEN BOGAART, G. The dendritic cell side of the immunological synapse. **Biomolecular Concepts**. Berlin, v. 7, n. 1, p. 17-28, 2016.

VIGNALI, D.A.; COLLISON, L.W.; WORKMAN, C.J. How regulatory T cells work. **Nature Reviews Immunology**. Londres, v. 8, n. 7, p. 523-532, 2008.

VINGERT, B; BENATI, D.; LAMBOTTE, O; TRUCHIS, P.; SLAMA, L.; JEANNIN, P.; GALPERIN, M.; PEREZ-PATRIGEON, S.;BOUFASSA, S.; KWOK, W.W.; LEMAITRE, F.; DELFRAISSY, J.F.; THÈSE, J.; CHAKRABARTI, L.A. HIV controllers maintain a population of highly efficient Th1 effector cells in contrast to patients treated in the long term. **Journal of Virology**. Baltimore, v. 86, n. 19, p. 10661-10674, 2012.

VINKETOVA, K.; MOURDJEVA, M.; ORESHKOVA, T. Human decidual stromal cells as a component of the implantation niche and a modulator of maternal immunity. **Journal of Pregnancy**. Cairo, e8689436, 2016.

XIONG, Y.H.; YUAN, Z.; HE, L. Effects of estrogen on CD4⁺CD25⁺ regulatory T cell in peripheral blood during pregnancy. **Asian Pacific Journal and Tropical Medicine**. Haikou, v. 6, n. 9, p. 748-752, 2013.

WALKER, C.M.; ERICKSON, A.L.; HSUEH, F.C.; LEVY, J.A. Inhibition of human immunodeficiency virus replication in acutely infected CD4⁺ cells by CD8⁺ cells involves a noncytotoxic mechanism. **Journal of Virology**. Baltimore, v. 65, n. 11, p. 5921-5927, 1991

WALKER, C.M.; MOODY, D.J.; STITES, D.P.; LEVY, J.A. **CD8⁺ lymphocytes can control HIV infection in vitro by suppressing virus replication**. Science. Nova lorque, v. 234, n. 4783, p. 1563-1566, 1986.

WAN, Y.Y.; FLAVELL, R.A. How diverse - CD4 effectors T cells and their functions. **Journal of Molecular Cell Biology**. Oxford, v. 1, n. 1, p. 20-36, 2009.

WANG, B. Viral factors in non-progression. **Frontiers in Immunology**. Lausanne, v. 4, n. 355, 2013.

WANG, W; HAO, C.; QU, Q.; WANG, X.; QIU, L.; KIM, Q. The deregulation of regulatory T cells on interleukin-17-producing T helper cells in patients with unexplained early recurrent miscarriage. **Human Reproduction**. Oxford, v. 25, n. 10, p. 2591-2596, 2010.

WANG, S.; ZHU, X.; XU, Y.; ZHANG, D.; LI, Y.; TAO, Y.; PIAO, H.; LI, D.; DU, M. Programmed cell death-1 (PD-1) and T-cell immunoglobulin mucin-3 (Tim-3) regulate CD4⁺ T cells to induce type 2 helper T cell (T_H2) bias at the maternal-fetal interface. **Human Reproductive**. Oxford, v. 31, n. 4, p. 700-711, 2016.

WANG, X.; ZIANI, W.; XU, H. Changes in follicular CD4⁺ T helper cells is a marker for evaluating disease progression in the competition in between HIV and host immunity. **Frontiers in Immunology**. Lausanne, v. 7, p. 474, 2016.

WARD, A.B.; WILSON, I.A. Insights into the trimeric HIV-1 envelope glycoprotein structure. **Trends in Biochemical Science**. Amsterdã, v. 40, n. 2, p. 101-107, 2015.

WHITE, A.B.; MIRJAHANGIR, J.F.; HORVATH, H.; ANGLEMYER, A.; READ, J.S. Antiretroviral interventions for preventing breast milk transmission of HIV. **The Cochrane Database of Systematic Reviews**. Oxford, v. 10, CD011323, 2015.

WHO. World Health Organization. Consolidated guidelines on HIV prevention, diagnosis, treatment, and care for key populations. Geneva, 2016.

YU, F.H.; CHOU, T.A.; LIAO, W.H.; HUANG, K.J.; WANG, C.T. Gag-Pol transframe domain p6 is essential for HIV-1 protease-mediated virus maturation. **PlosOne**. San Francisco, v. 10, n. 6, e0127974, 2015.

YU, R.; RAO, S.; TSAI, L.M.; LEE, S.K.; HE, Y.; SUTCLIFFE, E.L.; SRIVASTAVA, M.; LINTERMAN, M.; ZHENG, L.; SIMPSON, N.; ELLYARD, J.I.; PARISH, I.A.; MA, C.S.; LI, Q.J.; PARISH, C.R.; MACKAY, C.R.; VINUESA, C.G. The transcriptional repressor Bcl-6 directs T follicular helper cell lineage commitment. **Immunity**. Cambridge, v. 31, n. 3, p. 457-468, 2009.

YUSUF, I.; KAGEYAMA, R.; MINTICELLI, L.; JOHNSTON, R.J.; DITORO, D.; HANSEN, K.; BARNETT, B.; CROTTY, S. Germinal center T follicular helper cell IL-4 production is dependent on signaling lymphocytic activation molecule receptor (CD150). **Journal of Immunology**. Baltimore, v. 185, n. 1, p. 190-202, 2010.

ZAMBRANO-ZARAGOZA, J.F.; ROMO-MARTÍNEZ, E.J.; DURÁN-AVELAR, M.J.; GARCIA-MAGALLANES, N.; VIBANCO-PÉREZ, M. T_H17 cells in autoimmune and infectious diseases. **International Journal of Inflammation**. Londres, ID: 651503, 2014.

ZENCLUSSEN, A.C.; HÄMMERLING, G.J. Cellular regulation of the uterine microenvironment that enables embryo implantation. **Frontiers in Immunology**. Lausanne, v. 6, p. 321, 2015.

ZENG, M.; SOUTHERN, P.J.; REILLY, C.S.; BEILMAN, G.J.; CHIPMAN, J.G.; SCHACKER, T.W.; HAASE, A.T. Lymphoid tissues damage in HIV-1 infection depletes naïve T cells and limits T cell reconstitution after antiretroviral therapy. **Plos Patalogy**, San Francisco, v.8, n. 1, e1002437, 2012.

ZHANG, C.; ZHOU, S.; GROPELLI, E.; PELLEGRINO, P.; WILLIAMS, I.; BORROW, P.; CHAIN, P.M.; JOLLY, C. Hybrid spreading mechanism and T cell activation shape the dynamics of HIV-1 infection. **PlosOne**. San Francisco, v. 11, n. 4, e1004179, 2015.

ZHANG, J.Y.; ZHANG, Z.; WANG, X.; FU, J.L.; YAO, J.; JIAO, Y.; CHEN, L.; ZHANG, H.; WEI, J.; JIN, L.; SHI, M.; GAO, G.F.; WU, H.; WANG, F.S. PD-1 up-regulation is correlated with HIV-specific memory CD8⁺ T-cell exhaustion in typical progressors but not in long-term nonprogressors. **Blood**. Nova Iorque, v.109, n. 11, p. 4671-4678, 2007.

ZHANG, S.; LIN, H.; KONG, S.; WANG, S.; WANG, H.; WANG, H.; ARMANT, D.R. Physiological and molecular determinants of embryo implantation. **Molecular Aspects of Medicine**. Oxford, v. 34, n. 5, p. 939-980, 2013.

ZHANG, X.; TAO, Y.; CHOPRA, M.; DUJMOVIC-BASUROSKI, I.; JIN, J.; TANG, Y.; DRULOVIC, J.; MARKOVIC-PLESE, S. IL-11 Induces T_H17 cell responses in patients with early relapsing-remitting multiple sclerosis. **Journal of Immunology**. Baltimore, v. 194, n. 11, p. 5139-5149, 2015.

ZHOU, Q.; YAN, J.; PUTHETI, P.; WU, Y.; SUN, X.; TOXAVIDIS, V.; TIGGES, J.; KASSAN, N.; ENJYOJI, K.; ROBSON, S.C.; STORM, T.B.; GAO, W. Isolated CD39 expression on CD4⁺ T cells denotes both regulatory and memory populations. **American Journal of Transplantation**. Copenhagen, v. 9, n. 10, p. 2303-2311, 2009.

ZHU, C.B.; LINDLER, K.M.; OWENS, A.W.; DAWS, L.C.; BLAKELY, R.D.; HEWLETT, W.A. Interleukin-1 Receptor Activation by Systemic Lipopolysaccharide Induces Behavioral Despair Linked to MAPK Regulation of CNS Serotonin Transporters. **Neuropsychopharmacology**. Londres, v. 35, n. 13, p. 2510-2520, 2010a.

ZHU, J.; YAMANE, H.; PAUL, W. E. Differentiation of effector CD4 T cell populations. **Annual Review of Immunology**. Palo Alto, v. 28, p. 445-489, 2010b.

ZUNIGA, E.I.; MACAL, M.; LEWIS, G.M.; HARKER, J.A. Innate and Adaptive Immune Regulation During Chronic Viral Infections. **Annual Review of Virology**. Palo Alto, v. 2, n. 1, p. 573-597, 2015.

ZWOLINSKA, K.; BLACHOWICZ, O.; TOMCZYC, T.; KNYSZ, B.; GASIOROWSKI, J.; ZALEWSKA, M.; ORZECZOWSKA, B.U.; SOCHOCKA, M.; PIASECKI, E. The effects of killer cell immunoglobulin-like receptor (KIR) genes on susceptibility to HIV-1 infection in the polish population. **Immunogenetics**. Nova lorque, v. 68, n. 5, p. 327-337, 2016.

ANEXO A

HOSPITAL UNIVERSITÁRIO
GAFFREE E
GUINLE/HUGG/UNIRIO



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: IMPACTO DA TERAPIA ANTI-RETROVIRAL NA FREQUÊNCIA DE CÉLULAS TFH EM GESTANTES INFECTADAS PELO HIV-1.

Pesquisador: Cleonice Alves de Melo Bento

Área Temática:

Versão:

CAAE: 30286514.4.0000.5258

Instituição Proponente: Hospital Universitário Gaffree e Guinle/HUGG/UNIRIO

Patrocinador Principal: FUN CARLOS CHAGAS F. DE AMPARO A PESQUISA DO ESTADO DO RIO DE JANEIRO - FAPERJ

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 666.631

Data da Relatoria: 29/05/2014

Apresentação do Projeto:

Estudo longitudinal, sobre 2 grupos de pacientes infectadas pelo HIV-1, sendo o primeiro grupo constituído por 20 gestantes do Instituto Fernandes Figueira sem outras comorbidades e não usuárias de drogas ilícitas, e o segundo grupo de pacientes não gestantes e oriundas do Hospital Gaffree e Guinle, onde serão quantificadas as células THf no sangue periférico dessas pacientes, antes e 4-6 meses a exposição ao TARV.

Objetivo da Pesquisa:

- 1- Determinar a frequência de células THF no sangue periférico de gestantes infectadas pelo HIV-1 antes de depois da TARV;
- 2- Avaliar a capacidade das células THF em ajudar as células B a produzirem in vitro IgG contra antígenos do HIV-1 antes de depois da TARV;
- 3- Correlacionar a frequência das células THF com a rede de citocinas pró-inflamatórias e anti-inflamatórias produzida por culturas de células Th1/Th17 e Treg maternas em resposta ao vírus HIV-1 antes e depois da TARV;
- 4- Correlacionar a frequência de células THF com a contagem de células T CD4+ periféricas e da carga viral plasmática antes e depois da TARV;

Endereço: Rua Mariz e Barros nº 775

Bairro: Tijuca

CEP: 22.270-004

UF: RJ

Município: RIO DE JANEIRO

Telefone: (21)1264-5317

Fax: (21)1264-5177

E-mail: hugg@unirio.br;cephugg@gmail.com

HOSPITAL UNIVERSITÁRIO
GAFFREE E
GUINLE/HUGG/UNIRIO



Continuação do Parecer: 666.631

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

A pesquisa não apresenta quaisquer riscos para as pacientes do estudo, promovendo outrossim, novos conhecimentos sobre o comportamento do sistema imunológico das mesmas, antes e após o Tratamento antirretroviral.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Estudo patrocinado pela Faperj, de elevado interesse no comportamento imunológico diferenciado entre as mulheres infectadas pelo HIV-1, gestantes e não-gestantes.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Todos os itens do estudo, estão adequadamente relacionados e redigidos.

Recomendações:

sem recomendações.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

não há pendências

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

RIO DE JANEIRO, 29 de Maio de 2014

Assinado por:
Pedro Eder Portari Filho
(Coordenador)

Endereço: Rua Mariz e Barros nº 775
Bairro: Tijuca CEP: 22.270-004
UF: RJ Município: RIO DE JANEIRO
Telefone: (21)1264-5317 Fax: (21)1264-5177 E-mail: hugg@unirio.br;cephugg@gmail.com

ANEXO B**SERVIÇO DE OBSTETRÍCIA - CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO*****“Impacto da terapia antirretroviral na frequência de células T_{FH} em gestantes infectadas pelo HIV-1”***

Pesquisador principal: Dr^a. Cleonice Alves de Melo Bento

Obstetra responsável: Dr. Vander Guimarães, Médico Obstetra do IFF

Telefones: +55 21 2531-7906 – 2554 1740

EXPLICAÇÃO PARA A PACIENTE SOBRE A PROPOSTA DO ESTUDO***1 - Objetivos do estudo***

O objetivo desse projeto será avaliar a frequência das células T_{HF} , importantes células $T CD4^+$ envolvidas na produção de anticorpos protetores contra o vírus da AIDS.

2- Procedimentos

Para o nosso estudo, iremos colher duas amostras do seu sangue periférico no volume de 20 mL cada coleta. A primeira coleta (20 mL) será realizada pela enfermeira antes do médico iniciar o tratamento contra o vírus HIV-1 e a segunda será feita no último trimestre da gestação. Nenhuma coleta de sangue a mais será necessária. Toda a coleta do material biológico será conduzida com material adequado e estéril. Seu sangue não será usado nem para estudos genéticos nem tampouco com propósito comercial, e apenas os pesquisadores irão ter acesso a este material.

3- Riscos e Desconfortos

O procedimento usado para colher o seu sangue é o mesmo utilizado nos exames de rotina. Portanto, este não lhe trará qualquer risco ou desconforto adicionais.

4- Benefícios

Os resultados de nossos estudos não irão beneficiar diretamente nem você nem o seu filho. Eles irão nos ajudar a compreender como as drogas contra o HIV-1 podem melhorar a função das células $TCD4^+$ envolvidas em induzir a produção de anticorpos protetores contra o vírus. Esse conhecimento possivelmente ajudará no

desenvolvimento futuro de novas estratégias terapêuticas contra o HIV em gestantes, como por exemplo, a construção de futuras vacinas contra o HIV-1. Entretanto, nós não podemos lhe dar nenhuma garantia que você será beneficiada por participar dessa pesquisa.

5- Alternativa de participação

A sua participação nesse estudo é voluntária. Você pode desistir a qualquer momento. Mesmo desistindo, você continuará recebendo do nosso serviço o melhor acompanhamento e tratamento disponível.

6- Custos e compensações

Você não irá pagar nem receber nada para participar desse estudo.

7- Confidencialidade

Todas as informações referentes a você, assim como todos os resultados obtidos serão mantidas sob sigilo. Seu nome não será revelado, exceto para o grupo envolvido na pesquisa. Nenhuma publicação científica irá identificar você ou seu filho.

8- Questões e problemas

Caso você tenha qualquer questão ou problema com relação a este estudo, favor contactar o Dr. Vander, obstetra responsável do grupo de pesquisa, ou a Dr^a. Cleonice Bento, coordenadora do projeto.

9- Consentimento

Caso você tenha lido e entendido todas as informações previamente descritas, e você ESPONTANEAMENTE concorde em participar desse estudo, favor assinar na linha abaixo:

Assinatura da Paciente: _____

Número do prontuário: _____

Eu certifico que expliquei a proposta do estudo a paciente, e parece que ela entendeu os objetivos, procedimentos, riscos e benefícios do estudo.

Assinatura do pesquisador: _____

Testemunha: _____

Assinatura da testemunha: _____

Data: _____