



**PROVAS ACADÉMICAS**  
NA FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE LISBOA  
INSTITUTO DE FORMAÇÃO AVANÇADA

---

**Doutoramento:**

Ciências Biomédicas

**Nome do Aluno:**

Rita Jorge Dias Cavaleiro

**Tema da Tese:**

Modulação de células dendríticas e monócitos pelo vírus da imunodeficiência humana tipo 2.

**Área:**

Ciências Biomédicas

**Especialidade:**

Ciências Biopatológicas

**Data da Defesa:**

03/12/2009

**Classificação:**

Aprovado com Distinção e Louvor por Unanimidade

**Júri:**

Presidiu o Presidente do Conselho Científico da FMUL, Professor Doutor Rui Victorino e estiveram presentes os vogais: Professores Doutores Manuel João Rua Vilanova, Universidade do Porto, António Gil Castro, Universidade do Minho, José Moniz Pereira, Faculdade de Farmácia, Francisco Antunes, Bruno Silva Santos, Ana Espada de Sousa, todos da Universidade de Lisboa.



**PROVAS ACADÉMICAS**  
NA FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE LISBOA  
INSTITUTO DE FORMAÇÃO AVANÇADA

---

**RESUMO**

A pandemia pelo vírus da imunodeficiência humana tipo 1 (HIV-1) constitui um dos maiores problemas de saúde pública a nível mundial, estimando-se em cerca de 33 milhões o número de pessoas que estavam infectadas no final de 2007. A infecção pelo HIV-2, apesar de apresentar um espectro clínico semelhante ao da infecção pelo HIV-1, está associada a um ritmo mais lento de progressão clínica, menores níveis de virémia e, conseqüentemente, menor transmissibilidade sexual e perinatal. Deste modo, a infecção pelo HIV-2 é considerada um modelo natural de doença “atenuada”, cujo estudo é importante para a compreensão da imunopatogénese da SIDA. Os estudos realizados no contexto da infecção pelo HIV-2 têm sido muito limitados, dado o confinamento do HIV-2 aos países da África Ocidental, ao contrário da disseminação mundial do HIV-1. Em particular, é escassa a literatura sobre a capacidade moduladora do HIV-2 na função dos monócitos/macrófagos e das células dendríticas (DC). Estas células são consideradas importantes elementos de ligação entre a imunidade inata e adquirida. Se, por um lado, servem de “sentinelas” do sistema inato com elevada capacidade de reconhecimento de microrganismos patogénicos, por outro lado diferenciam-se em células apresentadoras de antígeno fundamentais para o desenvolvimento de respostas de imunidade adquirida. Quer os monócitos quer as DC apresentam alterações em doentes infectados pelo HIV-1 e são potenciais alvos da infecção pelo vírus, podendo constituir reservatórios virais e contribuir para a transmissão viral, desempenhando assim um papel crucial na imunopatogénese da SIDA. Este trabalho teve por objectivo investigar a modulação de DC/monócitos pelo HIV-2 e o seu possível contributo para o aparente melhor prognóstico da infecção pelo HIV-2 em comparação com a infecção pelo HIV-1. Vários estudos têm enfatizado a importância da modulação de células não infectadas do hospedeiro, pelo invólucro do HIV-1, para a patogénese da SIDA. Demonstrámos em estudos anteriores que a glicoproteína gp105 do invólucro do HIV-2 apresentava propriedades imunossupressoras *in vitro* mais acentuadas do que a proteína correspondente do invólucro de HIV-1 (gp120). Em particular, a presença de uma proteína recombinante gp105 de HIV-2ROD em culturas de células mononucleadas de sangue periférico (PBMC) estimuladas por via do receptor específico das células T (TCR, *T cell receptor*) estava associada a uma diminuição da activação e da proliferação das células T. Por outro lado, observámos uma maior capacidade da gp105 do HIV-2 de induzir a produção de TNF- $\alpha$  pelos monócitos. No presente trabalho, tivemos como objectivo estudar o possível envolvimento dos monócitos no efeito supressor da proliferação de células T mediado pela gp105. Utilizando populações de células T purificadas e PBMC depletadas de monócitos de indivíduos seronegativos, verificámos que o efeito imunossupressor, quer da proteína completa gp105 de HIV-2ROD, quer de um péptido do invólucro de uma outra estirpe de HIV-2, HIV-2ALI, é abolido na ausência de monócitos. Para além disso, constatámos que esse efeito depende do contacto entre células T e monócitos. Os nossos dados sugerem ainda a possibilidade de a gp105 do HIV-2 estimular a via de sinalização de TLR4, uma molécula da família dos *Toll-like receptors* (TLR) expressa em monócitos, fundamental no reconhecimento de padrões moleculares de microrganismos. Estes resultados são particularmente relevantes no contexto do crescente papel atribuído à activação persistente do sistema imunitário como factor determinante da depleção de células T CD4<sup>+</sup> e conseqüente progressão para SIDA e da própria replicação do HIV. Assim, assumindo que estes efeitos *in vitro* da gp105 do HIV-2 têm relevância *in vivo*, é plausível que a gp105, ao actuar nos monócitos, suprima os processos de activação linfocitária e, dessa forma, contribua para reduzir a produção de vírus e o ritmo de progressão da doença. Tendo em conta a maior benignidade da infecção pelo HIV-2, estes resultados apontam para uma nova linha de investigação centrada nos monócitos que poderá conduzir à identificação de novos alvos terapêuticos baseados nas propriedades imunomoduladoras do invólucro do HIV-2.

Em face destes resultados, este trabalho prosseguiu com o estudo dos efeitos do invólucro do HIV-2 na diferenciação e maturação de DC obtidas a partir de monócitos de indivíduos seronegativos. Ao contrário dos efeitos directos nos monócitos, não observámos efeitos significativos do invólucro do HIV-2 em DC derivadas de monócitos (Mo-DC). Não se documentaram alterações morfológicas, fenotípicas ou funcionais durante os processos de diferenciação e maturação de Mo-DC, quer na presença de proteínas recombinantes de duas estirpes distintas de HIV-2, quer na presença do vírus completo inactivado quimicamente mas mantendo a conformação intacta do invólucro. Estes resultados sugerem que os monócitos são susceptíveis aos efeitos do invólucro do HIV-2 antes do início do seu programa de diferenciação em células apresentadoras de antigénio especializadas. As DC podem ser subdivididas em duas subpopulações principais, as DC mielóides (mDC), consideradas as células apresentadoras de antigénio clássicas, e as DC plasmacitóides (pDC), especializadas na produção de interferão (IFN)- $\alpha$ . Para além do seu papel antiviral, o IFN- $\alpha$  activa outros componentes do sistema imunitário. A última parte deste trabalho teve por objectivo a caracterização das mDC e pDC do sangue periférico no contexto da infecção pelo HIV-2. Para tal, foi feito um estudo transversal incluindo doentes infectados pelo HIV-2 e doentes infectados pelo HIV-1, não previamente expostos a terapêutica anti-retroviral, seleccionados de forma a apresentarem níveis de linfócitos T CD4+ semelhantes e a representarem as diferentes fases de evolução da doença. Constatámos que, apesar de se associar a um melhor prognóstico e a reduzidos ou indetectáveis níveis de virémia, a infecção pelo HIV-2 apresentou défices quantitativos nas duas subpopulações de DC semelhantes aos observados na infecção pelo HIV-1. Para além disso, as DC dos dois grupos de doentes apresentaram um aumento semelhante da expressão de marcadores de diferenciação, comparativamente ao grupo controlo de seronegativos. Enquanto o decréscimo de mDC foi significativo apenas nos indivíduos em estádios avançados de doença e/ou com virémia detectável, a diminuição dos níveis de pDC foi documentada independentemente do grau de depleção de células T CD4+ e, na infecção pelo HIV-2, mesmo na ausência de virémia. No entanto, apesar do decréscimo significativo dos níveis de pDC, os indivíduos infectados pelo HIV-2 sem virémia detectável apresentaram uma preservação da capacidade de produção de IFN- $\alpha$  pelas pDC após estimulação *in vitro* através do TLR9, ao contrário do que se observou nos doentes infectados pelo HIV-1. Os nossos resultados revelaram ainda uma correlação significativa entre o decréscimo de ambas as subpopulações de DC e o aumento da expressão de marcadores de activação de células T CD4+ e T CD8+, sugerindo uma associação entre a activação generalizada e persistente do sistema imunitário e os distúrbios das DC nas duas infecções. Em resumo, o estudo aqui apresentado da modulação de DC/monócitos pela infecção pelo HIV-2 reforça a importância deste modelo natural de doença “atenuada” para a compreensão da imunopatogénese da SIDA.