



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

Doutoramento:

Ciências Biomédicas

Nome do Aluno:

Russell Bourne Foxall

Tema da Tese:

Respostas T específicas para o HIV, activação dos linfócitos T e células T reguladoras na patogénese da SIDA: Contributos do modelo HIV-2.

Área:

Ciências Biomédicas

Especialidade:

Ciências Biopatológicas

Data da Defesa:

10/12/2009

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 Laurence Weiss, Université Paris, Descartes, Hôpital European George Pompidou, Paris, Rui Appelberg Gaio lima, Universidade do Porto, José Miguel Azevedo Pereira, Faculdade de Farmácia, Ana Cristina Gomes Espada de Sousa, Emília de Jesus da Encarnação Valadas, todos da Universidade de Lisboa.



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

RESUMO

A pandemia da infecção HIV/SIDA continua a representar um dos mais importantes problemas mundiais de saúde. Desde os casos iniciais de SIDA descritos em 1981, aproximadamente 70 milhões de novos casos de infecção pelo HIV foram diagnosticados e mais de 25 milhões de mortes associadas à SIDA foram reportadas. Os agentes causadores de SIDA são o HIV-1 e o HIV-2. A infecção pelo HIV-1 é caracterizada por uma progressiva e, na ausência de tratamento, irreversível perda dos linfócitos T CD4. Esta depleção não pode ser só atribuída a efeitos citopáticos directos do vírus, sendo a hiper-activação crónica do sistema imunitário associada à infecção pelo HIV um dos principais factores determinantes da progressão da doença. É por isso fundamental investigar os mecanismos da imunidade celular que contribuem potencialmente para o controlo da hiper-activação imunitária, tais como as células T reguladoras (Treg), ou que favoreçam a manutenção das populações linfocitárias relevantes, incluindo os linfócitos T específicos para o HIV. A infecção pelo HIV-2, apesar da reduzida virémia, associa-se, tal como o HIV-1, a uma progressiva activação imunitária ao longo do curso da doença. Contudo, o ritmo de aumento dos níveis de hiper-activação imunitária e do consequente declínio dos linfócitos T CD4 é muito mais lento na infecção pelo HIV-2 do que na pelo HIV-1. Assim, o HIV-2 é aqui explorado como um “modelo” de doença HIV atenuada, com potencialidades únicas para analisar aspectos da resposta vírus-hospedeiro que contribuam para controlar ou melhorar os efeitos da hiper-activação crónica do sistema imunitário e desta forma modelar a imunopatogénese da SIDA. As respostas específicas dos linfócitos T CD4 foram aqui investigadas dados os poucos dados existentes. As respostas homólogas e heterólogas contra péptidos do Gag foram estudadas em doentes infectados pelo HIV-1 e pelo HIV-2 com graus de depleção dos linfócitos T CD4 comparáveis. A frequência e a magnitude das respostas foram caracterizadas em termos das citocinas produzidas a nível celular individualizado. As duas infecções apresentaram uma frequência semelhante de células T CD4+ capazes de reconhecer péptidos homólogos do Gag. Contudo, nos doentes infectados pelo HIV-2 documentou-se uma melhor capacidade de responder a péptidos heterólogos. É importante salientar que quer as respostas homólogas quer as heterólogas se caracterizavam por uma maior produção de IL-2 na infecção pelo HIV-2. Além disso, as respostas HIV-2 homólogas correlacionavam-se positivamente com os níveis de activação dos linfócitos T CD4 e negativamente com a carga viral celular avaliada pelo DNA proviral, sugerindo uma potencial relação entre as respostas CD4 específicas para o HIV, a activação imunitária e o controlo da replicação viral que pode contribuir para o melhor prognóstico associado à infecção pelo HIV-2. De entre os múltiplos aspectos da desregulação do sistema imunitário associada à infecção pelo HIV-1, a bem reconhecida disrupção das vias da IL-2 e do receptor da IL-2 tem um interesse particular uma vez que esta citocina tem um papel central quer na homeostasia dos linfócitos T quer na função e sobrevivência das células T reguladoras. A expressão diferencial da expressão da cadeia α do seu receptor, CD25, constitui um importante mecanismo de modulação da função da IL-2. Os indivíduos infectados pelo HIV-2 parecem ter a capacidade de contrariar a perda de CD4 associada à activação imunitária persistente na ausência de terapêutica antiretroviral (ART). Assim, com o objectivo de avaliar o potencial contributo da população CD4+CD25+ para a manutenção dos linfócitos T CD4, esta população foi caracterizada em doentes infectados pelo HIV-1 e pelo HIV-2 não previamente expostos a ART. Apesar do CD25 ter sido originalmente identificado como um marcador de activação T, tal como previamente descrito, não foi encontrada qualquer diferença na proporção de linfócitos T CD4 expressando CD25 em doentes infectados pelo HIV-1 e controlos seronegativos. Em contraste, esta população estava significativamente aumentada em indivíduos infectados pelo HIV-2. A divisão da população de células T CD4+CD25+ de acordo com os níveis de

expressão de CD25, revelou que este aumento era devido à sub-população de células expressando baixos níveis de intensidade de CD25 (CD25dim). O aumento desta subpopulação é aparentemente mantido ao longo de toda a história natural da infecção pelo HIV-2 uma vez que não se observou qualquer relação com o grau de depleção CD4. Importa realçar que estes níveis de expressão de CD25 não estavam associados à expressão de outros marcadores de activação nos linfócitos T CD4 em ambas as infecções. A caracterização fenotípica detalhada destas células permitiu ainda demonstrar que esta sub-população CD25dim, ao contrário da população CD25bright, não está enriquecida em células reguladoras. Além disso, documentou-se uma elevada frequência de células produtoras de IL-2, IL-4 e IFN- γ , confirmando que esta população CD25dim tem uma função predominantemente efectora e não supressora. A proporção aumentada de células CD25dim nos linfócitos T CD4 em doentes infectados pelo HIV-2 era devido a células com um fenótipo de memória-efectoras (CD45RA-CCR7-). Como a IL-15 é uma citocina crucial para a homeostasia das células de memória-efectoras, os níveis séricos de IL-15 foram quantificados e documentou-se um aumento significativo na infecção HIV-2 em comparação com a HIV-1. A IL-15, tal como outras citocinas γ c, induz a expressão de CD25 em células T CD4. Assim, a proporção aumentada de CD25dim observada na infecção pelo HIV-2 pode estar relacionada com uma melhor capacidade de manutenção do compartimento de células T CD4 de memória-efector. A preservação desta população foi demonstrada ser um factor determinante do ritmo de progressão da doença em modelos símios. Em conclusão, identificámos uma expansão única da população CD25dim nos linfócitos T CD4 em doentes infectados pelo HIV-2, que poderá contribuir para a melhor manutenção das células T CD4 de memória-efectoras e para a menor agressividade da imunopatogénese da associada à infecção pelo HIV-2. As células T CD4 reguladoras (Treg) têm um papel importante na homeostasia dos linfócitos T e no controlo da imunopatologia associada às respostas imunitárias, particularmente no contexto de infecções persistentes. A contribuição relativa desta população na patogénese da infecção VIH/SIDA não está ainda clarificada. As Treg foram avaliadas quer pela expressão de CD25bright quer do factor regulador da transcrição Foxp3, e o seu "turn-over" foi estimado utilizando o marcador de células em ciclo Ki67. A selecção de "cohorts" de indivíduos infectados pelo HIV-2 e pelo HIV-1 sem exposição prévia a ART, bem como doentes com infecção pelo HIV-1 tratados com ART com diferentes graus de recuperação imunológica apesar da supressão da virémia constitui uma estratégia inovadora para investigar as interrelações entre Treg, activação imunitária e carga viral/antigénica. Na ausência de ART documentou-se em ambas as infecções um aumento da proporção de Treg nas populações de linfócitos T CD4 de memória e naíve com a progressão da doença, que se associava a um aumento marcado da frequência de células Ki67+ na população Treg de memória. Em doentes HIV-1 tratados com ART com fraca recuperação imunológica, observou-se uma frequência reduzida de Ki67+ nas células Treg. Apesar disso, o estudo longitudinal destes doentes documentou uma expansão significativa mantida da população Treg, apontando para uma capacidade aumentada de sobrevivência destas células neste contexto clínico em que foi demonstrado um compromisso da actividade tímica. Isto é particularmente relevante tendo em conta as evidências suportando um contributo da diminuição da timopoiese na falência de reconstituição imunológica nestes doentes. Em conclusão, estes dados sugerem uma melhor preservação na infecção HIV/SIDA das Treg circulantes naíve e de memória em relação a outras sub-populações T CD4, e significativamente contribuem para a melhor compreensão dos processos envolvidos na manutenção das células T reguladoras circulantes.