

# PERFIL IMUNOLÓGICO DE INDIVÍDUOS AFRICANOS HIV-2 SEROPOSITIVOS (FOLLOW-UP)

ARLINDO SANTOS PINTO, WANDA F. CANAS FERREIRA, CELESTINO COSTA, AUGUSTO PAULO SILVA, EMÍLIA PRIETO ALVAREZ, RITA ALBUQUERQUE SOUSA, KAMAL MANSINHO, JOSÉ L. CHAMPALIMAUD, CARLOS ARAÚJO, FRANCISCO DIAS, JUSTINO MONTEIRO, TERESA VENENO, JOÃO PIEDADE

Instituto de Higiene e Medicina Tropical, Laboratório de Imunologia, I.P.O.F.G. Lisboa. Hospital Simão Mendes. Guiné Bissau.

## RESUMO

Na distribuição geográfica de infecção pelo HIV-2 é conhecida a sua maior prevalência na África Ocidental, sendo a Guiné-Bissau local privilegiado para estudos sero-epidemiológicos sobre esta infecção. Desde 1986, temos tido a possibilidade de estudar a população local, nomeadamente um grupo seropositivo e um grupo seronegativo com follow-up em 1988, 1989, 1990 e 1991. A análise dos resultados permite comprovar a elevada incidência da infecção, 8.51% de seropositivos na população geral, a larga predominância do HIV-2 e uma evolução mais lenta da infecção por estas variantes. Nas seroconversões das infecções por HIV-2 os anticorpos surgem primeiramente para os componentes do core e só posteriormente para as glicoproteínas de superfície, verificando-se que os parâmetros laboratoriais mais afectados na evolução da infecção são o aumento das imunoglobulinas e a diminuição dos linfócitos CD4 e do cociente CD4/CD8. A comparação desta variação nos infectados por HIV-2, com ou sem reactividade cruzada com o HIV-1, mostra que ela é muito mais expressiva nos exclusivamente reactivos para HIV-2, o que poderá indicar que as estirpes responsáveis pelas reacções cruzadas são filogeneticamente menos evoluídas.

## SUMMARY

### Immunological profile of HIV-2 seropositive african individuals (follow-up)

In the geographic distribution of HIV-2, it is known that this infection is most prevalent in West Africa. Since 1986 we have studied seropositive and seronegative clusters, in Guinea-Bissau with follow-ups in 1988, 1989, 1990 and 1991. Analysis of the results shows the high incidence of this infection. 8.51% of the 4,372 people of the general population studied were seropositive, showing the high predominance of HIV-2 infection. Only 4 cases were exclusively reactive to HIV-1 and a slow evolution of HIV-1 infections. In the seroconversions of HIV-2 infections the antibodies appeared first to the core components and secondly to the surface glycoproteins. Some of the laboratory parameters affected in the evolution of the infection include a gradual increase in immunoglobulins and a decrease in CD4 lymphocytes and in the CD4/CD8 ratio. A comparison of these variations in HIV-2 infected people, with or without cross-reactivity to HIV-1, reveals that they are much more evident in exclusively HIV-2 positive people. This fact can indicate that the variants responsible for the cross-reactions are less pathogenic and phylogenetically less developed.

## INTRODUÇÃO

O conhecimento da história natural da doença e a definição de factores prognósticos clínicos e biológicos indiciadores do estabelecimento de estado patológico nos indivíduos infectados com vírus de imunodeficiência humana (HIV) é de extrema importância face à por vezes longa evolução da infecção antes do surgimento dos sintomas.

Se estes factores preditivos têm sido difíceis de estabelecer com segurança para as infecções pelo HIV-1, mais inseguros o são todavia para as infecções pelo HIV-2, dado o isolamento deste vírus ser mais recente, menor o número de indivíduos infectados e estudados e mais restritas as zonas geográficas onde tem sido detectado.

Com mais elevada prevalência conhecida na África Ocidental, nomeadamente na Guiné-Bissau, a nossa equipa iniciou em 1986 neste país um estudo clínico e seroepidemiológico que cobriu a totalidade do território e abrangeu 4 372 indivíduos.

Por método ELISA, confirmado por Westernblot e/ou RIPA encontramos uma incidência de 8,51% de seropositi-

vos para HIV com somente 4 casos seropositivos para HIV-1, confirmando-se a Guiné-Bissau como local privilegiado para o estudo epidemiológico clínico-laboratorial da infecção pelo HIV-2.

Decidiu-se então prosseguir o estudo com revisões anuais, num grupo de 78 seropositivos e 320 seronegativos. Destes grupos tem-se conhecimento da ocorrência de 3 falecimentos por SIDA nos seropositivos.

As dificuldades de localização e mobilização destes indivíduos, facilmente imagináveis para quem conhece os países africanos não permitiram que a totalidade dos indivíduos seleccionados fossem observados todos os anos.

Nesta nossa exposição damos apenas conta dos resultados dos indivíduos seropositivos e seronegativos com quatro observações, 1986, 88, 89 e 90, já que os resultados da observação de 1991 estão ainda em fase de recolha.

## MATERIAL E MÉTODOS

Este estudo inclui 70 indivíduos, 19 seropositivos dos quais 6 com dupla reactividade e 51 seronegativos quando

da 1.<sup>a</sup> observação em 1986, tendo sido subsequentemente controlados em 1988, 1989 e 1991, na cidade de Bissau. Neste período observaram-se 3 seroconversões entre os negativos e o aparecimento de dupla reactividade em 3 previamente positivos só para HIV 2.

O fenótipo linfocitário foi determinado imediatamente após a colheita, utilizando anticorpos monoclonais e imunoglobulinas anti-murganho marcadas pela fluoresceína (DAKO) após separação das células mononucleares por centrifugação em Ficoll-Isopaque. Os soros, separados no mesmo dia da colheita foram conservados a  $-20^{\circ}\text{C}$  e transportados para Lisboa onde foram estudados. Aquando das colheitas de sangue foi efectuado exame clínico e preenchido um inquérito.

A seropositividade para os vírus de imunodeficiência adquirida humana foi pesquisada por ELISA (Elávia 1 e Elávia 2) e confirmado por Westernblot (Lav-Blot 1 e 2) e/ou RIPA (inst. Pasteur — Prof. Montagnier).

As imunoglobulinas foram quantificadas por turbidimetria (Behringwerke) e a  $\beta 2$  microglobulina e os anticorpos anti citomegalovírus (CMV) por MICROELISA (Pharmacia e Labsystems).

Os critérios de positividade utilizados foram os propostos pela OMS em Setembro de 1990.

## RESULTADOS

Na 1.<sup>a</sup> colheita dos 70 indivíduos incluídos, 51 mostraram-se seronegativos e 19 revelaram seropositividade para HIV 2

dos quais 4 reagiram simultaneamente para HIV 1 e HIV 2. Nenhum deles tinha reactividade exclusiva para HIV-1. 3 soros que inicialmente só reagiam com HIV 2 passaram a dar subsequentemente reacção cruzada com o HIV 1, tendo-se observado nos seronegativos, até 1990, 3 seroconversões, dois reagindo só com o HIV 2 e 1 com reacção dupla.

Tendo-se reexaminado estes soros antes da seroconversão, em todos se encontrou, prévia reactividade para as proteínas do core e em três destes reactividades para uma glicoproteína, a GP-160 ou GP-140.

No soro do inquirido 1250 que desenvolveu SIDA e faleceu, não se registou perda de reactividade para qualquer fracção durante a evolução.

O quadro 1 inclui os valores médios das IGs,  $\beta 2$  microglobulina e anticorpos CMV observados nas quatro colheitas, comparando os seropositivos com os seronegativos destacando-se os do inquirido 1250, o único do grupo que faleceu em Outubro de 1990 com quadro clínico de SIDA.

Da sua análise ressalta um aumento progressivo das imunoglobulinas nos seropositivos, não se encontrando diferenças assinaláveis entre os dois grupos nos valores da  $\beta 2$  microglobulina e dos anticorpos anti-CMV.

Quando comparados os reactivos exclusivamente para HIV 2 e os duplamente reactivos (Quadro 2) constata-se com certa surpresa que as modificações no teor de imunoglobulinas se verificam sobretudo nos exclusivamente reactivos para HIV 2, sendo muito menos significativas as diferenças entre valores dos duplamente reactivos e dos seronegativos.

Os quadros 3 e 4 expressam idênticas comparações no que se refere aos fenótipos linfocitários, verificando-se nos sero-

QUADRO 1

		1986	1988	1989	1990
IgA	POS.	243.5 ± 160.93	310.1 ± 174.99	236.6 ± 140.18	305.0 ± 155.28
	1250*	201	510	562	601
	NEG.	214.1 ± 89.73	340.1 ± 181.06	241.4 ± 109.23	231.4 ± 130.09
IgG	POS.	2327.9 ± 967.36	2298.3 ± 1023.58	2631.0 ± 1235.97	3113.30 ± 1679.23
	1250	2090	3314	4040	6270
	NEG.	1843.4 ± 789.51	2099.0 ± 784.33	1921.7 ± 1013.58	1713.0 ± 573.41
IgM	POS.	178.0 ± 91.15	259.0 ± 135.54	202.4 ± 97.78	284.6 ± 176.23
	1250	138	511	293	436
	NEG.	227.0 ± 208.28	240.4 ± 109.85	202.1 ± 114.19	198.2 ± 156.80
AcCMV $\beta 2$ micro	POS.	2.697 ± 0.846	2.688 ± 1.168	2.314 ± 0.801	2.700 ± 1.043
	1250	2.95	3.30	3.28	2.90
	NEG.	2.45 ± 1.030	2.403 ± 1.187	1.930 ± 0.794	2.656 ± 0.902
AcCMV	POS.	34.13 ± 22.496	50.65 ± 31.768	31.09 ± 22.456	65.33 ± 20.626
	1250	43.4	35.2	48.1	88.0
	NEG.	30.84 ± 29.276	40.45 ± 34.408	34.42 ± 34.012	64.13 ± 31.405

\* Doente falecida de SIDA em 1990.

QUADRO 2

		1986	1988	1989	1990
IgA	HIV1/HIV2	187.3 ± 89.43	246.4 ± 96.58	220.1 ± 94.30	227.1 ± 95.36
	HIV2	246.2 ± 187.46	344.4 ± 207.29	288.5 ± 163.20	295.7 ± 192.3
IgG	HIV1/HIV2	2074.7 ± 1074.16	1878.9 ± 875.76	2281.3 ± 1140.71	2863.8 ± 1804.71
	HIV2	2510.0 ± 928.62	2606.1 ± 1039.02	2927.1 ± 1255.58	3339.7 ± 1678.94
IgM	HIV1/HIV2	129.1 ± 85.51	187.63 ± 97.40	168.5 ± 99.52	231.9 ± 136.76
	HIV2	188.6 ± 75.80	298.2 ± 145.43	223.1 ± 98.23	279.43 ± 148.14
AcCMV $\beta 2$ micro	HIV1/HIV2	2.918 ± 0.640	2.186 ± 1.120	2.204 ± 0.975	3.100 ± 1.205
	HIV2	2.441 ± 0.801	2.930 ± 1.177	2.417 ± 0.729	2.415 ± 0.917
	HIV1/HIV2	30.80 ± 14.787	44.26 ± 22.495	25.18 ± 11.780	50.20 ± 11.841
	HIV2	32.49 ± 23.237	53.54 ± 37.319	34.14 ± 27.305	71.67 ± 21.415

positivos uma progressiva diminuição dos valores dos linfócitos CD4 e do cociente T4/T8, diminuição que também aqui é mais evidente nos monorreactivos para HIV 2 do que nos duplamente reactivos.

## COMENTÁRIOS

A infecção pelo vírus de imunodeficiência humana tem incidência elevada na Guiné-Bissau, 8,51%, sendo largamente predominante o HIV 2, já que em 372 seropositivos, apenas em 4 se comprovou reactividade para o HIV 1.

No grupo restrito por nós estudado em follow-up, e aqui referido, confirma-se o elevado grau de endemia, já que durante e período de observação (1986-1990) se observam 3 seroconversões entre os previamente negativos.

Os resultados observados no Westernblot, nomeadamente nos que seroconverteram durante o período de observação, indiciam que a resposta imunitária de dirige no HIV 2 primeiramente para os componentes do core e só posteriormente para as glicoproteínas de superfície.

A evolução de estado infeccioso para estado patológico afigura-se mais lenta do que o habitualmente referido para o HIV 1, já que durante os cinco anos de observação apenas 1 caso evoluiu para doença e morte, embora entre os seroposi-

tivos se tenha observado progressiva alteração dos parâmetros laboratoriais. Estas alterações são mais evidentes no aumento das IGs, na diminuição dos linfócitos CD4 e no cociente T4/T8, parecendo pouco afectadas a  $\beta 2$  microglobulina e a taxa de anticorpos anti CMV.

A comparação das variações dos parâmetros laboratoriais estudados nos seropositivos reactivos simultaneamente para HIV 1 e HIV 2 e nos exclusivamente positivos para HIV 2, surpreendeu-nos, ao verificarmos que elas são muito mais expressivas nos últimos e pouco nos duplamente reactivos.

A interpretação da dupla reactividade HIV 1 e HIV 2 como resultante de uma infecção dupla ou por uma variante do vírus intermédia entre o HIV 1 e o HIV 2 não se concilia com estes resultados já que o maior poder patogénico do HIV 1 nos conduziria a prever exactamente o contrário.

Estes resultados, a serem confirmados, indiciariam que as variantes responsáveis pela dupla reactividade, seriam menos patogénicas, traduzindo uma menor evolução na adaptação ao homem.

Se tivermos em conta a análise das relações das estirpes HIV 1 e HIV 2 com os SIVs, feita por Smith et al., as estirpes HIV 1/HIV 2 estariam filogeneticamente mais próximas das raízes da árvore evolutiva dos vírus da imunodeficiência adquirida e por conseguinte com maior probabilidade de partilharem maior número de sequências nucleotídicas comuns.

QUADRO 3

		1988	1989	1990
CD4	POSITIVOS (1250)*	579.2 ± 259 321.0	479.4 ± 198 143.0	528.5 ± 259 128.0
	NEGATIVOS	748.7 ± 296	606.3 ± 264	948.4 ± 446
CD8	POSITIVOS (1250)	595.7 ± 282 464.0	537.3 ± 197 482.0	668.6 ± 293 496.0
	NEGATIVOS	602.2 ± 305	438.8 ± 205	705.1 ± 364
T4/T8	POSITIVOS (1250)	1.031 ± .450 .690	.943 ± .40 .290	.830 ± .33 .250
	NEGATIVOS	1.478 ± .577	1.538 ± .59	1.397 ± .78

\* Doente falecida de Sida em 1990

QUADRO 4

		1988	1989	1990
CD4	HIV 1+, HIV 2+	620.6 ± 223	552.6 ± 159	611.3 ± 291
	HIV 1-, HIV 2+	567.0 ± 290	439.9 ± 212	498.7 ± 250
CD8	HIV 1+, HIV 2+	513.0 ± 164	552.6 ± 225	648.7 ± 237
	HIV 1-, HIV 2+	673.0 ± 341	529.0 ± 190	707.6 ± 314
T4/T8	HIV 1+, HIV 2+	1.248 ± .54	1.140 ± .52	.977 ± .39
	HIV 1-, HIV 2+	.880 ± .34	.836 ± .28	.718 ± .25

## AGRADECIMENTOS

Agradecemos à Fundação Calouste Gulbenkian e à Secretaria de Estado da Cooperação do MNE, pelos subsídios que permitiram a realização deste projecto.

Agradecemos igualmente ao Ministério da Saúde da Guiné-Bissau, e àqueles que nele trabalham, o apoio que nos têm proporcionado na realização deste trabalho.

A todos os técnicos e auxiliares do Departamento de Microbiologia, os nossos agradecimentos pela sua dedicação e preciosa colaboração.

## BIBLIOGRAFIA

1. PENNY D.: Origins of the AIDS virus. Nature 1988; 333: 494-5.
2. Acquired Immunodeficiency Syndrome (AIDS) WHO Wkly Epidem. Rec. 1990; 37: 281-3.