

ASPECTOS IMUNOLÓGICOS PERTINENTES DA INFECÇÃO POR HIV

J.A. MACHADO CAETANO

Serviço de Imunologia, Faculdade de Ciências Médicas. Lisboa Universidade Nova de Lisboa.

RESUMO

A infecção do organismo humano pelos vírus HIV, induz, a prazo mais ou menos longo, uma complexa Deficiência Imunitária. (D.I.) que foi designada Síndrome de Imunodeficiência Adquirida (SIDA). Ainda que a designação não seja correcta, ela foi aceite pela comunidade científica. Este título engloba múltiplas situações clínicas, que têm como factores constantes a infecção pelos HIV e de modo quase constante a D.I. que, no final da história natural da infecção, se traduz pelo aparecimento de infecções oportunistas e de tumores malignos. Os HIV são vírus RNA lentos dotados de uma estrutura e organização genética relativamente simples e bem conhecida. As particularidades que o tornaram agente infeccioso n.º 1 do século XX, são a sua notável heterogeneidade, a homologia da sequência de aminoácidos de algumas das suas estruturas com moléculas de grande importância biológica nos seres humanos — moléculas do MHC, IL-2, VIP, etc, o facto das suas moléculas de adesão celular — gp 120 — terem uma enorme afinidade para o receptor CD4 dos linfócitos T auxiliares (T4), células do Sistema Mononuclear Fagocítico (SMF), células NK, etc, todas elas indispensáveis a uma Resposta Imunitária (RI) normal. Afectado pelos HIV nos eixos celulares da imunidade, o organismo humano inicia ainda uma resposta defensiva anti viral — por anticorpos, CTL, NK, ADCC, etc, mas em vão. Os HIV, activando o SI contra si próprios, aproveitam eficazmente essa activação para se multiplicarem, tirando partido de todo o esforço do Sistema Imunitário em seu próprio proveito. Passado um período de aparente latência em que o hospedeiro parece dominar a situação, surgem progressivamente novas variantes virais, dada a enorme capacidade mutagénica dos HIV, que vão activar o SI, induzir mais replicação viral e mais mutantes, conduzindo finalmente o SI do Hospedeiro a um caótico colapso. A pouco e pouco são afectadas as RI primárias e secundárias e a imunoregulação com proliferação e activação linfocitária T e B anárquica. Há hiperprodução de proteínas virais, particularmente gp 120, que conduz a aglutinação sincisial de células CD4⁺ não infectadas, sendo progressivamente lesadas funcionalmente as Células Apresentadoras do Antígeno (APC), os linfócitos B, T e NK. Surgem desvios autoreactivos e depleção das CTL e NK que conduzem à explosão de infecções oportunistas e tumores que mais estimulam ainda um SI já em derrocada, levando à explosão das viremias finais e à morte do Hospedeiro. Esta complexa e intrincada rede de interacções entre os HIV e SI, é a base deste trabalho no qual analizaremos alguns dos mecanismos mais pertinentes da imunodepressão generalizada das infecções HIV.

SUMMARY

Some relevant Immunological Problems in HIV Infection

Infection of Human organism by Human Immunodeficiency viruses induces, after a shorter or a longer period, a complex immune Deficiency (ID) that has been named Acquired Immune Deficiency Syndrome (AIDS). Although the designation is not correct, it has been accepted by the scientific community. AIDS includes multiple clinical situations that have in common HIV infection and an almost constant ID, that at the end of natural course of infection manifestates by the presence of opportunistic infections and malignant tumours. HIV-1 and HIV-2 are slow RNA viruses with a common architecture and well known genomic organization. The characteristics that made HIV infectious agent n.º 1 in XXth Century are their remarkable heterogeneity, close AA sequence homology between some of their proteins and relevant molecules in human beings: MHC molecules, IL-2, VIP, etc. and a strong affinity of gp 120 to CD4 receptor of T helper lymphocytes (T4), mononuclear phagocytes, natural killer, cells, etc. all of them sharing a relevant role in normal immune response (IR). Affected in its *cornerstones* of cellular defense, human organism starts an immune defense through antibodies, cytotoxic T Lymphocytes (CTL) Natural Killer Cells (NK) antibody dependent cell cytotoxicity (ADCC), that fails. Activating immune system HIV turn that defense strategy to their own profit and enhanced replication. After an apparent latency period — in which the balance seems to favor the host — new viral variants arise due to high rate of HIV mutagenesis, that in turn stimulate immune system, induce new cycles of viral replication and new high virulent mutants, leading to the final collapse of Immune System. Primary and secondary response are progressively affected, immunoregulation fails and anarchical proliferation of T and B cells take place. The overproduction of some viral components, specially gp 120 leads to syncytia formation between infected and uninfected CD4⁺ cells, functional failure of APC, B lymphocytes, cytotoxic T lymphocytes, NK cells. Autoimmune reactions develop and depletion of CTL and NK leads to the easy explosion of opportunistic infection and neoplasia that further stimulate and Immune system already broken down free viral replication, viremia and host death follows. The complex and intricate array of interactions between HIV and Immune System is the base of this work, where some of the more relevant mechanism of immunosuppression by HIV infection will be analysed.

INTRODUÇÃO

A infecção pelo vírus HIV provoca no organismo humano um complexo conjunto de alterações fisiopatológicas que estão longe de ser compreendidas em todo o pormenor.

Escolhendo como alvo principal de infecção os linfócitos CD4⁺, de função auxiliadora — indutora, os HIV desequilibram completamente as respostas imunitárias humorais e celulares específicas. Por outro lado afectam as células do Sistema Mononuclear fagocítico, alterando as funções de apresentação dos péptidos antigénicos, indispensáveis à RI específica e simultaneamente as funções de defesa inespecífica a cargo deste Sistema.

Aproveitando os próprios mecanismos de activação, proliferação e diferenciação linfocitária para se replicar, os HIV induzem lenta e progressivamente o colapso total do Sistema Imunitário.

Acresce a este panorama de desastre biológico a enorme capacidade mutagénica dos HIV e a homologia de muitas das suas estruturas peptídicas com algumas das moléculas mais importantes da resposta Imunitária — IL-2, antígenos da classe II do MHC, etc.

São estes aspectos complexos, interactuantes e pertinentes e ainda mal esclarecidos que procuramos abordar nesta revisão.

INFECÇÃO CELULAR PELOS HIV

Importância do Receptor CD4 e da linfopenia T4

Vejamos inicialmente o ciclo viral dos HIV. A glicoproteína da superfície viral *env* — gp 120 é a molécula de adesão dos HIV às células alvo. O receptor celular de maior afinidade para a gp 120 é a molécula CD4, que se exprime com maior densidade na superfície dos linfócitos T4¹. Após fusão celular do vírus, que envolve a proteína *env* gp41, os HIV entram na célula alvo. No citoplasma celular libertam o RNA que é copiado em DNA pela transcriptase reversa, sendo o RNA degradado por uma RNase. O DNA viral é então integrado no genoma da célula alvo por uma integrase. Segue-se um período de latência. Quando surge activação dos genes virais, sucede-se a transcrição do DNA em RNA viral, tradução, enquadramento ribossómico, clivagem poliproteica, reunião dos componentes, reconstituição da partícula viral e saída da célula por gemulação e rotura da membrana celular².

O receptor CD4 está presente não só nos linfócitos T4 como também nos monócitos, macrófagos e outras células do SMF e ainda na maioria dos timócitos como desenvolvemos adiante.

Um dos aspectos imunopatogénicos fundamentais da SIDA é a destruição dos linfócitos CD4 pelos HIV. Logo que os vírus se integram no genoma celular e a célula se replica surge uma acção citopática directa do vírus. Os mecanismos da linfopenia T4 são os seguintes (revisão em³): Destruição da membrana celular por saída do vírus maciça; Disfunção celular por acumulação de *debrimentos* moleculares dos HIV (DNA, RNA, proteínas do core, etc.); Formação de complexos intracelulares de moléculas gp 120 e CD4; Destruição de células precursoras no timo e na medula óssea; Destruição ou inibição de células produtoras de factores de crescimento de células T4; Formação de Sincícios — células multinucleadas gigantes de vida curta com aglomeração de células T4 infectadas e não infectadas unidas por gp 120.

Vale a pena desenvolver um pouco mais a infecção dos progenitores tímicos primordiais que pode conduzir à incapacidade do organismo reconstituir a depleção periférica dos T4 maduros⁴. É conhecido que a célula intratímica mais imatura tem o fenotipo CD7⁺, CD3⁻, CD4⁻, CD8⁻

(TN= Triple Negative). O marcador CD3 seria expresso à entrada do timo. As células CD7⁺ intratímicas expressariam então CD2 e as células CD7⁺, CD2⁺, CD3⁺ originariam células TCR $\gamma\delta$ ⁺ das quais algumas se tornariam TCR $\alpha\beta$ ⁺. As células NK originam-se-iam das células CD7⁺, CD3⁻, CD4⁻, CD8⁻.

As células CD7⁺, CD2⁺, CD3⁺, TCR $\alpha\beta$ ⁺ originariam uma linhagem intermédia DP — *Double Positive* — CD4⁺, CD8⁺ da qual derivariam as subpopulações CD4⁺, CD8⁻ e CD4⁻, CD8⁺.

Estudos recentes de Shinitman e col⁴ revelaram que os precursores tímicos — DP, TN, TCR $\alpha\beta$ ⁺, TCR $\gamma\delta$ ⁺ e ainda os CD16⁺ CD3⁻ (NK) se infectam pelos HIV, facto que origina em curto prazo incapacidade de manter a população periférica dos T4 nos níveis normais.

PRINCIPAIS MECANISMOS DA DISFUNÇÃO IMUNITÁRIA DOS LINFÓCITOS T4

Para além do efeito citopático resultante da união da gp 120 do HIV à molécula CD4, outros mecanismos conduzem à inoperância das células T4, auxiliaadoras e indutora da RI.

A molécula CD4 é o ligante dos linfócitos T4 às moléculas da classe II do MHC expressas na superfície das APC (Antigen Presenting Cells). Quando as APC apresentam o péptido antigénico ao receptor TCR dos linfócitos T4, há um reconhecimento restrictivo pelo receptor CD4 das moléculas da classe II do MHC das APC, em cujo contexto é apresentado o péptido antigénico³.

A união e consequente bloqueio pela gp 120 livre dos receptores CD4, altera a funcionalidade do complexo TCR — CD4 atrás descrito, com inoperacionalidade da estimulação antigénica.

Provou-se comunhão de epitópos entre a gp 120 e as moléculas da classe II do MHC e que anticorpos anti gp 120 e anti gp 41 têm reacções cruzadas com moléculas de classe II do MHC³. Existem também regiões de homologia entre a gp 120 e a IL-2 e estão decritos já na infecção por HIV anticorpos que reagem cruzadamente com estas duas moléculas³. Esta homologia entre produtos do HIV e moléculas biologicamente activas na RI, conduz a autoreactividade que deprime funções imunitárias e causa morte de células imunocompetentes³.

Os autoanticorpos antilinfocitários dos doentes com SIDA poderão estar envolvidos em ADCC (Antibody Dependent Cell Cytotoxicity) ou lise mediada pelo C' e têm efeito inibitório na resposta dos linfócitos T4 a antígenos solúveis e a aloantígenos³.

As células T4, mesmo não infectadas, podem-se unir pelos receptores CD4 a moléculas gp 120 livres, tornando-se assim alvo dos anticorpos anti gp 120, citolíticos ou activos em ADCC³. Um outro mecanismo de lise de células T4 não infectadas resulta da acção dos CTL contra péptidos da gp 120 expressos na membrana celular junto a moléculas da classe II do MHC³.

REPERCUSSÃO DA INFECÇÃO PELO HIV EM OUTRAS CÉLULAS

Células dos Sistemas Mononuclear Fagocítico

A importância das células do SMF é bem conhecida na defesa do organismo. Para além das actividades de fagocitose e morte intracelular, as células do SMF são fundamentais na apresentação dos péptidos antigénicos aos receptores dos linfócitos T e B (função apresentadora das APC).

As células do SMF estão disseminadas na maioria dos tecidos e órgãos e têm intensa actividade metabólica sinteti-

zando dezenas de moléculas bioactivas. Entre as mais importantes monocinas destaca-se a IL-1, potente activador da RI T e B.

Os macrófagos, que simbolizam as células do SMF, têm receptores para múltiplos mediadores solúveis, nomeadamente linfocinas e produtos de clivagem do C'. A sensibilidade dos macrófagos aos factores quimioquímicos e quimiotáticos torna-os rapidamente mobilizáveis, deles dependendo funções cruciais na imunidade natural e adquirida tanto na defesa anti-infecciosa como na anti-tumoral.

A importância da infecção das células do SMF pelos HIV, foi confirmada nos últimos anos^{5,6} e a consequência desta infecção na fisiologia destas células é notável. Surge deficiente quimiotaxia, secreção anormal de monocinas, diminuição da imunidade e fagocitose mediada pelos Fc e C3 e diminuição da actividade oxidativa e da capacidade *Killing* intracelular⁵⁻⁷.

Nos últimos anos têm sido referidas estirpes HIV com particular tropismo para os Macrófagos e com diferentes graus de patogenicidade.

A infecção das células do SMF tem também grave implicação na manutenção da infecção HIV, pois dada a reduzida replicação destas células elas actuam como reservatórios virais^{8,9}.

Um aspecto que merece referência é o da infecção pelos HIV das células dendríticas (CD), células APC por excelência, e da sua consequência na RI. A infecção das CD da pele (Langerhans) do baço e gânglios linfáticos, ocorreria precocemente¹⁵ e induziria diminuição das RI secundárias, enquanto a infecção das CD da medula óssea provocaria bloqueio de recrutamento de células T para a periferia e da activação de células T em repouso⁹. Estes factos representam mecanismos adicionais da deficiência imunitária, independentes da citopenia T4.

Importa referir que as consequências da infecção pelos HIV das células do SMF, permitem compreender muitas das alterações patológicas em vários tecidos e órgãos, e consequentemente entender, do ponto de vista fisiopatológico, muitas das manifestações clínicas. Estão neste campo algumas das síndromas hematopoiéticas, neurológicas, digestivas e dermatológicas, para além naturalmente das imunológicas.

LINFÓCITOS T CITOTÓXICOS

A imunidade celular, expressa particularmente pela actividade das células T Citotóxicas e Natural Killer (NK), representa a mais importante linha defensiva contra as infecções por bactérias intracelulares, fungos e vírus e ainda contra células neoplásicas.

A avaliação das subpopulações linfocitárias nos seus aspectos numérico e funcional, traduz importante referência da imunocompetência do hospedeiro, e é habitualmente utilizada não só na clínica prática mas também na investigação dos mecanismos fisiológicos e imunopatogénicos de diferentes situações, nomeadamente no estudo da história natural da infecção pelos HIV¹⁰.

A citotoxicidade por CTL é geralmente MHC restrita e raramente no caso das NK, existindo excepções nos 2 casos.

Na infecção pelos HIV, o estudo da actividade CTL e NK tem revelado resultados controversos, dependentes do modelo praticado *in vitro*, bem como do estadiamento da infecção HIV e coexistência ou não de infecções oportunistas¹⁰.

Apesar de terem sido demonstradas CTL específicas anti HIV no sangue circulante de doentes com SIDA ou assintomáticos, não foi possível estabelecer uma correlação entre a sua presença e a resistência à SIDA. O aumento das CTL varia de doente para doente e até mesmo no doente¹².

As CTL são restritas à classe I do MHC, reconhecendo os Ag, virais processados e expressos na membrana celular de diferentes células. Relativamente ao HIV, já foram demonstradas CTL contra péptidos p24, p14 e recentemente de p17, restritas ao HLA-2¹². Mais recentemente referiram-se CTL contra outros alvos proteicos dos HIV: Gag, nef e vif¹².

Achour et al.¹² verificaram que um péptido sintético — HGP-30 — análogo à proteína p17 do HIV é um alvo para as CTL dos indivíduos infectados com HIV, podendo vir a ser experimentado, só ou em conjunto com outras subunidades, na vacinação.

Recentemente Vanham et al.¹⁰ utilizaram um ensaio citolítico não restrito ao MHC nem ao Ag., utilizando anticorpos monoclonais para o receptor T, que fazem a ligação entre a célula efectora e a célula alvo. Estes AA verificaram elevação da actividade das células CTL (T, CD3⁺, CD8⁺, CD57⁺, DR⁺) em cerca de 50% dos seropositivos HIV e que ia aumentando à medida que a doença progredia até ao estágio clínico IV, fase em que então decrescia para valores iguais ou inferiores ao normal. Estes dados foram utilizados por alguns AA para o prognóstico da evolução clínica na infecção por HIV¹¹.

Esta elevação inicial da actividade CTL, representaria uma acção defensiva na infecção por HIV e oportunistas, mas também poderá ser um contributo para a progressão da doença por destruição das células autólogas CD4⁺ que expressem Ag. HIV¹⁰. O declínio das CTL nas fases terminais, resultaria da incapacidade da população auxiliadora CD4⁺ apoiar as CTL, o que levaria à escalada da infecção HIV e das infecções oportunistas¹³.

Indivíduos HIV⁺ no que diz respeito ao espectro das subpopulações linfocitárias do sangue periférico e em alguns deles a actividade NK. Os nossos resultados referem-se a indivíduos sintomáticos infectados por HIV-1 ou HIV-2.

As alterações verificadas foram, para além da citopenia CD4 com consequente alteração do índice CD4/CD8, diminuição dos linfócitos B (CD19⁺) em alguns doentes, aumento da população T citotóxica CD3⁺ CD8⁺ CD57⁺ e em cerca de 50% dos casos uma expansão das células com fenótipo — CD8⁺, CD3⁻, CD57⁺, CD2⁺, estando o valor das células CD16 no limite superior do normal.

CÉLULAS ASSASSINAS NATURAIS — NATURAL KILLER (NK)

A maioria das células NK são células mononucleares, fenotipicamente CD3⁻, CD16⁺, CR3⁺ (Fc RIII), grandes e granuladas, importantes na defesa contra vírus e tumores¹⁵.

Em doentes com SIDA as células NK são fenotípica e numericamente normais, apesar de alguns resultados controversos¹⁰, sendo consideradas genericamente deficientes¹⁵. As células NK normais são sensíveis à molécula LFA-1 que funciona como molécula de adesão ao alvo, à laminina implicada na fase citolítica, IL-2 que aumenta a actividade NK e ao AMPc que inibe a lise celular mediada por NK¹⁵. O sistema microtubular do citoesqueleto (MT) tem um papel fundamental na polarização celular e libertação de substâncias líticas para a célula alvo¹⁵.

As células NK dos doentes com SIDA sofrem particularmente alteração da polarização MT, da produção de grânulos e da excreção do factor citotóxico das NK (NKCF).

As células NK têm receptores celulares para o Péptido Vasointestinal (VIP) e este tem homologia de aminoácidos nas posições 7 e 11 com a molécula CD4 na zona de ligação à gp120¹⁵. A ligação do receptor NK para o VIP com a gp120, leva à alteração da polarização MT e da capacidade lítica das NK. O VIP e a gp20 em concentrações a 10⁻⁸ e 10⁻¹⁰ tem efeitos similares nas NK¹⁵.

No momento actual a causa da deficiência NK na SIDA não está clarificada. Há seguramente interacção dos HIV com as NK e provavelmente um efeito indirecto da diminuição da produção de IL-2, mecanismo que possivelmente actua em sinergia com outros factores¹⁵.

LINFÓCITOS B

Os doentes com SIDA têm hipergamaglobulinemia policlonal, anticorpos contra o HIV e outros agentes infecciosos, aumento de células B activadas circulantes e de autoanticorpos antilinfocitários^{16,17}. A estimulação policlonal é devida, contrariamente ao que inicialmente se admitiu, a uma forte resposta B aos antígenos HIV¹⁶.

A resposta B *in vitro* está diminuída aos mitogénios PWM e Cowan I, ao que parece por deficiente produção de interleucinas e supressão¹⁶.

Os anticorpos séricos anti HIV, existentes desde o início, diminuem nas fases terminais, provavelmente pela elevação do Ag p24. Os anticorpos neutralizantes são anti gp 120, gp 17 e gp 41 e o seu efeito protector é quase nulo, tal como em modelos experimentais com outros retrovírus, provavelmente pela enorme actividade mutagénica viral como consequente mudança do epitopo alvo¹⁶.

É possível também que a hiperestimulação B existente na SIDA, induza disfunção imunitária autoreactiva e depressão imunitária via linfócitos CD8⁺.

O agravamento da replicação viral *in vivo* dependeria também da produção de IL-6 e INF- α pelos linfócitos B que estimularia a replicação dos HIV.

A fagocitose dos complexos Ig-HIV funcionará como vector infectante para novas células, atuando os Ac. anti HIV como facilitantes da infecção, tal como sucede nas infecções pelos vírus do Herpes, Reovírus e Flavivírus¹⁶. A imunoaderência do complexo vírus + Ac. aos receptores Fc ou do Complemento, explicaria afinal a infecção de células pobres em CD4R, tais como macrófagos, células gliais, etc.

A aderência à superfície das células alvo de moléculas de Ig anti-HIV e C' seria ainda o factor base da ADCC e KCDC, que parecem aliás ser pouco relevantes na lise de células infectadas por HIV¹⁶.

Os imunocomplexos gp 120 fixados aos receptores CD4 provocariam também diminuição da expressão CD4 nos TH¹⁶ o que diminuiria a imunoreactividade destas células, ao mesmo tempo que os tornaria alvos de citotoxicidade celular por células CTL e K e de citólise mediada pelo C'¹⁶.

Aos anticorpos anti gp 41 e anti gp 120 teriam ainda efeito patogénico pela sua reactividade cruzada com antígenos da classe II do MHC¹⁶.

As células normais poderiam pois ser alvo de citotoxicidade, não só pelos epitopos virais passivamente ligados à membrana, mas também pela acção citolítica de anticorpos anti-HIV que reagem cruzadamente com estruturas autólogas — classe II MHC, IL-2, etc.

Os anticorpos anti-idiotipo merecem uma palavra pela sua eventual influência na activação linfocitária. Um anticorpo dirigido contra o epitopo da gp 120 que se liga ao CD4, pode provocar um auto-anticorpo anti-idiotipo que mimetiza afinal a imagem do epitopo viral (imagem interna do Ag). Estes anti-idiotipos, funcionando como a gp 120, *fac simile*, podem unir-se aos receptores CD4 dos linfócitos T e activá-los. Os Ac anti-CD4 foram descritos em cerca de 10% dos doentes e não parecem ter relação com a evolução da doença¹⁶.

Para além dos múltiplos anticorpos que surgem nos indivíduos HIV+, citamos os anticorpos anti tat, que surgem em 13% dos doentes com SIDA e Kaposi¹⁸. A importância do tat como factor de crescimento contribuindo para a proliferação das células do Sarcoma de Kaposi e outros efeitos biológicos dos anticorpos anti tat, ainda não estão esclarecidos.

ANTICORPOS NEUTRALIZANTES E CITOTOXICIDADE CELULAR MEDIADA POR ANTICORPOS (ADCC)

Os anticorpos neutralizantes por si só parecem não ser capazes de proteger adequadamente contra a infecção por HIV. Um dos factores explicativos, seria a entrada dos HIV no organismo dentro de uma célula infectada e a sua passagem directa célula a célula sem se exporem aos anticorpos neutralizantes. Ao que parece a região V3 da gp 120 — aminoácidos 308-322 — seria o local imonodominante para a união dos Ac neutralizantes¹⁹.

Um aspecto a salientar é que nem todos os AA confirmam correlação entre o título de Ac. neutralizantes séricos o estado clínico e a progressão para a SIDA.

Na única experiência pessoal em que participei com Rui Proença e col.²⁰ a administração de elevadas doses de Imunoglobulina Intravenosa humana com elevado título de anticorpos neutralizantes anti-HIV-1, na dose de 0,4 g/Kg/3-3 semanas, durante 6 meses num doente com SIDA — estadio IV, não impediu a morte do doente meses depois, nem induziu sinais clínicos-laboratoriais de melhoria da profunda imunodeficiência em que se encontrava. Ainda que este caso não permita conclusões, obriga-nos à sua referência.

Nos últimos 2 anos tem-se dado especial atenção à ADCC no controlo da infecção por HIV, pois trata-se de um mecanismo effector mediado por Ac. com capacidades de atacar células infectadas pelo HIV.

Ao contrário da acção das CTL que exige replicação viral para ser efectiva, a ADCC é mediada por Ac específico e células effectoras não específicas podendo teoricamente ser estimulada por vacina de subunidade ou de péptido.

O alvo da ADCC na infecção por HIV é a gp 120²¹. Demonstrou-se que a ADCC está presente em 100% dos indivíduos infectados com HIV-1 e que em 5% os soros de doentes HIV-1 havia reactividade cruzada com o HIV-2, provavelmente por reconhecimento de epitopos para ADCC localizados fora das regiões hipervariáveis das gp 120, geralmente reconhecidos pelo Ac neutralizantes. A descoberta destes epitopos comuns ao HIV-1 e HIV-2 será da maior importância para a investigação de vacinas activas para os 2 vírus.

Em todos os doentes é possível demonstrar Ac capazes de mediar a ADCC e isso não impede a progressão para a SIDA, o que demonstra que este mecanismo não é eficaz para conter uma infecção já estabelecida²¹. Não se tem demonstrado correlação entre ADCC e estadio da doença, pois o teste ADCC mede a presença de Ac. para ADCC usando células effectoras de dadores normais e não células dos próprios doentes.

A célula implicada na ADCC para o HIV é uma célula da linhagem NK (CD16+) e sabe-se que a actividade destas células diminui ao longo da infecção HIV à medida que a doença progride^{1,21}.

O sistema ADCC seria um bom mecanismo defensivo no doente infectado com HIV, pois ele produz Ac activos para ADCC, mas pela própria infecção, as células effectoras de ADCC (CD16+) são também afectadas qualitativa e quantitativamente o que torna o sistema inoperante.

AUTOANTICORPOS E PATOLOGIA AUTOIMUNITÁRIA NA SIDA

Apesar das múltiplas referências a autoanticorpos nos casos da infecção por HIV, o seu espectro, especificidade, o seu ciclo biológico nos diversos estadios da doença, a sua importância patogénica e a sua dependência de outros cofactores genéticos, oportunistas ou comportamentais, está por esclarecer.

Alguns AA salientaram particularmente os anticorpos anti-nucleotidos (Poly A)²², antilinfocitários (CD4+ e CD4-)¹⁷ e anticardiolipina²³. No que diz respeito aos antilinfocitários, foi recentemente referido o antígeno 18 Kd como o epitopo alvo¹⁶.

Um facto parece ser evidente e aceite por todos. Com ou sem autoanticorpos a expressão clínica autoimunitária sistémica ou específica está praticamente ausente nos doentes HIV+^{16,17,22,23}.

Num trabalho com Isabel Abreu, Fernanda Barros e outros²⁴, pesquisámos em 75 indivíduos seropositivos auto anticorpos séricos — ANA, Anti-DNA, anti-fosfolípidos e anti-linfocitários por IF, Elisa e immunoblotting. Verificámos ANA em 30% dos casos e Antinucleolares em 8% (1: 80 IF com linha celular Hep2). Nos casos com estadio III e IV da classificação do CDC, a percentagem com ANA foi de 70%. Em 20% dos doentes existiam anticorpos anti-cardiolipina (mas não fosfatidil serina nem fosfatidil etanolamina, excepto em um caso), verificando-se correlação positiva com a presença de anticorpos antilinfocitários ($p \leq 0.001$).

Estes resultados preliminares confirmam a existência de auto-reactividade nos indivíduos infectados pelos HIV, estando por esclarecer e seu significado imunopatogénico.

ACTIVAÇÃO B E LINFOMAS

Nos doentes com SIDA surgem com elevada frequência (3-5%) linfomas B não Hodgkin^{16,25}, admitindo alguns AA que resultem da incompetência imunológica anti-EBV e consequente incremento da infecção e imortalização celular pelo EBV e aumento da probabilidade de transformação neoplásica²⁵. Todavia em 50% dos casos de linfoma B não se identifica o EBV no genoma das células neoplásicas²⁵. Alguns Autores referem todavia que o que existe nos linfomas EBV+ é uma translocação nos cromossomas 8-14 envolvendo c-myc com ponto de clivagem na região J do Cr 14 enquanto nos linfomas EBV- o ponto de clivagem é na região 5' do gene Ig H¹⁶. O DNA do EBV tem expressão mais marcada nas células Hodgkin HIV+ do que nas HIV-²⁶.

MEDIADORES SOLÚVEIS NA INFECÇÃO POR HIV

Ainda que adiante seja referida a importância dos mediadores solúveis na expressão dos HIV, valerá a pena destacar que no decurso da infecção viral há ampla modificação da sua síntese e dos receptores que lhes são afins. Entre os mais afectados referimos a diminuição da síntese e produção de IL-2 e do IL-2R²⁷ e aumento da síntese e actividade da IL-1 β ²⁹ do TNF- $\alpha\beta$ ²⁸, LT³⁰ e da IL-6 e GM-CSF²⁸.

A IL-6, é uma interleucina multifuncional produzida por monócitos, fibroblastos e outras células e cuja síntese é estimulada pelos HIV³¹.

A IL-6 induz a síntese de proteínas de Fase Aguda, estimula os linfócitos B e a síntese de Ig, a replicação dos EBV, é cofactor de activação T e induz recrutamento medular³¹. A importância da sua elevação dos doentes com SIDA está por clarificar.

Relativamente aos factores solúveis supressores, para além da gp 120, gp 41 e do produto acessório do gene tat, vale a pena referir o TGF β (factor de transformação e crescimento β) referenciado como potente inibidor da imunidade por anticorpos e da imunidade celular³².

MEDIADORES SOLÚVEIS E STRESS

Entre os agentes que merecem referência especial estão as HSP (Heat Shock Proteins), proteínas altamente conserva-

das na evolução, que hoje se sabe implicadas na apresentação dos Ag, iniciação de processos autoimunitários e que têm também acção positiva na replicação dos HIV²⁸. A produção da HSP é induzida pela hipertermia, IL-2, infecção por HSV e adenovírus²⁸. A hipertermia fisiológica provocada pelo pirogénio endógeno TNF α e a IL-6 que está elevada em casos febris induzem replicação HIV²⁸. Este efeito parece ser mediado por acção na LTR viral mediado em parte pela sequência de facilitação NF- $\kappa\beta$ -like.

Sharilin e col²⁸ demonstraram que a elevação da temperatura acima de 40.6° C sinergiza com IL-6 e GM-CSF, mas não com TNF- α ou IL-1 β na indução da expressão viral de células infectadas.

ACTIVAÇÃO CELULAR E EXPRESSÃO VIRAL

Desde as experiências iniciais para isolar os HIV verificou-se ser necessário estimular mitogénica ou alogenicamente as células T infectadas para o vírus se expressar³.

A infecção *de novo* é obtida por estimulação antigénica, mitogénica ou por Ac. monoclonais α CD3³. Verificou-se que esta estimulação induzia proteínas *kB-binding* tais como a NF κ B e HIVEN 86A, que reagem cruzadamente com os facilitadores virais (HIV-Enhancers) que iniciam a transcrição do mRNA do HIV³⁰. As regiões génicas kB em tandem existem nos genes da IL-2, IL-2R e nas regiões LTR (Long Terminal Repeat) do genoma do HIV³. Citoquinas de activação linfocitária, tais como as dos sobrenadantes de cultura linfocitárias com PHA ou de culturas de Monócitos com LPS activariam a replicação dos HIV³.

Das citoquinas implicadas na indução da replicação HIV as de maior importância são o GM-CSF, TNF α e β e a IL-6³.

O TNF- α , produzido pelos monócitos e macrófagos durante as infecções correntes de forma autocrónica e paracrónica, activa os macrófagos e, induz o seu recrutamento e, estimula a proliferação linfocitária T pós estimulação antigénica e mitogénica³. Múltiplas experiências demonstraram que o TNF- α é responsável pela activação e manutenção da expressão HIV em células cronicamente infectadas³. A estimulação dos macrófagos pelos HIV nos receptores CD4, induziria simultaneamente a produção de TNF- α e de TNF- α R, facto que levaria à proliferação celular com expressão dos HIV, e adicionalmente recrutamento celular, expandindo-se assim a infecção a novas células³.

UTILIZAÇÃO E COLAPSO DO SISTEMA IMUNITÁRIO PELOS HIV

Está provado que a replicação dos HIV está intimamente associada aos mecanismos que o SI utiliza para cumprir as suas funções.

A estimulação linfocitária TH por antígenos ou mitogénios, induz substâncias que actuam nas regiões kB dos genes da IL-2 e da IL-2R e simultaneamente em genes promotores da replicação dos HIV. A activação linfocitária base da RI específica, associa-se assim fatalmente ao início da infecção *in vivo*, à facilitação da replicação viral em células infectadas produtoras, à expressão de vírus latentes em outras células e à infecção de novas células T CD4+ que sofram activações³. No caso do TNF- α existe mesmo um ciclo vicioso automanipulado de activação e morte celular pelos HIV que termina no extermínio dos linfócitos CD4+ do organismo.

Esta *sagacidade* biológica dos HIV na utilização dos próprios mecanismos reguladores da RI para se multiplicar, leva finalmente o SI a um colapso irreversível.

CAPACIDADE MUTAGÊNICA DOS HIV COMO FACTOR DE FALÊNCIA DA RESPOSTA IMUNITÁRIA EFECTORA E DA PROGRESSÃO DA SIDA

Os HIV isolados de diferentes indivíduos têm grande heterogeneidade genómica³³. Clones distintos e isolados do mesmo indivíduo evidenciam também diferentes actividades biológicas³³. A maior heterogeneidade é a do gene que codifica para a gp120, proteína viral que demonstra a maior variação de sequências³³. Esta variabilidade da gp120 impede o seu adequado reconhecimento pelas células T — ora porque o péptido expresso à superfície das APC sendo diferente, compõe um complexo molecular diferente com o antígeno MHC classe II, ou porque o conjunto péptido + MHC não é adequadamente reconhecido pelo TCR do linfócito TH³³. Os linfócitos CD4+ têm papel crucial na indução da resposta anti viral B por anticorpos e pelas células CD8+-CTL. Saliente-se que algumas células CD4+ anti gp120 têm actividade citotóxica específica³³.

É interessante notar que uma só molécula do MHC — DR4 (Dw10) — é capaz de reconhecer um epitopo comum a várias estirpes virais, o que permite antever no futuro a preparação de vacinas de maior especificidade geográfica, em função dos epitopos mais predominantes nessa área e dos genótipos MHC mais prevalentes nessa população³³.

GENOTIPAGEM HLA E SIDA

Os resultados referidos internacionalmente não permitem ainda concluir sobre a existência de correlação entre o genótipo HLA e a susceptibilidade à infecção pelo HIV ou à predisposição para uma progressão mais rápida desde o estadió de infecção assintomático para a SIDA. Todavia, alguns Autores têm referido mais frequentemente que os genes HLA-B35 e DR5 teriam correlação positiva com um prognóstico mais desfavorável.

Os resultados preliminares de um trabalho que vimos realizando com Fernanda Barros³⁴ e enquadrado num protocolo de colaboração europeia sobre *Imunogenética da SIDA* dependendo do EC Working Party on AIDS Research, evidenciaram nos primeiros 26 casos de seropositivos (tipagem HLA por linfocitotoxicidade e RFLP) uma frequência significativamente elevada dos antígenos HLA-A29 ($\chi^2 \approx 39$, $pc = 0.0003$) e HLA-B40 ($\chi^2 \approx 111$, $pc = 0.0005$). Relativamente ao antígeno HLA-DR5 ainda que a sua frequência estivesse elevada nos seropositivos (40% versus 19% controlos), essa associação não tem significado estatístico ($\chi^2 \approx 3.9$, $pc = 0.08$).

É possível que com os resultados do trabalho cooperativo em que participaram todos os países da Comunidade Europeia permitam clarificar a correlação HLA-SIDA.

Teoricamente é previsível que a estrutura química das moléculas antigénicas do MHC classe II tenha importância no grau de afinidade para o complexo estrutural dos péptidos HIV apresentados pelas APC aos TH, conforme atrás referimos.

Todavia, dado o elevado número de estudos realizados sem que se tenha demonstrado uma forte associação HLA-SIDA, é provável que a avidéz do HIV para a molécula CD4 e, toda a perturbação molecular daí resultante, afecte o reconhecimento e arco efector da RI de tal forma, que não permita identificar qualquer tipo de associação.

COMENTÁRIOS

É sem dúvida extraordinária a enorme quantidade de conhecimentos que nos últimos anos se obtiveram sobre os

HIV e até das repercussões imunológicas e clínicas da infecção no organismo humano. Todavia, os mecanismos íntimos pelos quais se processa a aderência do HIV às células, os factores envolvidos na replicação viral e na imunodeficiência secundária estão muito longe de estar elucidados. A heterogeneidade e o diferente tropismo dos HIV e a diferente patogenicidade das várias estirpes, são questões adicionais que merecem esclarecimento. Finalmente, há que investigar e esclarecer os obscuros mecanismos imunopatogénicos das diferentes patologias associadas à infecção pelos HIV.

Estes são sem dúvida alguns dos mais espectaculares desafios à investigação científica contemporânea.

AGRADECIMENTOS

Ao Minsitério da Saúde pelo apoio aos nossos projectos de investigação; À Professora Laura Ayres e à Comissão da SIDA pelo seu apoio; Aos Doutores Fernanda Barros, Isabel Abreu e Helder Trindade pela colaboração; A Ilda Soares, Maria Luís Palma e Catarina Montoito pelo apoio de Secretariado.

BIBLIOGRAFIA

1. AHKENAZI A., PRESTA L.G., MARSTERS S.A. et al.: Mapping the CD4 binding site for human immunodeficiency virus by alanine-scanning mutagenesis. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1990; 87: 7150-7154.
2. YARCHOAN R., MITSUYA H. and BRODER S.: Immunologic issues in antiretroviral therapy. *Immunol Today*, 1990; 11: 327-333.
3. ROSENBERG Z.F., FAUCI A.S.: Immunopathogenic mechanisms of HIV infection: cytokine induction of HIV expression. *Immunol Today*, 1990; 11: 176-180.
4. SCHNITTMAN S.M., DENNING S.M., GREENHOUSE J.J., et al.: Evidence for susceptibility of intrathymic T-cell precursors and their progeny carrying T-cell antigen receptor phenotypes TCR $\alpha\beta^+$ and TCR $\gamma\delta^+$ to human immunodeficiency virus infection: A mechanism for CD4⁺ (T4) lymphocyte depletion. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1990; 87: 7727-7731.
5. MULLER, F., ROLLAG H. and FROLAND S.S.: Reduced oxidative burst responses in monocytes and monocyte-derived macrophages from HIV-infected subjects. *Clin Exp Immunol*, 1990; 82: 10-15.
6. PARMONTIER H.K., VAN WICHEN D., SIE-GO D.M.D.S., et al.: HIV-1 infection and virus production in follicular dendritic cells in lymph nodes. *Am J Pathol*, 1990; 137: 247-251.
7. HARPER M.E., MARSELLE L.M., GALLO R.C., et al.: Detection of lymphocytes expressing human T-lymphotropic virus type III in lymph nodes and peripheral blood from infected individuals by in situ hybridization. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1986; 83: 772-776.
8. MACATONIA S.E., PATTERSON S. and KNIGHT S.C.: Suppression of immune responses by dendritic cells infected with HIV. *Immunology*, 1989; 67: 285-289.
9. MACATONIA E., LAU R., PATTERSON S. et al.: Dendritic cell infection, depletion and dysfunction in HIV-infected individuals. *Immunology*, 1990; 71: 38-45.
10. VANHAM G., KESTENS L., GIGASE P. et al.: Evidence for circulating activated cytotoxic T cell in HIV-infected subjects before the onset of opportunistic infections. *Clin Exp Immunol*, 1990; 82: 3-9.
11. STITES D.P., MOSS A.R., BACCHETTI P. et al.: Lymphocyte subset analysis to predict progression to AIDS in a cohort of homosexual men in San Francisco. *Clin Immunol Immunopathol*, 1989; 52: 96-103.
12. ACHOUR A., PICARD O., ZAGURY D. et al.: HGP-30, a synthetic analogue of human immunodeficiency virus (HIV) p17, is a target for cytotoxic lymphocytes in HIV-infected individuals. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1990; 87: 7045-7049.
13. ZINKERNAGEL R.M.: Virus-triggered AIDS: a T-cell-mediated immunopathology? *Immunol Today*, 1988; 9: 370-372.

14. TRINDADE H., MACHADO CAETANO J.A.: Populações linfocitárias do sague periférico em doentes HIV+. (manuscrito em preparação).
15. SIRIANNI M.C., TAGLIAFERRI F. and AIUTI F.: Pathogenesis of the natural killer cell deficiency in AIDS. *Immunol Today*, 1990; 11: 81-82.
16. AMADORI A. and CHIECO-BIANCHI L., B-cell activation and HIV-1 infection: deeds and misdeeds. *Immunol Today*, 1990; 11: 374-379.
17. TOMAR R.H., JOHN P.A., HENNIG A.K. et al.: Cellular Targets of antilymphocyte antibodies in AIDS and LAS. *Clin Immunol Immunopathol*, 1985; 37: 37-47.
18. REISS P. and LANGE J.M.A.: Kaposi's sarcoma and AIDS. *Nature*, 1990; 346: 801.
19. FUNG M.S.C., SUN C.R.Y., LIU R.S. et al.: Monoclonal anti-idiotypic antibody mimicking the principal neutralization site in HIV-1 gp 120 induces HIV-1 neutralizing antibodies in rabbits. *J Immunol*, 1990; 145: 2199-2206.
20. MACHADO CAETANO J.A. e PROENÇA R.: Utilização de imunoglobulina intravenosa com elevado título de anticorpos neutralizantes anti-HIV-1 num caso de SIDA. Avaliação clínico-laboratorial durante 6 meses. (manuscrito em preparação).
21. NORLEY S.G., MIKSCHY U., WERNER A. et al.: Demonstration of cross-reactive antibodies able to elicit lysis of both HIV-1 — and HIV-2 — infected cells., *J Immunol*, 1990; 145: 1700-1705.
22. SOLINGER A.M., ADAMS L.E., FRIEDMAN-KIEN A.E. et al.: Acquired immune deficiency syndrome (AIDS) and autoimmunity-mutually exclusive entities? *J Clin Immunol*, 1988; 8: 32-42.
22. MACLEAN C., FLEGG P.J. and KILPATRICK D.C.: Anti-cardiolipin antibodies and HIV infection. *Clin Exp Immunol*, 1990; 81: 263-266.
24. ABREU I., BARROS M.F., MACHADO CAETANO J.A., et al.: Autoantibodies profile in HIV infection. (manuscrito em preparação).
25. DE ROSSI A., RONCELLA S., CALABRO M.L. et al.: Infection of Epstein-Barr virus-transformed lymphoblastoid B cells by the human immunodeficiency virus: evidence for a persistent and productive infection leading to B cells phenotypic changes. *Eur J Immunol*, 1990; 20: 2041-2049.
26. UCCINI S., MONARDO F., STOPPACCIARO A., et al.: High frequency of Epstein-Barr virus genome detection in Hodgkin's disease of HIV-positive patients. *Int J Cancer*, 1990; 46: 581-585.
27. ALLOUCHE M., LUNARDI-ISKANDAR Y., VARELLA-MILLOT C., et al.: Effect of phorbol myristate acetate on T cell colony formation, interleukin-2 (IL-2) receptor expression and IL-2 productin by cells from patients at all stages of HIV infection. *Clin. Exp. Immunol.*, 1990; 81: 200-206.
28. STANLEY S.K., BRESSLER P.B., POLI G., et al.: Heat shock induction of HIV production from chronically infected promonocytic and T cell lines. *J Immunol*, 1990; 145: 1120-1126.
29. YAMATO K., EL-HAJJAOUI Z., SIMON K. et al.: Modulation of interleukin-1 β RNA in monocytic cells infected with human immunodeficiency virus-1. *J Clin Invest*, 1990; 86: 1109-1114.
30. HAZAN U., THOMAS D., ALCAMI J., et al.: Stimulation of a human T-cell clone with anti-CD3 or tumor necrosis factor induces NF-kB translocation but not human immunodeficiency virus 1 enhancer-dependent transcription. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1990; 87: 7861-7865.
31. BIRX D.L., REDFIELD R.R., TENCER K., et al.: Induction of interleukin-6 during human immunodeficiency virus infection. *Blood*, 1990; 76: 2303-2310.
32. KEROW J., WACHSMAN W., MCCUTCHAN J.A. et al.: Transforming growth factor β and noncytopathic mechanisms of immunodeficiency in human immunodeficiency virus infection. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1990; 87: 8321-8325.
33. CALLAHAN K.M., FORT M.M. OBAH E.A. et al.: Genetic variability in HIV-1 gp 120 affects interactions with HLA molecules and T cell receptor. *J Immunol*, 1990; 144: 3341-3346.
34. BARROS M.F.,CORREIA M., MACHADO CAETANO J.A. e AYRES L.: Imunogenetica HLA e SIDA. Trabalho cooperativo do EC. Working Party on AIDS Research. (Em preparação).

Pedido de Separatas
 J.A. Machado Caetano
 Departamento de Imunologia
 Faculdade de Ciências Médicas
 Campo Mártires da Pátria
 1100 Lisboa