



Universidade do Estado do Rio de Janeiro

Centro Biomédico

Faculdade de Ciências Médicas

Fernanda Mariz Pereira

Células mieloides supressoras e monócitos na resposta à vacina contra o meningococo C em crianças e adolescentes infectados pelo HIV-1

Rio de Janeiro

2020

Fernanda Mariz Pereira

**Células mieloides supressoras e monócitos na resposta à vacina contra o meningococo C
em crianças e adolescentes infectados pelo HIV-1**

Dissertação apresentada, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre, ao Programa de Pós-Graduação em Microbiologia, da Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Área de concentração: Microbiologia Médica Humana.

Orientadora: Prof.^a Dra. Wânia Ferraz Pereira Manfro

Rio de Janeiro

2020

CATALOGAÇÃO NA FONTE
UERJ/REDE SIRIUS/CBA

P436 Pereira, Fernanda Mariz.
Células mieloides supressoras e monócitos na resposta à vacina contra o meningococo C em crianças e adolescente infectados pelo HIV-1 / Fernanda Mariz Pereira. – 2020.

75 f.

Orientadora: Wânia Ferraz Pereira Manfro

Dissertação (Mestrado) – Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Faculdade de Ciências Médicas. Programa de Pós-graduação em Microbiologia.

1. HIV (Vírus) - Teses. 2. Células Mieloides. 3. Monócitos – Teses. 4. Vacinas Meningocócicas. 5. Terapia Antirretroviral de Alta Atividade. I. Manfro, Wânia Ferraz Pereira. II. Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Faculdade de Ciências Médicas. III. Título.

CDU 616.98

Bibliotecária: Angela da Silva Velho CRB7/4780

Autorizo, apenas para fins acadêmicos e científicos, a reprodução total ou parcial desta dissertação, desde que citada a fonte.

Assinatura

Data

Fernanda Mariz Pereira.

**Células mieloides supressoras e monócitos na resposta à vacina contra o meningococo C
em crianças e adolescentes infectados pelo HIV-1**

Dissertação apresentada, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre, ao Programa de Pós-Graduação em Microbiologia, da Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Área de concentração: Microbiologia Médica Humana.

Aprovada em 7 de agosto de 2020.

Orientadora: Prof.^a Dra. Wânia Ferraz Pereira Manfro
Faculdade de Ciências Médicas – UERJ

Banca Examinadora:

Prof.^a Dra. Alessandra Mattos Saliba
Faculdade de Ciências Médicas - UERJ

Prof.^a Dra. Landi Veivi Guillermo Costilla
Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro

Prof.^a Dra. Silvia Amaral Gonçalves da Silva
Faculdade de Ciências Médicas - UERJ

Rio de Janeiro

2020

AGRADECIMENTOS

São muitas as batalhas a serem vencidas na vida, portanto começo agradecendo aos meus pais por todo cuidado comigo. Ao meu pai, por toda forma de educação e apoio oferecidos na construção da minha formação, e à minha mãe pelos anos iniciais de preocupação e dedicação. Sem esse suporte não seria quem sou hoje.

Agradeço de forma especial à minha orientadora Prof.^a Dra. Wânia Ferraz Pereira Manfro, pela sua enorme paciência com minhas perguntas, sua compreensão com as minhas dificuldades de liberação do trabalho no Hospital, e pela confiança depositada em mim, sabendo que seria um desafio orientar alguém tão “crua” em Imunologia.

Em particular agradeço à secretária Carla Freitas por todo seu suporte administrativo sem o qual não poderia concluir nada, mas especialmente por ter sido a intersecção com a Prof^a Wânia em um momento delicado e sensível para todos no departamento, sem esta ponte eu não teria chegado até aqui.

Agradeço aos amigos que mesmo à distância torceram e me apoiaram nas dificuldades, especialmente Aline C. Silva, Angelica Vonk e Gina Macedo, entre outros, que em incontáveis momentos me incentivaram a continuar quando pensei em desistir.

Não poderia deixar de agradecer à aluna e amiga Vanilda Gonçalves, da qual fui “sombra”, sempre grudada, enquanto ela me ajudava nos experimentos iniciais na Microbiologia, a pedido do Prof^o Raphael. Obrigada pelo seu apoio.

E, acima de tudo, agradeço ao meu Pai, por me guiar até aqui e me permitir desfrutar de cada uma das oportunidades de aprender sempre mais a cada dia.

It's your road, and yours alone, others may walk it with you, but no one can walk it for you.

Jalāl ad-Dīn Muhammad Rūmī

RESUMO

PEREIRA, Fernanda Mariz. **Células mieloides supressoras e monócitos na resposta à vacina contra o meningococo C em crianças e adolescente infectados pelo HIV-1.** 2020. 75 f. Dissertação (Mestrado em Microbiologia) – Faculdade de Ciências Médicas, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2020.

A doença meningocócica pela *Neisseria meningitidis* sorogrupo C é responsável por surtos no Brasil, e estudos indicam que sua incidência é maior entre crianças e adolescentes portadores do vírus HIV. A proteção induzida pela vacina conjugada contra MenC permanece mais baixa nesta população do que em indivíduos HIV-. Apesar da efetiva supressão viral com a Terapia antirretroviral (TARV), persiste um estado de inflamação crônica e evidências de ativação de células T. Embora esteja estabelecido que a resposta imune ao meningococo se efetive através da produção de anticorpos bactericidas, existem poucos estudos sobre a influência de células da imunidade inata na resposta vacinal nestes indivíduos. Células mielóides supressoras (MDSC) constituem um grupo heterogêneo de células cuja frequência tem sido correlacionada com aumento da carga viral e redução na contagem de LT CD4 em pacientes HIV+. O objetivo deste estudo foi caracterizar as populações de MDSC e monócitos em crianças e adolescentes (6 a 17 anos) infectados ou não com o HIV-1 e imunizados com a vacina conjugada MenC-CRM₁₉₇. Foram obtidas amostras de sangue antes (V1) e após a primeira dose da vacina (V2), e, antes (V3) e após (V4) segunda dose. O intervalo entre as doses foi de onze meses, e o intervalo entre V1 e V2, e V3 e V4, foi de dois meses. Células mononucleares de sangue periférico (PBMC) foram obtidas para a caracterização das MDSC's e monócitos por citometria de fluxo e após foram correlacionadas com a carga viral e com os títulos de anticorpos bactericidas (SBA) induzidos pela vacina. Foram observadas duas subpopulações distintas de MDSC, CD33^{hi}CD11b⁺ e CD33^{low}CD11b⁺, e três subpopulações de monócitos; monócitos clássicos CD14⁺CD16⁻ (MC), monócitos intermediários CD14⁺CD16⁺ (MI) e monócitos não clássicos CD14^{int}CD16⁺ (NC). Após a segunda dose (V4) foi observado uma frequência (12,8%) significativamente maior (P=0,038) da população CD33^{low}CD11b⁺ entre os pacientes sem TARV comparados àqueles em tratamento (4,7%). Houve uma correlação inversa e significativa entre a carga viral e a frequência da razão obtida entre LT CD4 e MDSC CD33^{low}CD11b⁺ antes (r=-0,65, P=0,048) e após a 1ª dose da vacina (r=-0,68, P=0,038). Foi observado uma menor frequência de monócitos clássicos ativados (CD163⁺) em V4 (5%) quando comparado a V1 (15,9%) e V2 (12,7%) (P=0,010 e P=0,0047, respectivamente). A mesma tendência foi observada para os monócitos intermediários ativados. Observou-se correlações inversas e significativas entre a frequência dos monócitos clássicos de V2 com a carga viral basal em V1 (r=-0,65, P=0,048) e em V2 (r=-0,66, P=0,043). A frequência de monócitos clássicos ativados (CD163⁺) detectada em V2 também exibiu correlação inversa e significativa com a carga viral tanto de V1 (r=-0,84, P=0,018) quanto de V2 (r=-0,79, P=0,036). Foram observadas correlações negativas entre a frequência de MDSC CD33^{low}CD11b⁺ antes da dose reforço (V3) e a frequência de monócitos clássicos e intermediários ativados após a dose reforço da vacina (V4) (r= -0,071, P=0,057 e r=-0,83, P=0,015, respectivamente). A frequência de monócitos não clássicos (CD14^{int}CD16⁺) apresentou correlação inversa e significativa com os títulos de SBA obtidos após a 1ª dose da vacina (r=-0,70, P=0,022). Estes resultados apontam que o aumento na frequência das MDSC pode estar contribuindo na redução da ativação de monócitos e para uma possível associação com a melhora da resposta vacinal.

Palavras-chave: HIV. MDSC. Monócitos. Monócitos ativados. Vacina meningocócica conjugada. Pacientes sob TARV ou não.

ABSTRACT

PEREIRA, Fernanda Mariz. **Myeloid derived suppressor cells and monocytes in response to meningococcal C vaccine in HIV-1 infected children and adolescents.** 2020. 75 f.

Dissertação (Mestrado em Microbiologia) – Faculdade de Ciências Médicas, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2020.

Meningococcal disease caused by *Neisseria meningitidis* serogroup C is responsible for outbreaks in Brazil, and studies indicate that its incidence is higher among children and adolescents with HIV. Protection induced by conjugated vaccine against MenC remains lower in this population than in HIV- individuals. Despite effective viral suppression with antiretroviral therapy (ART), a state of chronic immune activation and evidence of T-cell activation persists. Although it is established that the immune response to meningococcus is effective through the production of bactericidal antibodies, there are few studies on the behavior of innate immune cells during the vaccination process in this group of individuals. Myeloid-Derived Suppressor Cells (MDSCs) are a heterogeneous group of cells whose frequency has been correlated with increased viral load and reduced CD4 LT count in HIV+ patients. The objective of this study was to characterize the populations of MDSC and monocytes in children and adolescents (6 to 17 years old) infected or not with HIV-1 and immunized with the MenC-CRM₁₉₇ conjugate vaccine. Blood samples were obtained before (V1) and after the first dose of the vaccine (V2), and before (V3) and after (V4) second dose. The interval between doses was eleven months, and the interval between V1 and V2, and V3 and V4, was two months. Peripheral blood mononuclear cells (PBMC) were obtained for the characterization of MDSC's and monocytes by flow cytometry and after were correlated with the viral load and vaccine-induced bactericidal antibody (SBA) titers. Two distinct MDSC subpopulations were observed, CD33^{hi}CD11b⁺ and CD33^{low}CD11b⁺, and three subpopulations of monocytes; classical monocytes CD14⁺CD16⁻, intermediate monocytes CD14⁺CD16⁺, and non-classical monocytes CD14^{int}CD16⁺. After the second dose (V4), we observed a significantly higher frequency (12.8%) (P = 0.038) of the CD33^{low}CD11b⁺ population among patients without ART compared to those under treatment (4.7%). There was an inverse and significant correlation between viral load and the frequency of the ratio obtained between CD4 T cells and MDSC CD33^{low}CD11b⁺ before (r=-0.65, P=0.048) and after the first dose of the vaccine (r=-0.68, P=0.038). A lower frequency of activated classical monocytes (CD163⁺) was observed in V4 (5%) when compared to V1 (15.9%) and V2 (12.7%) (P=0.010 and P=0.0047, respectively). The same trend was observed for the activated intermediate monocytes. Inverse and significant correlations were observed between the frequency of classic monocytes at V2 with baseline viral load at V1 (r=-0.65, P=0.048) and V2 (r=-0.66, P=0.043). The classic CD163⁺ monocytes after the 1st dose of the vaccine also exhibited an inverse and significant correlation with the viral load of both before (r= -0.84, P= 0.018) and after the 1st dose of the vaccine (r=-0.79, P=0.036). Negative correlations were observed between the frequency of MDSC CD33^{low}CD11b⁺ at V3 and the frequency of activated classic and intermediate monocytes after the booster dose of the vaccine (V4) (r=-0.071, P=0.057 and r=-0.83, P=0.015, respectively). The frequency of non-classical monocytes (CD14^{int}CD16⁺) showed an inverse and significant correlation with the SBA titers obtained after the 1st dose of the vaccine (r=-0.70, P=0.022). These results indicate that the increase in MDSC frequency may be contributing to reduce monocyte activation and a possible association with improvement in the vaccine response.

Keywords: HIV. MDSC. Monocytes. Monocytes activated. Conjugated meningococcal vaccine. Patients on ART or not.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Tabela 1 – Características da População de Estudo.....	38
Figura 1 – Estratégia de análise das subpopulações de células mieloides supressoras (MDSC) e monócitos, por citometria de fluxo.....	42
Figura 2 – Avaliação da frequência de MDSC antes e após a vacinação contra meningococo C.....	44
Figura 3 – Correlação da frequência de células CD33 ^{low} CD11b ⁺ e da frequência da razão entre LTCD4 e MDSCS CD33 ^{low} CD11b ⁺ com a carga viral.....	46
Tabela 2 - Subpopulações de monócitos.....	47
Figura 4 – Avaliação da frequência de monócitos CD163 ⁺ entre as subpopulações de monócitos Clássicos, Intermediários e Não Clássicos antes e após vacinação.....	49
Figura 5 – Monócitos Clássicos e Monócitos Clássicos CD163 ⁺ correlacionam-se negativamente com a carga viral.....	50
Figura 6 – Células mieloides supressoras CD33 ^{low} CD11b ⁺ correlacionam-se negativamente com a frequência de monócitos ativados.....	51
Figura 7 – Monócitos Não Clássicos (CD14 ^{int} CD16 ⁺) correlacionam-se negativamente com os Títulos de Anticorpos Bactericidas (SBA) nos pacientes portadores do HIV.....	52

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AIDS	<i>Acquired Immunodeficiency Syndrome</i> (Síndrome da Imunodeficiência Adquirida)
APC-Cy7	<i>Alofocianina conjugada a cianina 7</i> (Fluorocromo composto)
ARG-1	<i>arginase-1</i>
CCR	<i>Chemokine receptor (Receptor de Quimiocinas)</i>
CCR5	<i>C-C chemokine receptor type 5 (Receptor de Quimiocina tipo 5)</i>
CD	<i>Cluster of differentiation</i>
CDC	<i>Centers for Disease Control and Prevention</i>
CO ²	<i>Dióxido de carbono</i>
COX-2	<i>Ciclooxigenase-2</i>
CRIE	<i>Centros de Referência para Imunobiológicos Especiais</i>
CRM ₁₉₇	<i>Proteína de Corynebacterium diphtheriae não toxigênica</i>
CSF	<i>Colony-stimulating factor (Fator estimulador de célula tronco)</i>
CV	<i>Carga viral</i>
CX3CR1	<i>Chemokine receptor 1</i>
CXCR-4	<i>C-X-C chemokine receptor type 4 (Receptor de Quimiocina CXC tipo 4)</i>
DAMP	<i>Damage associated molecular patterns (Padrões Moleculares Associados a Danos)</i>
DC	<i>Dendritic cell</i>
DMI	<i>Doença Meningococcica Invasiva</i>
DMSO	<i>Dimetilsulfóxido</i>
DNA	<i>Deoxyribonucleic Acid (Ácido Desoxirribunucleico)</i>
DST	<i>Doença Sexualmente Transmissível</i>
e-MDSC	<i>Early-stage Myeloid-Derived Suppressor Cells</i>
EUA	<i>Estados Unidos da América</i>
FACS	<i>Fluorescence Activated Cell Sorter</i>
FcR	<i>Fc Receptors</i>
FITC	<i>Isotiocianato de fluoresceína (Fluorocromo)</i>
FMO	<i>Fluorescence Minus One Control</i>
G-CSF	<i>Granulocyte colony-stimulating factor (Fator estimulador de colônias de granulócitos)</i>

GM-CSF	<i>Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (Fator estimulante de colônia granulócito/macrófago)</i>
	<i>Granulocytic-Myeloid-Derived Suppressor Cells</i>
G-MDSCs	<i>Glicoproteína 120</i>
Gp120	<i>Highly active anti-retroviral therapy (Terapia antirretroviral altamente ativa)</i>
HAART	<i>Hepatitis B Virus (Virus da Hepatite B)</i>
HBV	<i>Hepatitis C Virus (Virus da Hepatite C)</i>
HCV	<i>Haemophilus influenzae tipo B</i>
Hib	<i>Human Immunodeficiency Virus (Vírus da Imunodeficiência Humana)</i>
HIV	<i>Indivíduo infectado com HIV</i>
HIV ⁺	<i>Indivíduo não infectado com HIV</i>
HIV ⁻	<i>Human Leukocyte Antigen</i>
HLA	<i>Peroxido de hidrogênio</i>
H ₂ O ₂	<i>Heme-oxigenase 1</i>
HO-1	<i>Indoleamina 2,3-dioxigenase</i>
IDO	<i>Interferon gama</i>
IFN- γ	<i>Imunoglobulina G</i>
IgG	<i>Imunoglobulina M</i>
IgM	<i>Interleukins</i>
ILs	<i>óxido nítrico sintase induzível</i>
iNOS	<i>Instituto de Puericultura e Pediatria Martagão Gesteira</i>
IPPMG	<i>Janus kinase (Família de proteínas janus Kinase)</i>
JAK	<i>Lipopolissacarídeo</i>
LPS	<i>Linfócito T</i>
LT	<i>Anticorpos monoclonais</i>
mAbs	<i>Monocyte chemoattractant protein-1</i>
MCP-1	<i>Macrophage Colony Stimulating Factor (Fator estimulador de colônia de Macrófago)</i>
M-CSF	<i>Vacina conjugada quadrivalente para o Meningococco</i>
MCV4	<i>Myeloid-Derived Suppressor Cells (Células mieloides supressoras)</i>
MDSC	<i>Neisseria meningitidis sorogrupo A</i>
MenA	<i>Neisseria meningitidis sorogrupo B</i>

MenB	<i>Neisseria meningitidis</i> sorogrupo C
MenC	<i>Neisseria meningitidis</i> sorogrupo W
MenW	<i>Neisseria meningitidis</i> sorogrupo Y
MenY	Vacina conjugada quadrivalente / Meningococco sorogrupos A,C,W e Y
MenACWY	Major Histocompatibility Complex (Complexo Principal de
MHC-1	Histocompatibilidade de classe I) Monocytic-Myeloid-Derived Suppressor Cells
M-MDSC	Myeloid Regulatory Cells (Células Regulatórias Mieloides)
MRCs	MessengerRNA (RNA mensageiro)
mRNA	Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate
NADPH	Natural Killer
NK	<i>Neisseria meningitidis</i>
Nm	Non-Nucleoside Reverse Transcriptase Inhibitors (Inibidor de
NNRTI	Transcriptase Reversa Não-Nucleosídeo) óxido nítrico
NO	óxido nítrico sintase 2
NOS2	Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate oxidase 2
NOX2	Transcriptase Inhibitors (Nucleosídeo Inibidor de Transcriptase Reversa)
NRTI	Ânion superóxido
O ₂ ⁻	Organização Mundial de Saúde
OMS	Radical livre de peroxinitrito
ONOO-	Pathogen-associated molecular pattern (Padrões moleculares associados a
PAMP	patógenos) Peripheral Blood Mononuclear Cells (Células Mononucleares do sangue
PBMC	periférico) <i>Pneumocystis pneumonia</i>
PCP	Polymerase Chain Reaction (Reação em Cadeia da Polimerase)
PCR	Programmed death-ligand 1
PD-L1	Ficoeritrina (Fluorocromo)
PE	Complexo peridina-clorofil-proteína (Fluorocromo)
Per-CP	Prostaglandina-E2
PGE2	Protease Inhibitors (Inibidor de Protease)
PI	Polymorphonuclear Myeloid-Derived Suppressor Cells

PMN-MDSC	<i>Programa Nacional de DST</i>
PN-DST	<i>Programa Nacional de Imunização</i>
PNI	<i>Pattern Recognition Receptors (Receptores de Reconhecimento de</i>
PRRs	<i>Padrões)</i> <i>Ribonucleic acid (Ácido Ribonucleico)</i>
RNA	<i>Espécies reativas de oxigênio</i>
ROS	<i>Serum Bactericidal Assay (Ensaio de Anticorpos Bactericidas do Soro)</i>
SBA	<i>Soro Fetal Bovino</i>
SFB	<i>Sistema de Informações sobre Mortalidade</i>
SIM	<i>Sistema de Informação de Agravos de Notificação</i>
SINAN	<i>Sistema nervoso central</i>
SNC	<i>Signal transducer and activator of transcription 3 (Sinal transdutor e</i>
STAT3	<i>ativador de transcrição 3)</i> <i>Glicoproteína de Superfície 120</i>
SU gp120	<i>Terapia Antiretroviral</i>
TARV	<i>T-cell receptor</i>
TCR	<i>Transforming growth factor (Fator de transformação de Crescimento)</i>
TGF- β	<i>Toll-Like Receptor (Receptor do tipo Toll)</i>
TLR	<i>Glicoproteína Transmembrana 41</i>
TM gp41	<i>Tumor necrosis factors (Fator de necrose tumoral-α)</i>
TNF- α	<i>Linfócito T Helper 2</i>
Th2	<i>Linfócito T Regulador</i>
Treg	<i>Triggering Receptor Expressed on Myeloids Cells 1</i>
TREM-1	<i>Universidade Federal do Rio de Janeiro</i>
UFRJ	<i>Vancomicina/Sulfonado Metano Colistina/Trimetoprim/Nistatina</i>
VCNT	<i>Vascular endothelial growth factor (Fator de crescimento endotelial</i>
VEGF	<i>vascular)</i>

SUMÁRIO

	INTRODUÇÃO	14
1	OBJETIVOS	36
1.1	Geral	36
1.2	Específicos	36
2	MATERIAL E MÉTODOS	37
2.1	Populações de estudo	37
2.1.1	<u>Pacientes HIV+</u>	37
2.1.2	<u>Pacientes HIV- (grupo controle)</u>	37
2.2	Vacina anti-MenC-CRM₁₉₇	38
2.3	Obtenção de células mononucleares de sangue periférico (PBMC)	39
2.4	Imunofenotipagem	39
2.5	Ensaio bactericida	40
2.6	Análises estatísticas	40
3	RESULTADOS	41
3.1	Estratégia de análise por citometria de fluxo	41
3.2	Frequência das subpopulações de MDSC nos pacientes e controles nos diferentes tempos vacinais	42
3.3	Associação entre carga viral e frequência de células CD33^{low}CD11b⁺	44
3.4	Frequência das subpopulações de monócitos nos pacientes e controles nos diferentes tempos vacinais	47
3.5	Frequência de monócitos ativados entre as subpopulações de monócitos	47
3.6	Os Monócitos Clássicos e Monócitos Clássicos ativados correlacionam-se negativamente com a carga viral	50
3.7	Monócitos Clássicos e Monócitos Intermediários ativados correlacionam-se negativamente com as MDSC CD33^{low}CD11b⁺	51
3.8	Os monócitos Não Clássicos (CD14^{int}CD16⁺) correlacionam se negativamente com os Títulos de Anticorpos Bactericidas (SBA) nos pacientes portadores do HIV	51
4	DISCUSSÃO	53
	CONCLUSÕES	57

REFERÊNCIAS.....	58
ANEXO A - Documento de aprovação do estudo pelo IPPMG/UFRJ.....	70
ANEXO B - Termo de consentimento livre e esclarecido.....	71
ANEXO C - Critérios de inclusão e exclusão para os pacientes HIV+.....	74

INTRODUÇÃO

Segundo dados da Organização Mundial de Saúde (OMS), até o final de 2018 aproximadamente 37,9 milhões de pessoas estavam infectadas com o vírus da imunodeficiência humana (Human Immunodeficiency Virus, HIV), causador da Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (Acquired Immunodeficiency Syndrome, AIDS) (WHO, 2017a).

Apesar de uma resposta imunológica inicial efetiva após a infecção pelo HIV, ocorre uma disfunção do sistema imune caracterizada pelo declínio e perda de função das células T CD4+ levando à progressão da doença (DHHS, 2020a; DROSS et al., 2017). Mesmo após atingida a supressão viral e restabelecido níveis normais de células T CD4+ pelo uso da terapia antiretroviral (TARV), a doença cursa com um persistente estado de ativação e inflamação do sistema imune, fazem com que a AIDS permaneça como um grande problema de saúde pública (GEORGE et al., 2018)

TRANSMISSÃO VERTICAL DO HIV

Mulheres grávidas portadoras do HIV possuem alto risco de transmitir o vírus para suas crianças durante a gravidez, durante o trabalho de parto e no parto, e ainda no pós-parto através da amamentação, constituindo a transmissão vertical ou materno-infantil.

A maioria das crianças são infectadas no período do nascimento. Muitas delas adquirem o HIV e ficam doentes porque suas mães não foram adequadamente identificadas e tratadas durante o pré-natal e no parto. Algumas mães, cujas crianças nascem infectadas, podem ser assintomáticas no momento do parto, ou mesmo desconhecem seu status de HIV+. Sem qualquer intervenção, entre 15 a 30% das crianças nascidas de mães HIV positivas se tornarão infectadas com HIV durante a gestação, no trabalho de parto e/ou no parto, e outras 5 a 15% se tornarão infectadas através da amamentação (WHO, 2017a; WHO, 2007).

RECOMENDAÇÃO DE TRATAMENTO HIV/AIDS NO BRASIL

A OMS atualiza seus guidelines de Recomendações de Tratamento a cada 2 ou 3 anos, ampliando a abrangência e incluindo novas recomendações. Para a avaliação da severidade da doença, a OMS considera a divisão em estágios clínicos com base em sinais e sintomas clínicos característicos de doenças definidoras de cada fase da infecção pelo HIV, indo do estágio 1 com sintomas leves, chegando ao estágio 4 caracterizado pela AIDS com sintomas severos. Os

pacientes se enquadram em um determinado estágio quando apresentam pelo menos um dos critérios definidos para cada estágio (WHO,2010; WHO, 2017b).

A OMS também designa a classificação de doença avançada, que é definida como contagem de células CD4 menor que 200 células/ μ l em crianças maiores que 5 anos, adolescentes e adultos, ou estágio 3 ou 4 da doença. Além disso, todas as crianças menores de 5 anos infectadas por HIV, independente da contagem de células CD4, são consideradas portadoras de doença avançada (WEINBERG; KOVARIK, 2010; WHO, 2017b).

A consideração de que todas as crianças menores que 5 anos infectadas por HIV estejam com doença avançada se deve ao reconhecimento de que a maioria destas crianças se apresenta com imunossupressão avançada e sob alto risco de progressão da doença e mortalidade quando buscam atendimento nos serviços de saúde (WHO, 2017a).

A progressão da doença na infecção pelo HIV ocorre de forma mais rápida em crianças que em adultos, e os parâmetros laboratoriais de CD4 e carga viral são menos sensíveis para prever o risco de progressão, especialmente em menores de 12 meses de idade. Duas razões que podem explicar isso são, a alta viremia plasmática por volta dos 2 meses de idade, podendo atingir valores superiores a 1.000.000 cópias/ mm^3 , com taxas de declínio mais lentas do que as apresentadas em adultos, sendo difícil definir limites precisos para a progressão da doença (MS, 2009). A segunda razão seria o fato de que as crianças menores de 5 anos apresentarem variações na contagem absoluta de células CD4 dependentes da faixa etária, sendo por isso preferível a utilização das variações na contagem percentual como parâmetro mais estável para avaliar a progressão da doença. Devido a essas variações dependentes de faixa etária se torna difícil a implementação de uma definição única de imunossupressão avançada, dificultando por sua vez, a implementação de medidas que sejam adotadas por todos de modo eficaz, tal como a elegibilidade para TARV (MS, 2014 FORD et al., 2018).

A terapia antirretroviral altamente ativa (Highly active anti-retroviral therapy, HAART) permanece como a melhor estratégia para se alcançar supressão da replicação viral, restaurar o sistema imune, retardar a progressão da doença e aumentar a sobrevida. Emprega três antirretrovirais com duas classes de fármacos diferentes, incluindo a prescrição de um nucleosídeo inibidor de transcriptase reversa (nucleotide reverse transcriptase inhibitors, NRTI), um inibidor de transcriptase reversa não-nucleosídeo (non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors, NNRTI) e um inibidor de protease (protease inhibitors, PI). A combinação de fármacos suprime a probabilidade de crescimento de cepas resistentes de HIV-1 que frequentemente aparece em tratamentos com monoterapia (ENGELMAN; CHEREPANOV, 2012 ; SIBERRY, 2014).

A importância da TARV para estes pacientes, e em especial para as crianças, não reside somente na redução de risco de infecções oportunistas, mas abrange também o aumento da resposta elicitada por imunizações, pois a ausência de uma efetiva TARV pode prejudicar a formação da resposta imunológica de memória reduzindo a qualidade ou a duração da resposta. (BERTOLINI et al., 2012; SIBERRY, 2014; SIBERRY et al., 2013).

EPIDEMIOLOGIA DO HIV NO BRASIL

No Brasil, a AIDS é uma doença de notificação compulsória desde a década de 1980, e a Infecção pelo HIV em Gestantes, Parturientes ou Puérperas e Crianças expostas ao risco de transmissão vertical do HIV, passou a ser de notificação compulsória a partir de 4 de setembro de 2000. E em 6 de junho de 2014 foi incluído a infecção pelo HIV na Lista de Notificação Compulsória (MS, 2017).

Todos os casos suspeitos ou confirmados são registrados no Sistema de Informação de Agravos de Notificação (Sinan) e os óbitos declarados no Sistema de Informações sobre Mortalidade (SIM). As tendências de HIV/AIDS são monitoradas também com informações do Sistema de Controle de Exames Laboratoriais da Rede Nacional de Contagem de Linfócitos CD4+/CD8+ e Carga Viral do HIV (Siscel) e do Sistema de Controle Logístico de Medicamentos. De 2007 até junho de 2019, foram notificados no Sinan 300.496 casos de infecção pelo HIV no Brasil, com predomínio dos casos na região sudeste que contabilizou 136.902 dos casos, distribuídos em sua maioria em uma faixa etária compreendida entre os 20 e 34 anos. Em relação à distribuição por sexo, foram 207.276 (69,0%) casos em homens e 93.220 (31,0%) em mulheres. Importante ressaltar que a notificação compulsória da infecção pelo HIV se deu a partir de 2014, dificultando uma análise epidemiológica mais rigorosa com relação às tendências da infecção no Brasil, considerando o período analisado. Em relação às gestantes, no período de 2000 até junho de 2019 foram notificadas no Sinan 125.144 gestantes infectadas com HIV, também com predomínio da maioria delas na região sudeste (38,1%) e distribuídas em sua maioria em uma faixa etária entre 20 e 24 anos (27,8%). Quanto à escolaridade, a maioria delas tinha entre a 5ª à 8ª série incompleta, representando 28,9%. (MS, 2019b).

Houve um aumento de 38,1% na taxa de detecção de HIV em gestantes em um período de dez anos, com uma taxa de 2,1 casos/mil nascidos vivos em 2008, para 2,9/mil nascidos vivos em 2018, sendo as regiões Norte e Nordeste as que apresentaram maiores incrementos na taxa, de 87,5% e 118,1% respectivamente. Esse aumento poderia ser explicado, em parte, pela

ampliação do diagnóstico no pré-natal e a consequente prevenção da transmissão vertical do HIV (MS, 2019b).

Em relação aos casos de aids, foram identificados 966.058 casos no período entre 1980 a junho de 2019, com concentração nas regiões Sudeste e Sul, correspondendo cada qual a 51,3% e 19,9% do total de casos. Desse total, 756.586 casos foram registrados no período entre o ano 2000 e junho de 2019, sendo que, somente 534.114 (70,6%) foram notificados no Sinan. Entre os casos não notificados, 57.402 (7,6%) foram encontrados no SIM e 165.070 (21,8%) no Siscel/Siclom, sendo a soma destes a representação de subnotificações no Sinan (MS, 2019b).

CARACTERÍSTICAS DO HIV E SUA REPLICAÇÃO

O HIV é um retrovírus que pertence à família Retroviridae, do gênero Lentivirinae e é conhecido por infectar importantes células do sistema imune como células T CD4+, macrófagos e células dendríticas. Ele infecta células principalmente através do antígeno de superfície CD4+, e além desse receptor, os co-receptores de citocinas da família de receptores de quimiocinas (Chemokine receptor, CCR), CCR5 e/ou CXCR4, são os principais receptores para o HIV, fazendo das células com estes marcadores alvos primários para infecção (DOUEK; PICKER; KOUP, 2003; STUMPTNER-CUVELETTE et al., 2001).

Existem dois tipos de vírus da AIDS, o HIV-1 e o HIV-2, diferenciados pela organização do genoma e relações filogenéticas com outros lentivírus de primatas. A análise filogenética de sequências nucleotídicas dos vírus permite a realização da classificação. O HIV-1 é subdividido em 4 grupos: grupo M (majoritário), grupo N (novo, ou não-M, e não-O), grupo O (do inglês, outlier), e ainda o grupo P. A maioria das infecções ocorre pelo grupo M do HIV-1 o qual é diferenciado em nove subtipos (A, B, C, D, F, G, H, J e K). Os subtipos A e F, por sua vez, são subdivididos em A1, A2, A3, A4 e A5, e em F1 e F2, respectivamente (MS, 2013). No Brasil ocorre predomínio do grupo M e dos subtipos B e C (ARRUDA et al., 2018)

O genoma do HIV apresenta três genes estruturais principais; Gag (grupo-antigênico), Pol (polimerase) e Env (responsável pelas glicoproteínas de superfície viral), comuns a todos os retrovírus. Outros genes embora não sejam parte da estrutura viral, codificam produtos com função reguladora da replicação viral, como os dois genes relacionados com a transcrição e exportação de proteínas regulatórias, Tat e Rev, e quatro genes acessórios Nef, Vif, Vpr e Vpu (DULL et al., 1998; E et al., 2010; REN et al., 2014).

O gene Gag codifica quatro polipeptídeos precursores das proteínas do capsídeo:

MA/p17 (matriz), CA/p24 (capsídeo), NC/p7 (nucleocapsídeo) e p6. O gene Env codifica a proteína gp160, que é clivada para formar a proteína de superfície gp120 (SU gp120) e a proteína transmembrana gp41(TM gp41), envolvidas na ligação aos receptores do HIV e fusão nas células do hospedeiro (BALASUBRAMANIAM; PANDHARE; DASH, 2019; ENGELMAN; CHEREPANOV, 2012). O gene Pol codifica três polipeptídeos precursores que posteriormente adquirem atividade enzimática; transcriptase reversa (RT), responsável pela transcrição do RNA viral em DNA fita dupla; integrase (IN) a qual media a integração do DNA viral no genoma das células do hospedeiro, e protease (PR), que após um auto-processamento processa RT e IN em enzimas funcionais (REN et al., 2014).

A replicação do vírus tem início com a adesão da proteína gp120 do HIV ao receptor primário CD4, que induz uma mudança conformacional na proteína, permitindo a exposição de um novo domínio proteico que permite a ligação a um co-receptor, CCR5 ou CXCR4. Na sequência, ocorre a fusão do vírus na membrana da célula alvo (LLORENTE-GARCÍA; MARSH, 2019; REN et al., 2014).

O processo da transcrição reversa ocorre no interior do capsídeo, no citoplasma da célula, e após, ocorre a passagem do capsídeo pelos poros do núcleo celular. Uma vez dentro do núcleo, o DNA viral é integrado ao genoma da célula hospedeira com auxílio da enzima IN, passando a ser chamado provirus, que pode permanecer latente ou ter vários outros genes transcritos (BALASUBRAMANIAM; PANDHARE; DASH, 2019).

O gene Tat (transativador) codifica uma proteína que ativa a transcrição de genes provirais do HIV, e o gene Rev codifica outra proteína que transporta o RNA mensageiro (mRNA) viral para a tradução no citoplasma. Os polipeptídeos MA, CA e NC, provenientes do gene Gag, encobrem duas cadeias de RNA da partícula viral em maturação e proporcionam ligação à membrana plasmática na superfície celular, coordenando o empacotamento desta partícula viral imatura. A membrana celular que envolve a partícula nascente é ligada a complexos das proteínas virais gp120 e gp41 derivadas da gp160. Essa partícula viral imatura e não infecciosa é liberada da célula pela ação do domínio p6 de Gag. Ao final do ciclo viral a enzima PR media a conversão das partículas imaturas em virions infecciosos por meio da proteólise dos polipeptídeos precursores provenientes de Gag e Pol para produzir os componentes estruturais definitivos MA, CA e NC, e as enzimas PR, RT e IN, respectivamente. Esta etapa ocorre juntamente, ou logo após o brotamento (BALASUBRAMANIAM; PANDHARE; DASH, 2019; ENGELMAN; CHEREPANOV, 2012; HULME et al., 2015; E et al., 2010; MS, 2013)

Diferentemente dos linfócitos T, onde ocorre brotamento na superfície celular e os vírus

são liberados no espaço extracelular, o processo de germinação em monócitos e macrófagos resulta no acúmulo de vírus nos vacúolos intracelulares, que são então liberados (E et al., 2010).

O gene Nef auxilia na amplificação da replicação viral pela evasão da imunidade adaptativa tornando a célula infectada menos suscetível a ser destruída pelo sistema imune do hospedeiro. Isto acontece pela diminuição da expressão na superfície celular de moléculas do Complexo Principal de Histocompatibilidade de classe I (Major Histocompatibility Complex, MHC-1), reduzindo a apresentação de antígenos nas células infectadas (JIA et al., 2012; RANK et al., 1995; REN et al., 2014).

FASES DA DOENÇA E DETECÇÃO DA INFECÇÃO:

O curso típico de uma infecção pelo HIV-1 ocorre através de quatro fases: eclipse, infecção aguda, infecção crônica e AIDS.

A fase de eclipse ocorre duas semanas após a transmissão do vírus e é marcada por replicação ativa do vírus no sítio de infecção e disseminação para tecidos susceptíveis mais distantes, sem viremia detectável, sintomas ou resposta imune. A primeira detecção do RNA viral no sangue marca o final da fase de eclipse (BALASUBRAMANIAM; PANDHARE; DASH, 2019)

A fase aguda ocorre entre 2 a 4 semanas e é marcada por alta viremia evidenciada pelos altos níveis de cópias do RNA viral no sangue, grandes *pools* de células T CD4+ infectadas no sangue e tecidos linfoides, e depleção aguda de células T CD4+. Respostas imunes humoral, através de anticorpos contra proteínas virais, e mediada por células, através de células T CD8+ citotóxicas contra células infectadas expressando antígenos virais, são iniciadas no pico da viremia. Após aproximadamente 7 dias a partir da detecção do RNA do vírus, começam a ser detectadas quantidades elevadas do antígeno p24. O resultante declínio no número de células de T CD4+ e da viremia, pela exaustão dos *pools* de células T CD4 disponíveis, marcam o fim da fase aguda (MERINO et al., 2017; PAREKH et al., 2019; DHHS, 2020a; BALASUBRAMANIAM; PANDHARE; DASH, 2019).

O fim da fase aguda e transição para a fase crônica da doença é caracterizado por estabilização da carga viral no plasma no chamado “set point viral”, resultante do incompleto controle da replicação viral pela resposta imune adaptativa. Existe uma ativação imune crônica com estado inflamatório, que se não tratado com TARV, a doença avança para a quarta fase, que pode ocorrer em um período entre meses a 20 anos, levando em média 10 anos (MERINO et al., 2017; DHHS, 2020a; BALASUBRAMANIAM; PANDHARE; DASH, 2019)

A fase da AIDS representa a fase mais severa da infecção, podendo apresentar duração variável entre indivíduos tratados (entre 1 a 20 anos) e não-tratados (entre 1 a 3 anos). A contagem de células T CD4+ reduz, podendo chegar abaixo de 200 células/mm³ no sangue, e os indivíduos infectados se tornam susceptíveis a várias infecções oportunistas e cânceres como sarcoma de Kaposi. Essas infecções e cânceres associados com perda de células T CD4+ definem o estágio de AIDS. O desenvolvimento e aplicação de combinações de terapia antirretrovirais aumentou a sobrevivência pela supressão do vírus a níveis indetectáveis e restauração do número de células T CD4+ a níveis normais, prevenindo o desenvolvimento do estágio conhecido como AIDS (BALASUBRAMANIAM; PANDHARE; DASH, 2019; MERINO et al., 2017).

Para o diagnóstico de HIV, dois ou mais testes são combinados para aumentar o Valor preditivo positivo (VPP) de um teste inicialmente positivo. São reconhecidas três estratégias para diagnóstico laboratorial: detecção sorológica de anticorpos antivirais, determinação de antígenos virais, e isolamento do vírus. As amostras podem ser de soro, plasma, sangue total ou sangue seco em papel-filtro (dried blood spot, DBS) (MS, 2018; PASCOS et al., 2016)

Os testes imunoenzimáticos de quarta geração detectam os anticorpos IgG e IgM anti-HIV, e o antígeno p24 simultaneamente, sendo estes testes que detectam antígeno p24 utilizados como marcador em indivíduos com infecção recente antes da soroconversão, pois a positividade ocorre cerca de 5 a 10 dias antes do aparecimento dos primeiros anticorpos anti-HIV, reduzindo a janela imunológica (MS, 2010b)

Quanto aos testes de biologia molecular permitem a identificação do vírus, possibilitando o diagnóstico mais precoce do que os métodos de detecção de anticorpos produzidos pelo organismo, o que auxilia a definição do diagnóstico da infecção pelo HIV em gestantes. Estes testes de base molecular se baseiam na técnica de Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) que podem detectar tanto o DNA proviral intracelular do HIV resultante da transcrição do RNA do HIV pela transcriptase reversa viral, quanto o RNA do HIV sendo, portanto, muito sensíveis e considerados o pilar para a determinação da carga viral no plasma. Os níveis plasmáticos de RNA do HIV-1 constituem importante marcador de evolução da doença, e servem também como monitoramento da eficácia da terapia antirretroviral. São especialmente importantes para a detecção da infecção recente quando a viremia está presente, mas ainda não há anticorpos detectáveis, e para lactentes nascidos de mães infectadas, pois a presença de anticorpos maternos inviabiliza os testes sorológicos, uma vez que anticorpos IgG maternos atravessam a placenta, e podem persistir por até 18 meses de idade, sendo necessário a detecção virológica para identificação da criança infectada (MAZANDERANI; SHERMAN,

2019; PAREKH et al., 2019; SIBERRY, 2014)

PERSISTÊNCIA DO HIV: RESERVATÓRIOS

Apesar do avanço no tratamento com a terapia antirretroviral para aumento da sobrevida e sintomas clínicos, ela não elimina o vírus do organismo, que pode permanecer em reservatórios contribuindo para a sua disseminação. Um reservatório viral é definido como uma célula infectada que persiste mesmo com tratamento, podendo ser ativo ou latente. Um reservatório ativo continua a produzir vírus usando a maquinaria celular para transcrição e tradução molecular. Uma explicação para a formação do reservatório celular pode ser a resistência da célula à terapia antirretroviral, na qual a droga foi incapaz de penetrar através da membrana plasmática, ou, mesmo quando no meio intracelular foi ineficaz em inibir a enzimas transcriptase reversa ou integrase. Monócitos, macrófagos, células microgliais e células T CD4+ infectadas são importantes reservatórios celulares de longa duração do HIV (FANALES-BELASIO et al., 2010)

A infecção da célula T CD4 é seguida por replicação viral, liberação de virions e morte da célula T CD4, levando a progressiva perda de CD4 e falha no sistema imune. Porém, em uma pequena proporção de células T CD4, o HIV estabelece um reservatório estável após sua entrada, preservando o provirus do HIV, e como essas células T possuem característica de repouso e memória não ocorre expressão do provirus nem produção de proteínas virais, mantendo esses reservatórios invisíveis à resposta imune do hospedeiro mediada por linfócitos T citotóxicos, e também à TARV. Compostos químicos considerados agentes de reversão da latência, assim como a interrupção da TARV, podem estimular a transcrição e tradução do vírus dormente, quando então o RNA e proteínas virais serão produzidas (BALASUBRAMANIAM; PANDHARE; DASH, 2019)

CÉLULAS MIELOIDES E A RESPOSTA IMUNE

Células imunes inatas são as primeiras a interagir com patógenos no curso de uma infecção ou imunização desempenhando um importante papel como células apresentadoras de antígenos para as células T, e representam um mecanismo fundamental de proteção do hospedeiro (GEORGE et al., 2018).

A ativação de células mieloides ocorre em resposta a sinais de patógenos, através de moléculas conhecidas como padrões moleculares associados ao dano (DAMPs) e padrões

moleculares associados a patógenos (PAMPs), primariamente através da sua ligação à receptores de reconhecimento de padrão (PRRs), como o Toll-Like Receptor (TLR) expressos em fagócitos. Usualmente estes estímulos de ativação são relativamente fortes e de curta duração com o objetivo de eliminar a ameaça e resultam no recrutamento de células da linhagem mieloide, como neutrófilos e monócitos (VEGLIA; PEREGO; GABRILOVICH, 2018).

Citocinas tais como, fatores estimulantes de colônia granulócito/macrófago (GM-CSF), e estimulante de macrófago (M-CSF), controlam a mielopoiese em estado fisiológico, e em indivíduos saudáveis rapidamente as células se diferenciam em granulócitos maduros, macrófagos ou células dendríticas (Dendritic cell, DC), (GABRILOVICH; NAGARAJ; LEE, 2009).

Em contraste, em situações associadas com inflamação crônica não resolvida, como trauma, sepse, infecções e micro ambiente tumoral, ocorre uma indução persistente da mielopoiese através de sinais relativamente mais fracos, mas de longa duração, o que promove o acúmulo de células mieloides imaturas que não completam seu processo de diferenciação normal e não são capazes de desempenhar suas funções efetivamente como células mieloides maduras. Como resultado, existe uma expansão de subgrupos de células mielóides com atividade regulatória, conhecidas como células regulatórias mieloides (Myeloid Regulatory Cells, MRCs), e dentre estas estão as células mieloides supressoras (Myeloid-Derived Suppressor Cells, MDSCs) (DORHOI et al., 2019; GABRILOVICH; NAGARAJ; LEE, 2009; BRONTE et al., 2016).

A mielopoiese desregulada que ocorre durante infecções crônicas, leva à ativação contínua de progenitores, promovendo a geração de MDSC (DORHOI et al., 2019). Estes sinais contínuos disparam várias vias de sinalização diferentes nas MDSCs que envolvem principalmente o Sinal Transdutor e Ativador de Transcrição 3 (Signal transducer and activator of transcription 3, STAT3) da família de fatores de transcrição. STAT 3 regula a expansão das MDSCs pela estimulação da mielopoiese e inibe a diferenciação da célula mieloide, que fica impedida de completar a diferenciação em células maduras (GABRILOVICH, 2018; GABRILOVICH; NAGARAJ; LEE, 2010).

As MDSCs portanto, são resultantes de um processo de mielopoiese persistente. A diferença na expansão das MDSCs está na permanência do estímulo; enquanto a expansão que ocorre como resposta hematopoiética na inflamação possui uma mielopoiese regulada, em inflamação não resolvida ou persistente, o agente indutor permanece e o ciclo hematopoiético se torna desregulado pois quanto mais tempo o compartimento mieloide for exposto ao efeito desses fatores, mais potente a ativação patológica dessas MDSCs (VEGLIA; PEREGO;

GABRILOVICH, 2019)

Células mieloides geradas sob essas condições, apesar de similares a neutrófilos e monócitos, tem perfil genômico, bioquímico, e atividade funcional diferente. Portanto, monócitos e neutrófilos gerados sob estas condições têm um fenótipo e morfologia imaturos; capacidade fagocitária relativamente fraca; capacidade aumentada para produção de espécies reativas de oxigênio (ROS), óxido nítrico (NO), alta expressão de arginase, e várias citocinas anti-inflamatórias. Muitos destes perfis estão ausentes em neutrófilos e monócitos ativadas classicamente, podendo este estado de ativação ser considerado patológico, não levando à eliminação da ameaça ou ativação da imunidade, mas à inibição da imunidade adaptativa (supressão imune) (VEGLIA; PEREGO; GABRILOVICH, 2019).

A característica marcante das MDSC é a capacidade supressora de células T, e em menor grau células B e NK. (GABRILOVICH, 2017). Desta forma, em um estado de inflamação crônica, existe uma população heterogênea de células nos tecidos que incluem neutrófilos e monócitos, além de uma população de células mieloides imaturas, com efeito supressor numa variedade de células do sistema imune. (VEGLIA; PEREGO; GABRILOVICH, 2018; BRONTE et al., 2016) (GABRILOVICH; NAGARAJ; LEE, 2009).

EXPANSÃO E ATIVAÇÃO DAS MDSCs

Os sinais de recrutamento e ativação das MDSCs são divididos em dois grupos. O primeiro grupo de sinais inclui fatores que são produzidos pelo estroma da medula em resposta à infecção e inflamação crônica promovendo a expansão das MDSCs através da estimulação da mielopoiese. Dentre eles destacam-se a ciclooxygenase-2, prostaglandinas, fator estimulador de célula tronco (CSF), fator estimulador de colônia de granulócito (G-CSF), fator estimulador de colônia de macrófago (M-CSF), fatores estimulantes de colônia granulócito/macrófago (GM-CSF), fator de crescimento endotelial vascular (VEGF) e os ácidos graxos poliinsaturados (VEGLIA; PEREGO; GABRILOVICH, 2018).

A maioria destes fatores dispara vias de sinalização nas MDSCs que convergem nos membros da família de proteínas janus kinase (JAK) e sinal transdutor e ativador de transcrição 3 (STAT3), que são moléculas de sinalização envolvidas na sobrevivência, proliferação, diferenciação e ativação de genes anti-apoptose celular (GABRILOVICH, 2017; GABRILOVICH; NAGARAJ; LEE, 2009).

O segundo grupo de fatores é produzido principalmente pela ativação de células T, e são relacionados com a ativação patológica das MDSCs (GABRILOVICH, 2017;

GABRILOVICH; NAGARAJ; LEE, 2009; VEGLIA; PEREGO; GABRILOVICH, 2018). Entre estes fatores se incluem IL-1 β , IL-6, IFN- γ , TNF- α , IL-4, IL-13 e fator de crescimento transformador β (TGF- β), que ativam diferentes vias de sinalização nas MDSCs (GABRILOVICH; NAGARAJ; LEE, 2009; VEGLIA; PEREGO; GABRILOVICH, 2018).

CARACTERIZAÇÃO FENOTÍPICA DAS MDSCs

Como as MDSCs são heterogêneas nenhum sistema de marcadores específicos para MDSCs humanas foi identificado. Muitos concordam com a observação de que as MDSCs expressam CD11b e CD33 (marcadores mieloides), mas não apresentam marcadores de células mieloides maduras tais como CD40, CD80, CD83 e MHC classe II, a molécula HLA-DR. Além disso, podem ser divididas em dois grandes grupos de células com diferentes fenótipos: granulocíticas ou polimorfonuclear (G-MDSCs ou PMN-MDSC) e monocítica (M-MDSC) (BIZYMI et al., 2019; DORHOI et al., 2019; GABRILOVICH; NAGARAJ; LEE, 2009; GRETEN; MANNNS; KORANGY, 2011; TUMINO et al., 2017).

As MDSCs monocíticas (M-MDSCs) contém células CD14⁺ e as MDSCs granulocíticas (PMN-MDSCs) contém células CD15⁺, e ambos os grupos são HLA-DR^{-low} (BIZYMI et al., 2019; DIAZ-MONTERO et al., 2009; DROSS et al., 2017; GABRILOVICH; NAGARAJ; LEE, 2009; KUSMARTSEV et al., 2008; LEI et al., 2016; MANDRUZZATO et al., 2009; BRONTE et al., 2016).

Sendo assim, os marcadores imunofenotípicos para a identificação das MDSCs entre as células mononucleares do sangue periférico humano (Peripheral Blood Mononuclear Cells, PBMC), por citometria de fluxo, incluem CD11b, CD33, HLA-DR, CD14, e CD15 (BRONTE et al., 2016; BRUGER et al., 2018).

Uma terceira população de MDSCs foi reconhecida como um estágio mais inicial, que expressam os marcadores mielóide CD33 e CD11b, mas não expressam os marcadores da linhagem CD14 e CD15/CD66, além de não expressarem ou possuírem baixos níveis de HLA-DR. São conhecidas como Lin-HLA-DR-CD33⁺, onde Lin compreende CD3, CD14, CD15, CD19 e CD56. Essas células Lin⁻ contém grupos misturados de MDSC compreendendo progenitores mais imaturos, sendo o termo *early-stage* MDSC (e-MDSC) proposto para esta população (BIZYMI et al., 2019; GABRILOVICH, 2017; VEGLIA; PEREGO; GABRILOVICH, 2018; BRONTE et al., 2016).

Como as PMN-MDSC e os neutrófilos dividem um fenótipo similar, CD11b⁺CD14⁻CD15⁺ (ou CD66⁺), o método que permite a separação é a centrifugação em gradiente usando

densidade de 1.077g/ml, chamado gradiente Ficoll, que separa as populações de alta e de baixa densidade entre as PBMCs (BRUGER et al.,2018; BRONTE et al., 2016). As PMN-MDSC podem ser encontradas na fração de baixa densidade enquanto os neutrófilos podem ser isolados da fração de alta densidade (GABRILOVICH, 2017; VEGLIA; PEREGO; GABRILOVICH, 2018). Entretanto, para Bronte et al.,2016, as limitações são inevitáveis, podendo a fração de baixa densidade conter também alguns neutrófilos ativados, e da mesma forma, algumas PMN-MDSC podem passar através do gradiente e contaminar a fração de alta densidade dos neutrófilos (BRONTE et al., 2016).

Embora alguns autores considerem que as MDSC's são originadas por mielopoiese persistente, para outros autores, no entanto, a subpopulação de PMN-MDSC provavelmente se origina de neutrófilos circulantes que adquirem um fenótipo de menor densidade aparecendo na fração de células mononucleares do sangue periférico. Para este grupo, não está claro se esta subpopulação de células se origina de granulopoiese de um progenitor dedicado à supressão na medula óssea, ou se representa um subgrupo funcional de neutrófilos que adquiriu um fenotipo imunossupressor em resposta à sinais específicos na periferia.(BOWERS, SCOTT HELTON, *et al.*, 2014)

As M-MDSCs são morfológicamente idênticas aos monócitos, CD11b+CD14+CD15-, e também podem ser encontradas na fração de baixa densidade do gradiente de Ficoll, de PBMCs, onde representam uma pequena fração (VEGLIA; PEREGO; GABRILOVICH, 2018).

MECANISMOS DE SUPRESSÃO DAS MDSC

Os principais mecanismos utilizados e moléculas efetoras produzidas incluem: arginase-1 (ARG-1) que induz privação extracelular de L-arginina, um aminoácido não-essencial fundamental para proliferação de linfócitos T; ciclooxigenase-2 (COX-2), que produz altos níveis de prostaglandina-E2 (PGE2); indoleamina2,3-dioxigenase (IDO) que cataboliza triptofano levando à depleção desse aminoácido limitando a sobrevivência e proliferação de célula T; expressão de óxido nítrico sintase induzível (iNOS) também conhecida como óxido nítrico sintase 2 (NOS2), que leva à produção de NO, induzindo apoptose de célula T e supressão da proliferação dessas células; NADPH oxidase 2 (NOX2) que também inibe a proliferação de célula T através da produção de espécies reativas de oxigênio (ROS) tais como ânion superóxido (O_2^-) e peróxido de hidrogênio (H_2O_2); heme-oxigenase 1 (HO-1) que também inibe proliferação de célula T através da produção de monóxido de carbono; fator de crescimento transformador β 1 (TGF- β 1) que promove anergia de células NK e induz células T

reguladoras (Treg); IL-10 que leva à polarização de macrófagos tipo 2 e expansão de Treg que por sua vez inibe célula T efetora (BIZYMI et al., 2019; DRABCZYK-PLUTA et al., 2017; GABRILOVICH, 2017).

Espécies reativas de nitrogênio, como o radical livre de peroxinitrito (ONOO⁻), podem reagir com subprodutos da atividade de iNOS, ARG1 e membros da família NOX e induzir várias alterações covalentes em aminoácidos aromáticos de proteínas proximais por nitratação / nitrosilação independentes de enzima. Um exemplo disso ocorre na reação de NO com o peroxinitrito na inibição da célula T por nitrosilação do resíduo de tirosina da cadeia ζ do CD3, que é parte do complexo receptor da célula T (complexo TCR-CD3 na célula T) modulando negativamente o receptor e reduzindo sua habilidade de reconhecer o complexo antígeno-MHC (BRONTE et al., 2016; GABRILOVICH, 2017; GARG; SPECTOR, 2014).

O bloqueio *in vitro*, da PD-L1, um ligante da proteína PD-1 (programmed cell death 1, uma molécula reguladora com ação inibitória, presente na superfície de células efetoras do sistema imune) com anticorpo específico, foi capaz de atenuar a função inibitória de MDSCs restaurando a secreção de IFN- γ pelas células T CD8⁺ inibidas pelas MDSCs, sugerindo que a PD-L1 é parte do arsenal supressivo das MDSCs (ZHANG et al., 2017).

Por outro lado Qin, et al., 2013, exploraram diferentes mecanismos de supressão de célula T mediada por M-MDSC, mostrando que a proliferação de célula T e a produção de IFN- γ foram suprimidas pela presença de M-MDSCs e foram quase totalmente restauradas após administração de um inibidor de arginase (QIN et al., 2013).

MDSC E A INFECÇÃO PELO HIV

A relação das MDSCs com o câncer foi amplamente documentada, e evidências mostram que a expansão de células mieloides imaturas está relacionada também com as infecções virais agudas e crônicas como as causadas pelo HBV, HCV e HIV (DAMUZZO et al., 2015, DRABCZYK-PLUTA et al., 2017).

Estudos mostram que o acúmulo das MDSC, tanto de perfil monocítico quanto polimorfonuclear, se correlaciona com a progressão da doença. Já foi observado que a redução da contagem de células T CD4⁺ e aumento da carga viral no curso da infecção pelo HIV estava correlacionada com aumento na frequência de MDSC no sangue periférico de pacientes e supressão da resposta de células T. Além disso, também foi observado uma redução na frequência das MDSCs com o início da terapia antiretroviral altamente ativa (Highly Active Antiretroviral Therapy, HAART), e alguns autores sugerem estas células como indicadores de

nível de doença para HIV. Entretanto, Agrati et al., 2019, observaram que a TARV mesmo quando eficiente no *clearance* viral não foi capaz de restabelecer a normalização da frequência de PMN-MDSC após 48 semanas de tratamento (AGRATI et al., 2019; CLOKE et al., 2012, 2010; LEI et al., 2016; QIN et al., 2013; VEGLIA; PEREGO; GABRILOVICH, 2018; VOLLBRECHT et al., 2012).

Outros estudos já demonstraram que as M-MDSCs podem servir de sítio de replicação viral pois expressam o receptor CD4, bem como o co-receptor CCR5 e CXCR4, que são utilizados como entrada do HIV na célula hospedeira. De fato já foi demonstrado que as M-MDSCs de indivíduos saudáveis podem ser infectadas com o HIV *in vitro* (QIN et al., 2013)

Zhang et al., 2017, observaram que as PMN-MDSC se correlacionavam negativamente com a contagem de células T CD4+, e positivamente com carga viral e ativação imune, demonstrando uma correlação entre essas células e a progressão da doença em pacientes HIV+ não tratados, especialmente aqueles com infecção primária (ZHANG et al., 2017).

Qin, et al., 2013, avaliaram a frequência de MDSC de doadores saudáveis e de pacientes HIV-1+ e observaram uma frequência mais elevada de MDSC, de perfil CD14+ sugestivo de subgrupo monocítico, no grupo de HIV-1+. Foi encontrada uma correlação inversa entre frequência de MDSC e contagem de células CD4+, uma vez que foi observada maior frequência dessas células em pacientes pertencentes à categoria com contagem de CD4+ menor ou igual a 200 células/mm³ (QIN et al., 2013). Similarmente, Tumino et al., 2015, encontraram maior frequência de PMN-MDSC em pacientes com contagem de CD4+ menor que 400 células/ μ l entre os pacientes tratados. Por outro lado, não encontraram associação entre a frequência de MDSC, a contagem de CD4+ e a carga viral, nem diferença nos níveis de PMN-MDSC entre pacientes tratados e não tratados (TUMINO et al., 2015).

Tumino et al, 2017, também compararam pacientes HIV+ com infecção primária, crônica e doadores saudáveis para avaliação de MDSC. Demonstraram que havia uma alta frequência de PMN-MDSC em pacientes com infecção primária quando comparado com os saudáveis, porém mais baixa do que o observado em pacientes crônicos. Nestes, a frequência de PMN-MDSC foi correlacionada positivamente com vários mediadores inflamatórios como GM-CSF e MCP-1 (Monocyte chemoattractant protein-1), sugerindo possível contribuição da inflamação em induzir a expansão das PMN-MDSC durante a fase crônica da infecção (TUMINO et al., 2017).

Como a infecção pelo HIV leva a uma inflamação sistêmica, com ativação crônica de células imunes como monócitos e linfócitos T, e secreção de citocinas pró-inflamatórias, que persiste em baixos níveis apesar da supressão virológica com o uso da TARV, essa ativação

imune excessiva pode resultar em anergia funcional, e exaustão imunológica. Esse quadro de estímulo persistente é condizente com o recrutamento de células imaturas como as MDSC's (FENWICK et al., 2019; GORDON et al., 2010; DROSS et al., 2017; GEORGE et al., 2018).

CARACTERIZAÇÃO DE MONÓCITOS

As principais populações de células mieloides derivadas da medula óssea são as células polimorfonucleares (também chamados granulócitos), sendo os neutrófilos os representantes mais abundantes, e as células mononucleares, representadas pelos monócitos. Os monócitos entram na corrente sanguínea continuamente, onde constituem 10% do total de leucócitos circulantes em humanos e são recrutados para sítios de inflamação como parte da resposta imune do hospedeiro. Nos tecidos, por exemplo, em resposta à produção de IFN- γ produzido por células NK, os monócitos podem se diferenciar em macrófagos inflamatórios e células dendríticas (SPRANGERS;VRIES;EVERTS, 2016; VEGLIA;PEREGO; GABRILOVICH, 2018).

Os monócitos são classificados em diferentes subpopulações de acordo com a expressão das moléculas CD14 e CD16 em sua superfície. São reconhecidos três subgrupos de monócitos; clássicos, intermediários e não clássicos. Os monócitos clássicos representam o principal subgrupo, contando com aproximadamente 90% do total da população de monócitos, e se caracterizam por altos níveis de expressão de CD14 e não expressam CD16 (CD14⁺⁺CD16⁻) (ANBAZHAGAN et al., 2014; ANCUA et al., 2003; GINHOUX; JUNG, 2014; SPRANGERS; VRIES; EVERTS, 2016).

Frankenberger et al (1996) identificaram uma subpopulação de monócitos distinta dos monócitos clássicos, que co-expressavam CD16 e baixos níveis de CD14, sendo denominados de monócitos intermediários (CD14⁺CD16⁺). Além disso o grupo demonstrou que o subgrupo CD14⁺CD16⁺ também foi capaz de expressar mRNA para as citocinas pró-inflamatórias tais como TNF- α , IL-1 e IL-6, enquanto a expressão da citocina anti-inflamatória IL-10 era mínima ou ausente (FRANKENBERGER et al., 1996).

Assim como os monócitos intermediários, os monócitos não clássicos se caracterizam por apresentarem CD16, e se diferenciam entre si pelos níveis de expressão dos dois marcadores, CD14 e CD16. Desta forma, os monócitos clássicos são definidos como CD14⁺⁺CD16⁻, monócitos intermediários como CD14⁺⁽⁺⁾CD16⁺, e monócitos não clássicos como CD14⁺CD16⁺⁺ (SPRANGERS; VRIES; EVERTS, 2016; WONG et al., 2012).

Apesar da literatura compartimentar os monócitos em subgrupos distintos, eles

representam uma mesma célula em diferentes estágios de diferenciação. Embora compartilhem algumas características em comum, diferentes funções têm sido atribuídas a cada subgrupo de monócitos.

Monócitos clássicos, quando comparados a monócitos não clássicos, apresentam elevada expressão de TLR4 bem como níveis mais altos do receptor TREM-1 (Triggering Receptor Expressed on Myeloids Cells 1), um receptor da superfamília de Ig que após ativado pode amplificar algumas respostas a ligantes TLR como LPS, e outros ligantes de PRR, provocando uma resposta sinérgica com amplificação da produção de citocinas proinflamatórias. Portanto, durante processos infecciosos, os monócitos clássicos produzem grandes quantidades de citocinas inflamatórias como TNF- α , IL-1 β e IL-6 em resposta a ligantes TLR4. Os monócitos clássicos são a primeira subpopulação a ser recrutada para um sítio infectado ou inflamado, contribuindo desta forma na resposta antigênica e remoção de células mortas (DOWER et al., 2008; BOUCHON; DIETRICH; COLONNA, 2000; ANBAZHAGAN et al., 2014).

Os monócitos intermediários são recrutados em uma fase mais tardia da inflamação, e estão principalmente associados com apresentação de antígenos, reparo tecidual e, assim como os monócitos clássicos, apresentam elevada secreção de citocinas inflamatórias (WONG et al., 2012).

Por outro lado, os monócitos não clássicos apresentam altos níveis do receptor-1 de quimocina (CX3CR1), uma molécula transmembrana expressa nas células endoteliais, que medeia a adesão entre estas e os monócitos promovendo a migração transendotelial e recrutamento para tecidos. Desta forma, os monócitos não clássicos são conhecidos como *patrolling*, (patrulhadores), ou seja, importantes na vigilância contra agentes estranhos no organismo, além de mediar a resposta anti-viral (ANCUTA et al., 2003; AUFRAY et al., 2007; SPRANGERS; VRIES; EVERTS, 2016).

MONÓCITOS E A INFECÇÃO PELO HIV

Os monócitos CD16+ estão expandidos em numerosas infecções virais, como as causadas pelo vírus da Dengue, HBV, HCV e HIV, ou seja, subgrupos de monócitos intermediários e não clássicos já foram encontrados aumentados nestas infecções. Nos pacientes HIV os monócitos CD16+ são mais permissivos à infecção pelo HIV do que o subgrupo clássico de monócitos devido à sua alta expressão de CCR5 e CD4 (WONG et al., 2012)

HAN et al., 2009 demonstraram que ambos os subgrupos, intermediários e não clássicos, estão aumentados nos pacientes HIV+ sem TARV em comparação aos controles HIV-, enquanto somente o subgrupo de monócitos intermediários se correlacionou positivamente com o aumento da carga viral plasmática e negativamente com a contagem de células T CD4+, demonstrando estar relacionado com a progressão da doença (HAN et al., 2009).

Também o receptor CD163, identificado como receptor *scavenger* de hemoglobina, expresso por monócitos e macrófagos, tem sido investigado como marcador potencial de inflamação em doenças infecciosas tal como meningite, bem como em doenças autoimunes (TIPPETT et al., 2011). Buechler et al, 2000, estimularam monócitos do sangue periférico de doadores saudáveis com LPS e citocinas próinflamatórias como IFN- γ e TNF- α , e verificaram supressão da expressão de CD163, enquanto que o estímulo com ciclosporina-A, um potente imunossupressor, e as citocinas IL-6 e IL-10 promoveram sua expressão (BUECHLER et al., 2000).

Além da regulação positiva pela IL-10, Philippidis et al., 2004, demonstraram através da cultura *in vitro* de monócitos humanos e *in vivo* o efeito antiinflamatório direto através da secreção de IL-10, causado pela ligação do conjugado hemoglobina-haptoglobina ao CD163 (PHILIPPIDIS et al., 2004). Por outro lado, foi demonstrado que o CD163 expresso em monócitos humano foi capaz de se ligar a bactérias Gram-positivas e Gram-negativas, iniciando uma resposta inflamatória local através da produção de TNF- α , IL-6 e IL-1 β , possivelmente atuando como um sensor de infecções (FABRIEK et al., 2009)

Tippett et al, 2011, demonstraram que o CD163 estava expresso em maior nível nos monócitos clássicos CD14⁺⁺CD16⁻, em moderado nível nos monócitos intermediários CD14⁺⁺CD16⁺ e com expressão quase indetectável em monócitos não clássicos CD14⁺CD16⁺⁺, tanto em amostras de pacientes portadores do HIV quanto de indivíduos saudáveis. Quando foi comparada a expressão de CD163 em cada subgrupo de monócitos entre pacientes HIV+ com os indivíduos não portadores, foi encontrada expressão significativamente mais alta nos monócitos intermediários (CD14⁺⁺CD16⁺) e um discreto aumento nos monócitos clássicos (CD14⁺⁺CD16⁻) dos pacientes HIV+ (TIPPETT et al., 2011).

Tippett et al, 2011 também observaram correlação inversa entre a frequência das populações CD14⁺⁺CD16⁻ e CD14⁺⁺CD16⁺ expressando CD163 com a contagem de T CD4 entre os pacientes HIV+ com contagem menor que 500 células/ μ l. Estes resultados coincidem com os de Fischer-Smith et al, 2008 que também observaram uma maior frequência de monócitos CD14⁺⁺CD16⁺CD163⁺ em indivíduos HIV+ com viremia detectável em relação

ao pacientes com viremia indetectável e indivíduos saudáveis, além de uma correlação inversa com a contagem de TCD4 entre os pacientes HIV+ com contagem de CD4 menor que 450 células/ μ l (FISCHER-SMITH; TEDALDI; RAPPAPORT, 2008).

Philippidis et al, 2004, sugerem que o CD163 pode ser utilizado como um marcador de resolução da resposta inflamatória sistêmica após cirurgia, enquanto Fischer-Smith (2008) e Tippett (2011) argumentam que os monócitos CD163+ também possam ser usados como biomarcadores durante a infecção pelo HIV (FISCHER-SMITH; TEDALDI; RAPPAPORT, 2008; PHILIPPIDIS et al., 2004; TIPPETT et al., 2011). Entretanto, Frings (2002) e Onofre (2009), colocam que somente o CD163 solúvel age na ativação de genes que resultam na transcrição de proteínas com atividade antiinflamatória, implicando em diferentes funções pelo CD163, na dependência deste receptor estar ligado à membrana dos monócitos ou solúvel no plasma (FRINGS; DREIER; SORG, 2002; ONOFRE et al., 2009)

VACINAÇÃO PARA INDIVÍDUOS HIV+

Muitas infecções bacterianas severas que acometem os portadores de HIV são imunopreveníveis através de vacinas, embora as respostas imunológicas não sejam tao eficientes quanto em indivíduos HIV-. Entre elas são comuns as causadas por *Neisseria meningitidis*, *Streptococcus pneumoniae*, e *Haemophilus influenza*, como agentes da meningite, uma inflamação nas membranas que revestem o encéfalo e a medula espinhal do sistema nervoso central. Embora a meningite possa ser causada por diversos agentes infecciosos, como vírus, fungos e bactérias, as meningites bacterianas respondem por grande parte dos casos da doença, sendo o meningococo a principal causa de meningite bacteriana no país (MS, 2017).

Estudos indicam que a incidência de meningite bacteriana é maior entre os portadores de HIV, podendo estar relacionada com a contagem e/ou função de CD4, e que a infecção por HIV tem sido demonstrada como fator de risco para o desenvolvimento e mortalidade da doença meningocócica (BERTOLINI et al., 2012).

A OMS recomenda a vacinação e esclarece que ela é parte importante do pacote de cuidados devendo ser ofertada a qualquer indivíduo com imunodeficiência, incluindo aqueles pacientes com doença avançada por infecção pelo HIV. Esclarece ainda que, após a reconstituição do sistema imune com terapia antirretroviral pode ser necessária doses adicionais ou revacinação. Bebês expostos ao HIV, crianças e adolescentes que vivem com o vírus devem ser submetidos a uma rotina de vacinação programada de acordo com as recomendações locais. Entre as vacinas, está recomendada a vacina contra o meningococo (WHO, 2017b).

DOENÇA MENINGOCOCICA

A Doença Meningococcica Invasiva (DMI) resulta de infecção por *Neisseria meningitidis* (*Nm*) e se manifesta comumente como meningite ou meningococemia, uma infecção na corrente sanguínea (septicemia) ou ambas (COUREUIL et al., 2012).

A *N. meningitidis* (meningococo) é um diplococo Gram-negativo, aeróbio, imóvel, pertencente à família Neisseriaceae. É um patógeno oportunista, vivendo usualmente como comensal na nasofaringe do seu hospedeiro exclusivo, o homem. Coloniza o trato respiratório superior, configurando aí um reservatório natural, e fazendo do indivíduo adulto saudável, um portador assintomático, de grande importância para a epidemiologia da infecção (KUHDARI et al., 2016).

A DMI é associada com fatalidades de aproximadamente 10 a 15%, que pode aumentar para 40% durante surtos. Aproximadamente 10 a 20% dos sobreviventes têm severas sequelas neurológicas, visuais, perda de audição, amputações e paralisia (CRUM-CIANFLONE; SULLIVAN, 2016; PETERSON et al., 2019).

A cápsula é o principal determinante de virulência da *Nm*, composta de unidades repetitivas de monossacarídeos, e sua característica imuno-histoquímica é usada para dividir a *Nm* em 12 sorogrupos imunologicamente distintos. São eles, A, B, C, E, H, I, K, L, W, X, Y e Z. Seis desses sorogrupos, A, B, C, W, X, e Y são responsáveis pela maioria dos casos de DMI, e a prevalência do sorogrupo pode variar temporalmente e geograficamente (ACEVEDO et al., 2019; PETERSON et al., 2019; SANTOS-NETO et al., 2019; KUHDARI et al., 2016; ROSENSTEIN et al., 2001; LEWIS; RAM, 2014).

A principal via de transmissão do meningococo é a respiratória por gotículas de secreções, através de tosse, espirros ou por contato direto através do compartilhamento de utensílios, de pessoas com doença meningocócica invasiva ou mais frequentemente, de portadores assintomáticos (CRUM-CIANFLONE; SULLIVAN, 2016; KUHDARI et al., 2016; SANTOS-NETO et al., 2019).

A doença invasiva é rara entre indivíduos imunocompetentes. Ocorre uma imunização passiva através da passagem de imunoglobulinas IgG pela placenta protegendo os recém-nascidos, e uma sensibilização ativa através do intermitente contato com o meningococo de outros portadores, protegendo os indivíduos a partir de 2 anos. A incidência maior da doença meningocócica então, ocorre no período compreendido entre os 6 e 24 meses de idade quando os anticorpos maternos decaem e o sistema imune ainda é imaturo (DEVOE, 1982;

GOLDSCHNEIDER; GOTSCHLICH; ARTENSTEIN, 1969; VAN DEUREN; BRANDTZAEG; VAN DER MEER, 2000).

EPIDEMIOLOGIA DA DMI GERAL E NO BRASIL

A DMI pode ser endêmica, com casos esporádicos, ou ocorrer em forma de epidemia, com surtos de extensão e duração variável (CAUGANT; MAIDEN, 2009; KUHDARI et al., 2016). É uma doença de notificação compulsória, sendo os surtos e/ou óbitos de notificação imediata no Sinan, por meio do preenchimento da Ficha de Investigação de Meningite (MS, 2017).

A incidência geral da DMI varia ao redor do mundo: na América do Norte, Europa e Austrália a taxa é de 0,3 a 3 casos por 100.000 habitantes, podendo alcançar de 10 a 1000 por 100.000 na África durante uma epidemia. (ACEVEDO et al., 2019).

No Brasil, a DMI é endêmica, com ocorrência de surtos esporádicos e uma taxa média anual de incidência de 1,4 a 2,5 casos por 100.000 habitantes. A letalidade da doença no Brasil situa-se em torno de 20%, sendo que, na forma mais grave, a meningococemia, a letalidade chega a quase 50% (CORDEIRO et al., 2018).

Devido ao aumento da prevalência dos casos de doença pelo MenC, a vacina conjugada para sorogrupo C foi introduzida na rotina do calendário de vacinação infantil em agosto de 2010 como parte do Programa Nacional de Vacinação do Ministério da Saúde (PNI/MS) (CORDEIRO et al., 2018).

IMUNIZAÇÃO CONTRA O MENINGOCOCO

A imunização é a estratégia mais efetiva para prevenção da DMI. As vacinas polissacarídicas contêm antígenos capsulares puros da parede bacteriana dos tipos A, C, Y, W, e podem ser monovalente ou polivalente, como a quadrivalente MenACYW, Apesar de seguras e efetivas, não recrutam células T auxiliares e como resultado oferecem curta proteção e ausência de eficácia em crianças menores que 2 anos de idade (LEWIS; RAM, 2014).

Como estratégia para driblar este problema a vacina conjugada foi desenvolvida por ligação covalente do antígeno polissacarídeo com uma proteína carreadora, podendo ser o toxóide tetânico, diftérico ou uma variante do toxóide diftérico CRM₁₉₇ (ACEVEDO et al., 2019). Desta forma, permite uma resposta imune dependente de células T com a vantagem de gerar anticorpos de alta afinidade, memória imunológica, e capacidade de resposta a doses de

reforço. Além disso, as vacinas conjugadas induzem a proteção de “rebanho” por eliminar o estado de portador prevenindo a aquisição do meningococo entre os não vacinados (ACEVEDO et al., 2019; KUHDARI et al., 2016; SANTOS-NETO et al., 2019).

O esquema de imunização com a vacina conjugada disponível na rede pública contra o meningococo do sorogrupo C (MenC) consiste em duas doses, aos 3 e 5 meses de vida, e uma dose reforço aos 12 meses de idade, podendo ser administrado até os 4 anos de idade. A partir de 2017 passou também a estar indicada para adolescentes entre 12 e 13 anos de idade, devendo-se ampliar a faixa etária gradativamente até 2020, quando abrangerá crianças a partir de 9 anos de idade. Foi aprovada também para crianças e adolescentes HIV+ não vacinados previamente, seguindo o mesmo esquema de 8 semanas de intervalo, e reforço 5 anos depois, sendo também ofertada nos Centros de Referência para Imunobiológicos Especiais (CRIE), entre outras situações, a crianças menores de 13 anos de idade com HIV/AIDS (MS, 2014; MS, 2016; MS, 2017).

A resposta da vacina conjugada contra o MenC (MCC) tem sido avaliada em crianças e adolescentes HIV+. Em um estudo com jovens HIV positivos entre 10 e 19 anos sob TARV, mostrou que dos 43 pacientes HIV+ houve soroproteção de 31 (72%), enquanto 12 (27,9%) não responderam. Todos os jovens HIV- responderam satisfatoriamente. Dos 12 indivíduos não respondedores, 10 foram revacinados e somente 4 destes responderam, subindo para 81,4% o total de respondedores (BERTOLINI et al., 2012).

Nosso grupo demonstrou que após uma dose da vacina MCC em crianças e adolescentes entre 2 e 18 anos infectados pelo HIV apenas 30% soroconverteram, contra 76% de soroconversão entre os não infectados. No entanto, após a dose reforço da vacina MCC nos pacientes HIV+, observamos que 78,8% deles desenvolveram títulos de anticorpos bactericidas considerados protetores (≥ 4), sendo que 72,3% soroconverteram (aumento de pelo menos 2 títulos de anticorpos bactericidas) (FROTA et al., 2015; FROTA et al., 2017).

A resposta aos diferentes sorogrupos também exibiu variação nos pacientes HIV+ em outro estudo com jovens entre 11 e 24 anos que receberam a vacina MCV4, especialmente os que apresentavam doença avançada, sendo mais baixa no sorogrupo C (52% de soroconversão); sorogrupo A (68%), Y (63%) e W (73%) (SIBERRY et al., 2010).

Nossos resultados com duas doses da vacina MCC e também os observados com a vacina MCV4 reforçam a importância da dose reforço da vacina em crianças e adolescentes infectados pelo HIV (SIBERRY et al., 2012; FROTA 2017; MS, 2014).

HIV E DM

A resposta vacinal à administração da vacina conjugada anti-MenC em crianças e adolescentes infectados pelo HIV ainda necessita de maiores investigações. A durabilidade da soroproteção é especialmente importante na população infantil, especialmente para aqueles que se aproximam da faixa etária de maior risco de infecção pelo meningococo, risco este que pode estar potencializado pelas desordens imunológicas causadas pelo HIV.

Apesar da efetiva supressão viral alcançada com a TARV, ela não elimina a ativação imune crônica e permanecem evidências de níveis contínuos de ativação de células T, marcadores solúveis de ativação de monócitos e de inflamação nestes pacientes com viremia plasmática suprimida (BOOIMAN et al., 2017). Além da TARV, o uso de vacinas para doenças imunopreveníveis, constitui um dos pilares do tratamento do HIV, porém é reconhecido que a rotina de imunizações é menos eficiente em indivíduos HIV+ do que na população em geral.

Alguns estudos mostraram que a resposta vacinal ao sorogrupo C, que é prevalente no Brasil, mesmo apresentando aumento de resposta com a dose reforço na população HIV+, permanece inferior à resposta obtida aos outros sorogrupos e em indivíduos não infectados (FROTA, 2017; SIBERRY, 2012).

Embora esteja bem estabelecido que a resposta imune ao meningococo se efetive através da produção de anticorpos bactericidas específicos, e também com a contribuição de anticorpos opsonizantes ((PEREIRA-MANFRO et al., 2016), existe pouca informação sobre a influência da imunidade inata na resposta vacinal ao meningococo neste grupo de indivíduos.

Em comparação à extensa literatura sobre o papel das MDSC no câncer, o papel destas células na resposta vacinal em indivíduos HIV+ permanece incerto. Assim, estudos adicionais que elucidem seu comportamento nesta infecção podem ser importantes na compreensão do papel das MDSCs na resposta vacinal, em crianças e adultos infectados pelo HIV.

Caracterizar a população de células da imunidade inata como MDSCs e os monócitos presentes no sangue periférico de indivíduos infectados pelo HIV pode ser uma alternativa para o melhor entendimento da resposta vacinal ao meningococo em indivíduos HIV+.

1. OBJETIVOS

1.1. Objetivo geral

Caracterizar as populações de células mieloides supressoras (MDSC) e monócitos circulantes, em crianças e adolescentes portadores do HIV-1 e imunizados com a vacina conjugada MenC-CRM₁₉₇.

1.2. Objetivos específicos

- a) Analisar a frequência das subpopulações de MDSC e Monócitos nos pacientes HIV+ e controles HIV- nos diferentes tempos vacinais.
- b) Correlacionar as frequências das subpopulações de MDSC e de monócitos com a carga viral dos pacientes HIV+
- c) Analisar o perfil de ativação celular entre as subpopulações de monócitos dos pacientes HIV+ e controles HIV-
- d) Identificar a relação entre as subpopulações de monócitos com os títulos de anticorpos bactericidas (SBA) nos pacientes HIV+

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Populações de estudo

2.1.1 Pacientes HIV+

Para a realização desta pesquisa foram utilizadas amostras de sangue congeladas de 10 crianças e adolescentes, com idades variando entre 6 e 17 anos, infectados verticalmente pelo HIV-1, e assistidos no Instituto de Puericultura e Pediatria Martagão Gesteira da Universidade Federal do Rio de Janeiro (IPPMG/UFRJ). Destes 10, seis estavam em uso de antirretrovirais e nenhum paciente do grupo de não-tratados iniciou tratamento após o início de coleta das amostras. Este grupo de crianças e adolescentes era integrante de um projeto de pesquisa originalmente desenhado pela Dr^a Cristina Barroso Hofer em colaboração com nosso grupo de estudos, que tinha como objetivo avaliar a imunogenicidade da vacina conjugada para *Neisseria meningitidis* sorotipo C em crianças infectadas pelo HIV-1, tendo sido submetido e aprovado aos critérios éticos do referido Instituto (CEP N° 24/09- ANEXO A). Os responsáveis pelos pacientes assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido (ANEXO B), permitindo a coleta de duas amostras de aproximadamente 10 ml de sangue para fins de pesquisa. Uma coleta foi realizada na presença de anticoagulante, para posterior obtenção das células, e a outra amostra foi coletada em tubo sem anticoagulante para obtenção dos soros. Após centrifugação do sangue as amostras foram congeladas no IPPMG e posteriormente transferidas para nosso laboratório e mantidas a -20°C até as presentes análises. Os critérios de inclusão e de exclusão estabelecidos na pesquisa estão descritos no ANEXO C.

Foram agendadas visitas com o grupo de pesquisa para a coleta das amostras e aplicação da vacina. Duas doses da vacina foram aplicadas, com um intervalo de aproximadamente 11 meses entre elas. As amostras de sangue foram coletadas e analisadas nos períodos antes e após a primeira dose da vacina anti-MenC, designado por visita 1 (V1) e visita 2 (V2), respectivamente, bem como antes e após a segunda dose da mesma vacina, designado por visita 3 (V3) e visita 4 (V4), respectivamente. O período de intervalo entre V1 e V2, e entre V3 e V4, compreendeu entre 1 e 2 meses aproximadamente.

2.1.2 Pacientes HIV- (grupo controle)

Para composição do grupo controle foram selecionadas amostras de sangue congeladas de um grupo de 6 indivíduos entre crianças e adolescentes na faixa de 6 a 16 anos de idade,

saudáveis, também assistidos pelo IPPMG/UFRJ e participantes do projeto de pesquisa. Os responsáveis pelos pacientes também assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido (ANEXO B), permitindo a coleta de aproximadamente 10 ml de sangue para fins de pesquisa. Após centrifugação as amostras foram congeladas no IPPMG e posteriormente transferidas para nosso laboratório e mantidas a -20°C até as análises realizadas neste projeto.

As amostras de sangue foram coletadas antes da administração da vacina anti-MenC, e entre 1 a 2 meses após, constituindo as visitas 1 (V1) e visita 2 (V2), respectivamente.

Dentre os vários dados que foram coletados previamente nos pacientes e controles pelo projeto de pesquisa original, foram utilizados nesta pesquisa somente os seguintes; carga viral (CV) após início da TARV na visita 1 (V1), tempo de TARV até a visita 1 (V1), sexo, idade, e contagem de CD4 total e percentual após início da TARV, e a menor contagem de CD4 apresentada antes do início da TARV, ou seja, o *nadir*. Estas características estão descritas da tabela 1.

Tabela 1 – Características da População de Estudo

Parâmetros	Pacientes HIV+ (n=10)	Controles (n=6)
Sexo (%)	60% F	33,33% F
Idade em V1	11 anos (6-17)	13 anos (6-16)
TARV (%)	60%	NA
Tempo de TARV até V1	1,2 anos (0 -13,4)	NA
CV em V1 (pós TARV)	1811 cópias/ml (0-361.000 cópias/ml)	NA
CD4 total V1	588 células/mm ³ (378- 1432 células/mm ³)	NA
CD4 % em V1	26,5% (17-35 %)	NA
CD4 <i>nadir</i> até V1	352 células/mm ³ (0-708 células/mm ³)	NA

Legenda: NA: não se aplica; CV: carga viral; TARV: terapia antirretroviral.

Nota: Dados apresentados representam a mediana. CV após TARV

Fonte: A autora, 2020

2.2. Vacina anti-MenC-CRM₁₉₇

A vacina utilizada para imunizar o grupo HIV+ e controles neste estudo, foi a vacina conjugada anti-MenC-CRM₁₉₇ fabricada pela Novartis Vaccines, Siena, Itália (comercialmente

conhecida como Menjugate™). A composição da vacina apresenta o oligossacarídeo do meningococo C conjugado à proteína CRM₁₉₇ de *Corynebacterium diphtheriae*. Cada dose da vacina (0.5 ml) contém 10 µg do oligossacarídeo, 12,5 a 25 µg da proteína CRM₁₉₇ e 0,2 a 0,3 mg de hidróxido de alumínio.

2.3. Obtenção de células mononucleares de sangue periférico (PBMC)

As amostras de sangue foram coletadas em tubo contendo heparina e separadas por centrifugação em gradiente Ficoll-Histopaque (Histopaque®, Sigma, St Louis, EUA), em proporção 1:1 e centrifugadas a 240g por 30 minutos a 27°C. As PBMCs foram coletadas e lavadas em meio RPMI sem soro e congeladas em nitrogênio líquido, em 70% de RPMI com 20% de soro fetal bovino (SFB) e 10% de dimetilsulfóxido (DMSO) até o momento do uso.

2.4. Imunofenotipagem

As amostras congeladas utilizadas neste estudo foram parcialmente descongeladas em banho maria a 37°C e transferidas para um tubo cônico de 15 ml contendo 9 ml de meio RPMI com 10% de SFB à temperatura ambiente, e após foram centrifugadas a 1800 rpm por 10 minutos a 4°C. O sobrenadante foi desprezado e as células ressuspendidas em 2 mL em mesma solução.

As células foram contadas em um contador semi-automatizado (Invitrogen Cell Counter®) e ajustadas para a concentração de 1×10^6 células/ml e mantidas no gelo até o momento do uso.

Para prosseguimento das marcações de imunofluorescência, foi adicionado tampão fosfato (PBS) com 1% de soro humano para bloqueio do receptor Fc de imunoglobulina (Fc Block) e incubado por 15 minutos a 4°C. Após, seguiu-se com as marcações de superfície com anticorpos monoclonais (mAbs) marcados com fluorocromos, incubados por 30 minutos a 4°C protegidos da luz, conforme descritos a seguir:

-Detecção de MDSCs: anti-CD33-PE; anti-CD11b-FITC; anti-HLA-DR-PerCP-Cy5.5; anti-CD14- APC-Cy7 e anti- CD15- PE-Cy7.

-Detecção de monócitos: anti-CD14-APC Cy7; anti-CD16-FITC e anti-CD163-PE.

Para exclusão de células mortas as amostras foram coradas com corante Live/Dead (BioRad), incubando-se novamente por 30 minutos à temperatura ambiente, protegido da luz.

Após esta etapa as amostras foram lavadas com PBS sem soro, centrifugadas a 1800

rpm por 5 minutos a temperatura ambiente, e fixadas em PBS a 1% de paraformaldeído, até aquisição em citômetro de fluxo-FACS Canto II (Becton Dickinson), no Departamento de Patologia da Universidade do Estado do Rio de Janeiro, UERJ.

A estratégia “fluorescência menos uma (FMO)” foi utilizada para definir as populações positivas para CD163, CD14 e CD15. As análises de citometria de fluxo foram realizadas através do programa FlowJo, versão 10 (Tree Star Inc, Ashland, Oregon, USA).

2.5 Ensaio bactericida

A presença de anticorpos bactericidas no soro (SBA) contra MenC foi avaliada conforme descrito por MASLANKA et al. (1997). Os soros dos pacientes HIV+ e voluntários foram inativados a 56°C por 30 minutos e diluídos com solução tampão (PBS 0,3% de soro albumina bovina (BSA), 0,98 mM CaCl₂ e 1 mM MgCl₂). Em cada reação foram adicionados 25 µl de soro diluídos ou não em PBS contendo 0,3% BSA, 12,5 µl de suspensão bacteriana de MenC (aproximadamente 5×10^3 UFC/ml) e 12,5 µl de soro humano como fonte de complemento. A reação foi incubada a 37°C por 60 minutos e adicionou-se ágar contendo o antibiótico VCNT (Vancomicina/Sulfonato Metano Colistina/Trimetoprim/Nistatina, Laborclin) para parar a reação. Seguiu-se incubação a 37°C por 16 horas em estufa 5% CO₂. As colônias foram contadas em microscópio estereoscópio (aumento de 40 vezes) e o título SBA foi definido como a recíproca da maior diluição do soro teste em que houve pelo menos 50% de morte bacteriana. Utilizou-se como controle positivo um pool de soros humanos obtidos após a vacinação anti-MenC. O controle da ativação do complemento pela via alternativa foi feito incubando-se a bactéria e o complemento inativado ou não em solução de PBS/BSA. Esta análise foi previamente realizada pelo nosso grupo (FROTA et al., 2017).

2.6. Análises estatísticas

As análises estatísticas foram realizadas utilizando o programa GraphPad-Prism™ (GraphPadPrism Inc., versão 7.0). Os níveis de significância foram calculados por testes não paramétricos não pareados (*Mann-Whitney test*) ou correlações não paramétricas (Spearman) admitindo-se 95% de intervalo de confiança (95% IC). $P < 0,05$ considerado significativo.

3. RESULTADOS

3.1 Estratégia de análise celular por citometria de fluxo.

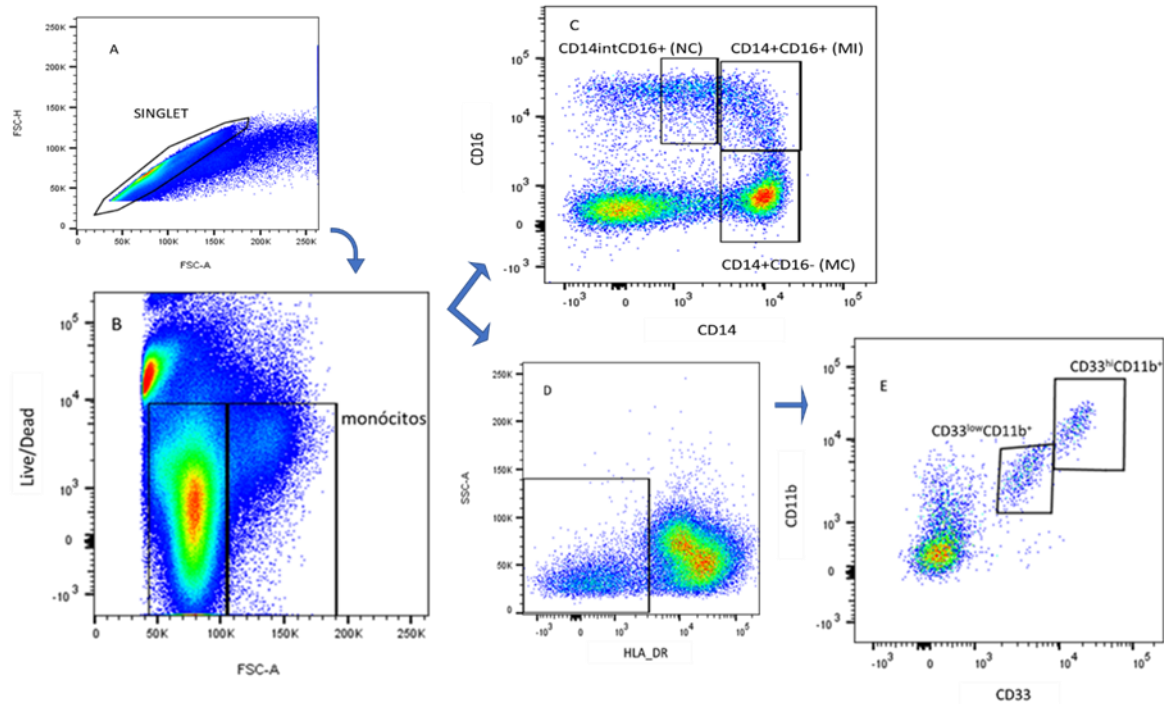
Como estratégia de seleção da região de interesse para análise das populações de células mieloides supressoras (MDSC) e das subpopulações de monócitos, utilizamos o padrão de dispersão de luz frontal (FSC, forward scatter) e lateral (SSC, side scatter), que fornecem informações proporcionais, respectivamente, ao tamanho e à granulosidade intracelular, permitindo a diferenciação das populações celulares. Os dados gerados pela dispersão da luz pelas células, foram representados em dot plot (gráfico de pontos).

Iniciamos com a seleção do *gate* singlet, do qual foi selecionada a região de monócitos através de dispersão de luz frontal (FSC) *versus* viabilidade celular com corante Live/Dead para exclusão de células mortas. A seguir foi realizada a identificação das três populações de monócitos através dos seus marcadores; monócitos clássicos CD14⁺CD16⁻ (MC), monócitos intermediários CD14⁺CD16⁺ (MI) e monócitos não clássicos CD14^{int}CD16⁺ (NC).

A partir da população dos monócitos também foram selecionadas as células que não exibiam marcador de célula mielóide madura como o HLA-DR (HLA-DR^{low/-}) para caracterizar as MDSC em nossa população de estudo e, a partir destas avaliamos a expressão

de CD33 e CD11b dentre as células HLA-DR^{-low} identificando as duas subpopulações distintas de MDSC, as CD33^{hi}CD11b⁺ e as CD33^{low}CD11b⁺, conforme representado na Figura 1

Figura 1- Estratégia de análise das subpopulações de células mieloides supressoras (MDSC) e monócitos, por citometria de fluxo.



Legenda: A- Singlet (FSC-A x FSC-H); B- Seleção da região de monócitos (FSC x Live/dead); C- Seleção das três subpopulações de monócitos: Monócitos clássicos CD14⁺CD16⁻ (MC), Monócitos intermediários CD14⁺CD16⁺ (MI) e Monócitos não clássicos CD14^{int}CD16⁺ (NC); D- Seleção de células HLA-DR^{low/-} (SSC x HLA-DR^{low/-}) e E- Seleção das duas subpopulações de MDSC: CD33^{hi}CD11b⁺ e CD33^{low}CD11b⁺.

Fonte: A autora, 2020.

3.2 Frequência das subpopulações de MDSCs nos pacientes e controles nos diferentes tempos vacinais.

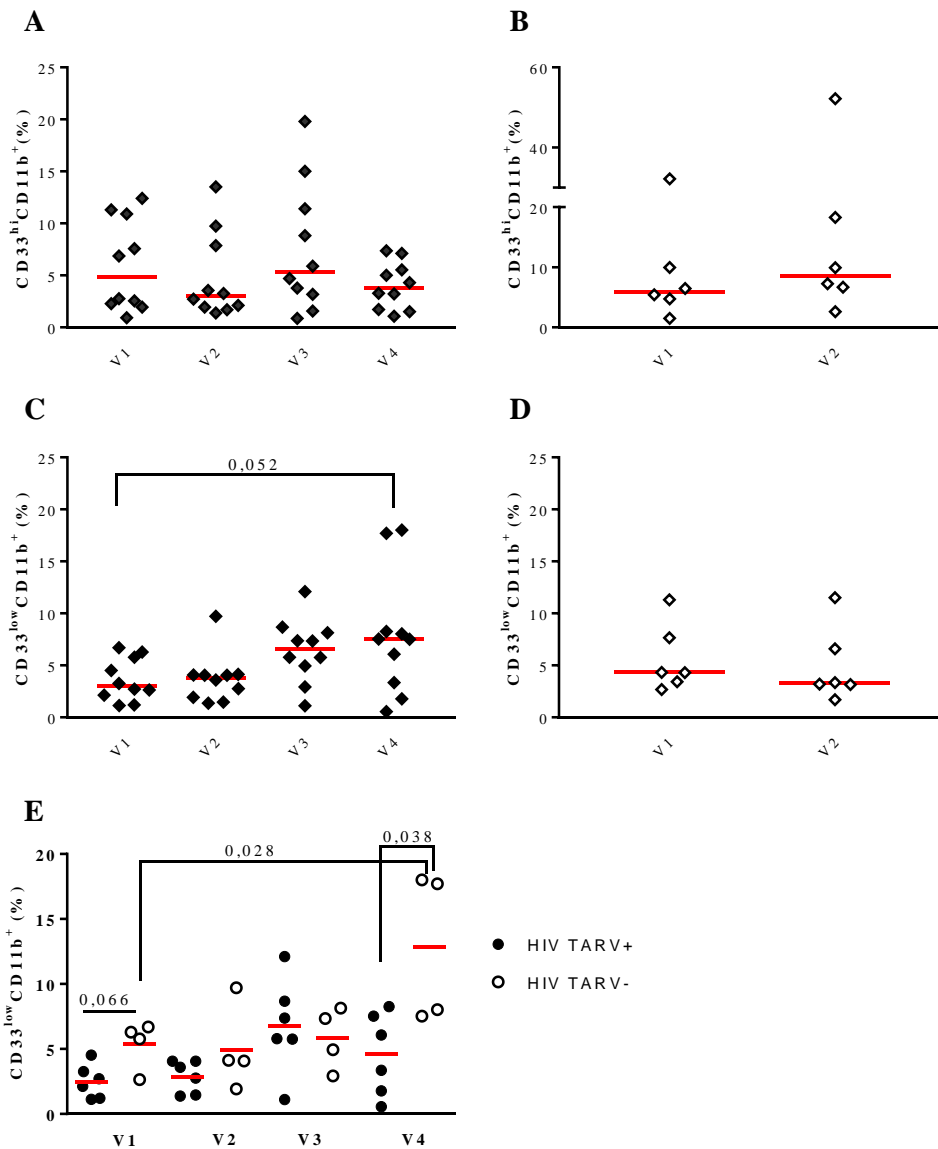
Avaliamos os pacientes HIV⁺ antes da imunização com a vacina conjugada contra o meningococo C (V1), 1-2 meses após (V2), 10-11 meses após a primeira dose (V3) e 1-2 meses após a dose reforço (V4). Nos indivíduos saudáveis avaliamos a frequência dessas células antes (V1) e após uma dose da mesma vacina (V2).

Entre os pacientes HIV⁺ não houve variação significativa na frequência da população CD33^{hi}CD11b⁺ nos diferentes tempos avaliados (Fig.2A). Entretanto, a população CD33^{low}CD11b⁺ exibiu uma tendência de aumento, em V3 e V4, quando comparado a antes da primeira dose em V1 (Fig. 2C).

Quando separamos os pacientes entre os que estavam sob TARV e sem TARV, observamos uma tendência para níveis superiores de MDSC CD33^{low}CD11b⁺ nos pacientes sem TARV, atingindo significância estatística somente após a 2^a dose da vacina (V4) (P=0,038). Pacientes sem TARV também demonstraram uma frequência maior destas células nas amostras V4 quando comparadas às amostras V1 (P=0,028, Fig. 2E).

Entre os controles não foi observada uma diferença significativa na frequência de ambas as populações de MDSC, dois meses após a 1^a dose da vacina (V2), quando em comparação à V1 (Fig. 2B e D). Não observamos diferença na frequência das subpopulações de MDSC entre pacientes e controles.

Figura 2 - Avaliação da frequência de MDSC antes e após a vacinação contra meningococo C.



Legenda: Pacientes (losangos fechados); controles (losangos abertos); pacientes HIV+ sob TARV (círculos fechados) e pacientes HIV+ sem TARV (círculos abertos).

A e B: MDSC CD33^{hi}CD11b⁺ entre pacientes e controles; C e D: MDSC CD33^{low}CD11b⁺ entre pacientes e controles e E: MDSC CD33^{low}CD11b⁺ entre pacientes HIV+ com e sem TARV.

Nota: As amostras de PBMC dos pacientes foram coletadas em V1, V2, V3 e V4, e dos controles foram coletadas em V1 e V2. As linhas vermelhas representam a mediana e os valores de P foram calculados usando o teste Mann-Whitney.

Fonte: A autora, 2020.

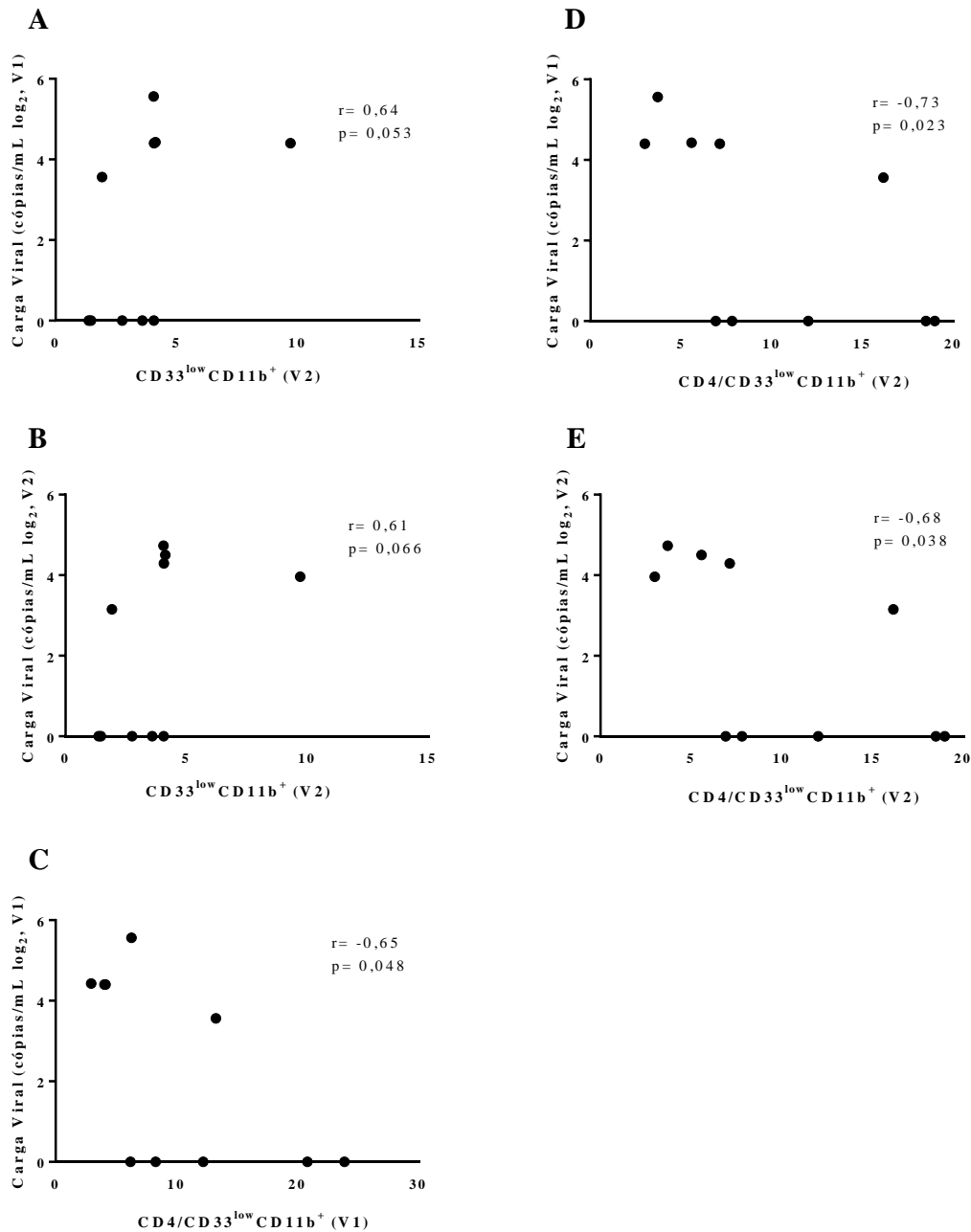
3.3 Associação entre carga viral e frequência de CD33^{low}CD11b⁺.

A frequência de células CD33^{low}CD11b⁺ observada após a 1ª dose da vacina (V2) apresentou uma correlação positiva mas não significativa ($r=0,64$, $P=0,053$) com a carga viral

dos pacientes antes da vacinação (V1) (Fig. 3A) bem como após a 1ª dose da vacina (V2) ($r=0,61$, $P=0,066$; Fig. 3B).

Em contraste, observamos uma correlação inversa e significativa entre a carga viral e a frequência da razão entre células T CD4 e MDCS CD33^{low}CD11b⁺ (CD4/CD33^{low}CD11b⁺), ambos em V1 ($r=-0,65$, $P=0,048$, Fig. 3C). Esta mesma correlação inversa e significativa se manteve na frequência da razão entre CD4/CD33^{low}CD11b⁺ em V2 e a carga viral antes (V1) e após a 1ª dose da vacina (V2) ($r=-0,73$, $P=0,023$; $r=-0,68$, $P=0,038$, respectivamente) (Fig. 3D,E).

Figura.3 - Correlação da frequência de células $CD33^{low}CD11b^{+}$ e da frequência da razão entre LT $CD4^{+}$ e MDCS $CD33^{low}CD11b^{+}$ com a carga viral.



Legenda: A e B: Frequência de células MDCS $CD33^{low}CD11b^{+}$ em V2 com a carga viral em V1 e em V2; C: Correlação da frequência da razão entre LT $CD4^{+}$ e MDCS $CD33^{low}CD11b^{+}$ com a carga viral (CV), ambos em V1; D e E: Correlação da frequência da razão entre LT $CD4^{+}$ e MDCS $CD33^{low}CD11b^{+}$ em V2 com a CV obtida em V1 e em V2.

Nota: Cada símbolo representa um indivíduo. As correlações foram obtidas a partir do coeficiente r de Spearman.

Fonte: A autora, 2020

3.4 Frequência das subpopulações de monócitos nos pacientes e controles nos diferentes tempos vacinais.

As frequências das subpopulações de monócitos clássicos CD14⁺CD16⁻, Intermediários CD14⁺CD16⁺ e Não Clássicos CD14^{int}CD16⁺ encontradas ao longo dos períodos de coleta, estão apresentadas na Tabela 2.

Tanto entre os pacientes HIV⁺ quanto nos controles, a subpopulação de monócitos clássicos foi a que apresentou maior frequência em relação as demais. Não houve variação significativa de cada subpopulação ao longo das avaliações e entre pacientes e controles. Observamos apenas um aumento transitório de monócitos não clássicos em V2 quando comparamos os pacientes sem TARV em relação aos indivíduos controle (P=0,038) e um aumento na frequência dos monócitos clássicos em V1 nos pacientes sem TARV, quando comparado aos tratados (P=0,038) (dados não mostrados).

Tabela 2 - Subpopulações de monócitos encontrados entre pacientes e controles

	Paciente HIV ⁺ (n=10)			Controle HIV ⁻ (n=6)		
	Monócitos Clássicos CD14 ⁺ CD16 ⁻	Monócitos Intermediários CD14 ⁺ CD16 ⁺	Monócitos Não Clássicos CD14 ^{int} CD16 ⁺	Monócitos Clássicos CD14 ⁺ CD16 ⁻	Monócitos Intermediários CD14 ⁺ CD16 ⁺	Monócitos Não Clássicos CD14 ^{int} CD16 ⁺
V1	31,3 (12,6-60,2)	3,24 (1,18-5,91)	4,02 (1,96-8,02)	49,9 (15,2-71)	3,44 (1,66-7,75)	3,02 (1,94 10,1)
V2	31,5 (20,1-54)	3,13(1,7-5,89)	4,54(1,57-8,55)	49,7 (19-73,6)	2,81 (1,38-8,3)	3,08(1,62-5,28)
V3	40,5 (14,1-51,2)	3,17 (0,42-7,32)	3,45 (1,26-9,56)	NA	NA	NA
V4	36,2 (11,7-64,5)	2,81(0,55-5,08)	4,57(1,55-6,66)	NA	NA	NA

Legenda: NA; não se aplica; V1:visita 1 (antes da vacinação); V2: visita2 (entre 1-2 meses após a 1^a dose); V3: visita 3 (antes da 2^a dose da vacina); V4: visita 4 (1-2 meses após2^a dose da vacina).

Nota: Os valores apresentados representam a mediana (mínimo-máximo).

Fonte: A autora, 2020.

3.5 Frequência de monócitos ativados entre as subpopulações de monócitos.

A ativação de monócitos foi avaliada através da expressão de CD163. De uma maneira geral, podemos observar uma maior frequência de monócitos clássicos expressando CD163,

seguido da população de monócitos intermediários e não clássicos tanto nos pacientes infectados pelo HIV quanto nos indivíduos saudáveis (Fig. 4).

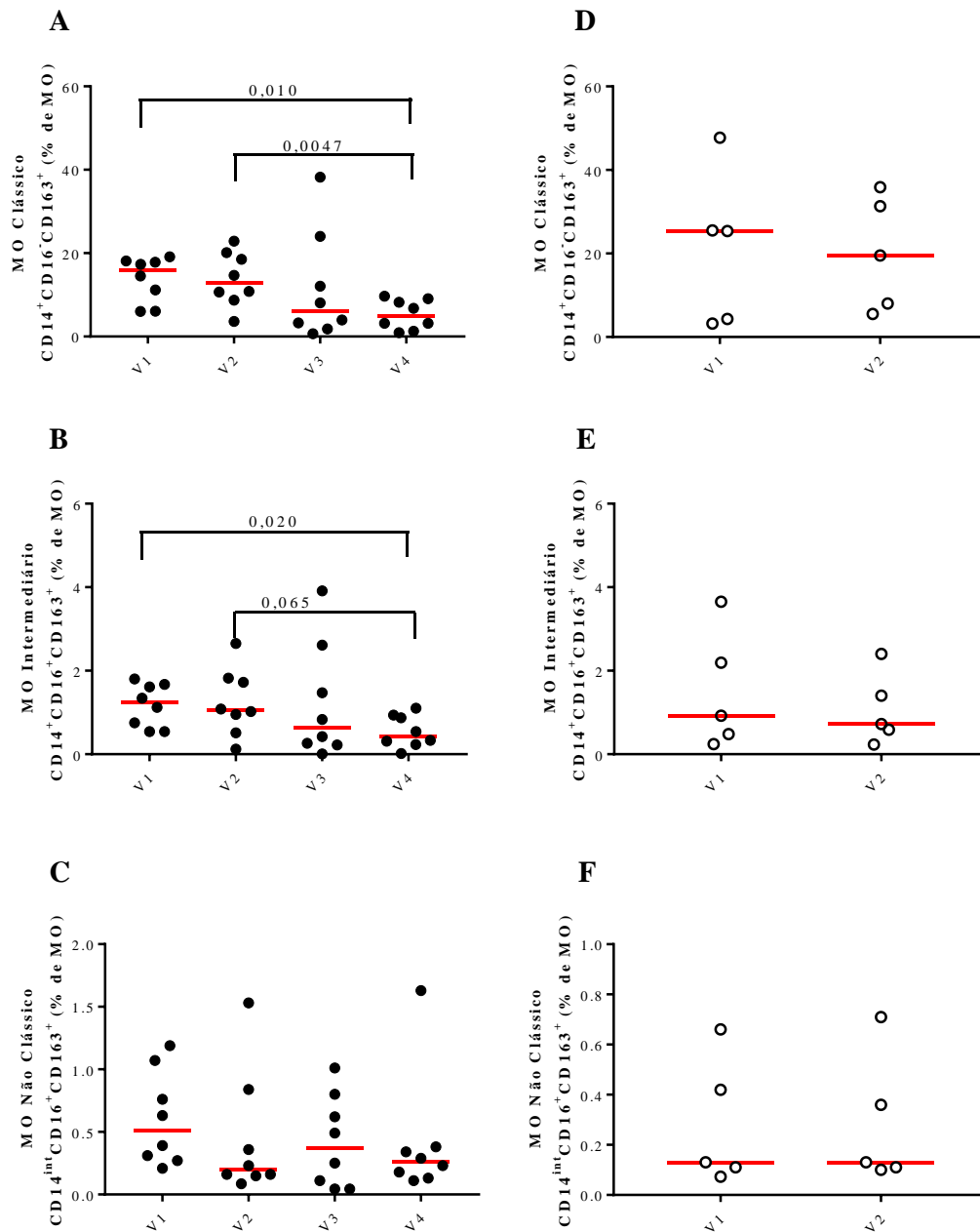
Ao analisar a frequência dos monócitos clássicos expressando CD163 ao longo dos tempos de coleta, foi observada uma redução significativa após a 2ª dose da vacina (V4) quando comparado à frequência antes da 1ª dose da vacina (V1, $P=0,010$), bem como quando comparado à frequência observada após a 1ª dose da vacina (V2, $P=0,0047$), conforme mostrado na Figura 4A.

Entre os monócitos intermediários CD163⁺, também foi verificada uma redução significativa após 2ª dose da vacina (V4) quando comparado à frequência observada antes da 1ª dose da vacina (V1, $P=0,020$). Também foi observado uma redução, porém não significativa, após a 2ª dose da vacina (V4), em relação à frequência observada após a 1ª dose da vacina (V2, $P=0,065$) (Fig. 4B).

Entre os monócitos Não Clássicos expressando CD163 não foi verificada variação significativa ao longo das avaliações (Fig. 4C).

No grupo dos controles HIV- (Figura 4 D-F), não foi observada diferenças significativas na frequência de nenhuma das subpopulações de monócitos expressando CD163 entre os períodos antes (V1) e após a 1ª dose da vacina (V2). Também não observamos nenhuma diferença quando comparamos a frequência das diferentes subpopulações de monócitos entre pacientes HIV+ e indivíduos saudáveis.

Figura 4 - Avaliação da frequência de monócitos CD163⁺ entre as subpopulações de monócitos Clássicos, Intermediários e Não Clássicos antes e após vacinação



Legenda: A, B e C: indivíduos HIV+ em símbolos fechados; D, E e F: controles HIV- em símbolos abertos.

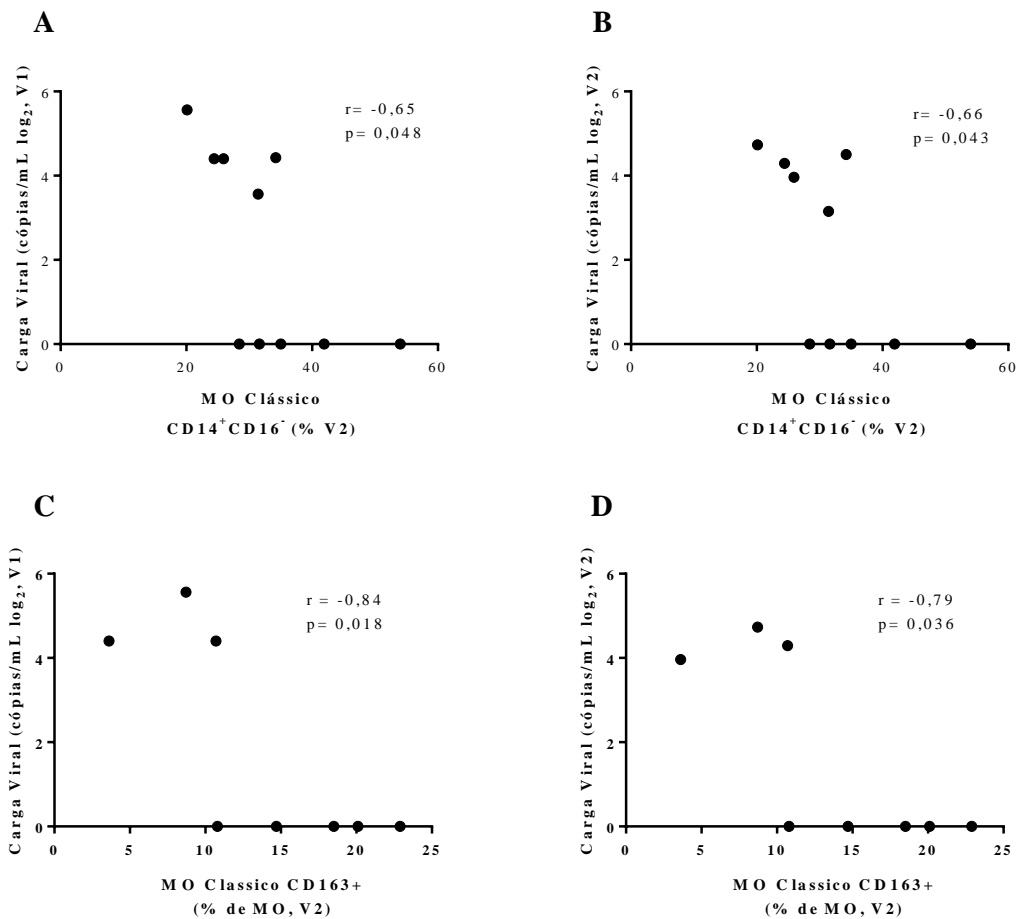
Nota: Amostras obtidas antes da 1^a dose da vacina (V1), entre 1-2 meses após 1^a dose da vacina (V2), entre 10-11 meses após 1^a dose (V3) e entre 1-2 meses após 2^a dose (V4). Medianas em linhas vermelhas e valores de P calculados usando o teste Mann-Whitney.

Fonte: A autora, 2020

3.6 As frequências de monócitos clássicos ativados ou não se correlacionam negativamente com a carga viral.

Observamos uma correlação inversa e significativa entre a frequência dos monócitos clássicos em V2 com a carga viral obtida tanto antes da vacinação (V1) ($r=-0,65$, $P=0,048$, Fig. 5A) quanto após a 1ª dose da vacina (V2) ($r=-0,66$, $P=0,043$, Fig. 5B). Os monócitos clássicos $CD163^+$ em V2 também exibiram correlação inversa e significativa com a carga viral tanto em V1 ($r=-0,84$, $P=0,018$, Fig. 5C) quanto em V2 ($r=-0,79$, $P=0,036$, Fig. 5D).

Figura.5 - Monócitos Clássicos e Monócitos Clássicos $CD163^+$ correlacionam-se negativamente com a carga viral.



Legenda: A e B: Monócitos Clássicos em V2 e a carga viral em V1 e em V2; C e D: Monócitos Clássicos $CD163^+$ em V2 e carga viral em V1 e em V2.

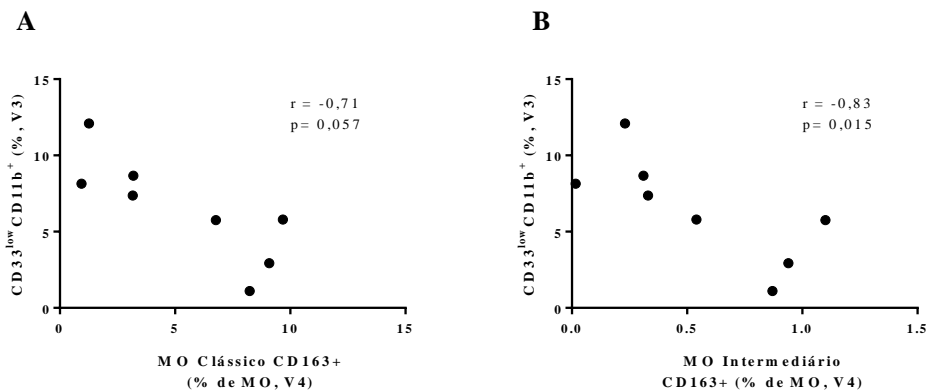
Nota: Cada símbolo representa um indivíduo. Tempos de coleta de carga viral e PBMC foram em V1 e entre 1-2 meses após 1ª dose da vacina (V2). Correlações obtidas a partir do coeficiente r de Spearman.

Fonte: A autora, 2020.

3.7 Monócitos clássicos ativados e monócitos intermediários ativados correlacionam-se negativamente com as MDSC CD33^{low}CD11b⁺

Observamos correlações negativas entre a frequência de MDSC CD33^{low}CD11b⁺ antes da dose reforço (V3) e a frequência de monócitos clássicos ativados e intermediários ativados ($r = -0,071$, $P=0,057$, Fig. 6A, e $r = -0,83$, $P= 0,015$, Fig. 6B, respectivamente), ambos após a dose reforço da vacina (V4).

Figura 6 - Células mieloides supressoras CD33^{low}CD11b⁺ correlacionam-se negativamente com a frequência de monócitos ativados.



Legenda: A e B: Células mieloides supressoras CD33^{low}CD11b⁺ em (V3) com monócitos clássicos ativados (A) e intermediários ativados (B), ambos em V4.

Nota: A ativação de monócitos clássicos CD14⁺CD16⁻ e intermediários CD14⁺CD16⁺ foi avaliada através da expressão de CD163. Cada símbolo representa um indivíduo. As correlações foram obtidas a partir do coeficiente r de Spearman.

Fonte: A autora, 2020.

3.8 Os monócitos Não Clássicos (CD14^{int}CD16⁺) correlacionam-se negativamente com os Títulos de Anticorpos Bactericidas (SBA) nos pacientes infectados pelo HIV.

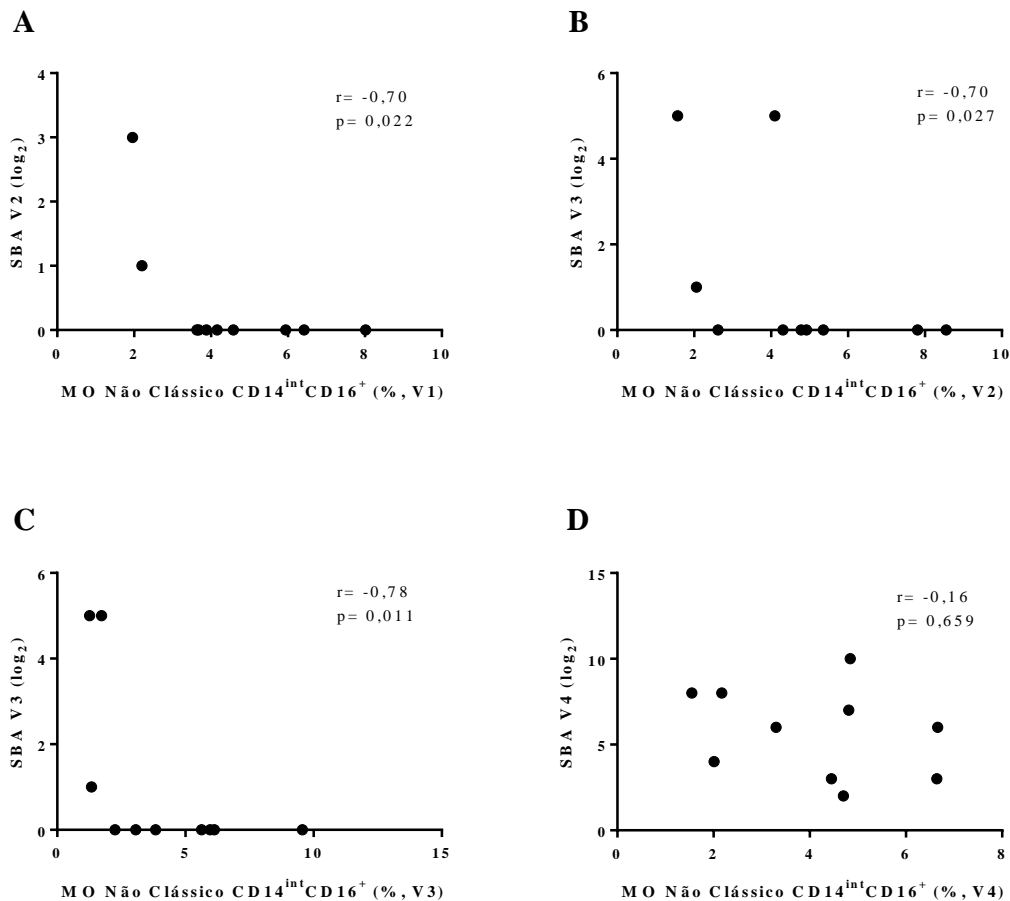
A frequência de monócitos não clássicos (CD14^{int}CD16⁺) obtidos antes da 1^a dose da vacina (V1) apresentou uma correlação inversa e significativa com os títulos de anticorpos bactericidas (SBA) obtidos após a 1^a dose da vacina (V2) ($r=-0,70$, $P=0,022$, Fig.7A).

Da mesma forma, a frequência de monócitos não clássicos em V2 apresentou correlação inversa e significativa com os títulos de SBA obtidos antes da 2^a dose da vacina (V3) ($r=-0,70$, $P=0,027$, Fig.7B). O mesmo foi observado com a frequência de monócitos (CD14^{int}CD16⁺) e SBA, ambos em V3 ($r=-0,78$, $P=0,011$, Fig.7C).

No entanto, após a 2ª dose da vacina observamos uma fraca correlação inversa e não significativa entre a frequência de monócitos não clássicos com os títulos de SBA obtidos nessa mesma visita (V4) ($r=-0,16$, $P=0,659$, Fig.7D). Não foi observada nenhuma correlação entre as subpopulações de monócitos e SBA entre os controles HIV-;

Entre os monócitos não clássicos $CD163^+$ observamos uma mesma tendência de correlação negativa, porém não significativa, com os títulos de SBA nos diferentes tempos vacinais avaliados (dados não mostrados).

Figura 7. Monócitos Não Clássicos ($CD14^{int}CD16^+$) correlacionam-se negativamente com os Títulos de Anticorpos Bactericidas (SBA) nos pacientes portadores do HIV.



Legenda: A: Monócitos Não-Clássicos ($CD14^{int}CD16^+$) em V1 e SBA em V2; B: Monócitos Não-Clássicos ($CD14^{int}CD16^+$) em V2 e SBA em V3; C: Monócitos Não-Clássicos ($CD14^{int}CD16^+$) e SBA, ambos em V3, e D: Monócitos Não-Clássicos ($CD14^{int}CD16^+$) e SBA, ambos em V4.

Nota: Cada símbolo representa um indivíduo. Amostras avaliadas obtidas antes da vacina (V1), entre 1-2 meses após 1ª dose da vacina (V2), entre 10-11 meses após 1ª dose (V3) e entre 1-2 meses após 2ª dose (V4). Correlações obtidas a partir do coeficiente r de Spearman.

Fonte: A autora, 2020.

4. DISCUSSÃO

Estudos mostram que a incidência da meningite bacteriana entre infectados pelo HIV é maior do que em indivíduos saudáveis e tem sido demonstrada como fator de risco para o aumento da mortalidade, especialmente entre crianças menores que 5 anos. Embora exista uma rotina de vacinação contra o meningococo e comprovada eficácia de proteção entre indivíduos saudáveis, as respostas vacinais não são completas entre os indivíduos HIV+ (BERTOLINI et al., 2012).

Nestes pacientes HIV+, a TARV pode diminuir a carga viral e aumentar a resposta elicitada pela imunização, conforme demonstrado em estudos de BERTOLINI et al., 2012 e SIBERRY, em 2013 e 2014. Mas apesar da supressão viral com o uso da TARV, permanecem evidências de ativação imune e inflamação crônica nos pacientes HIV+ (BOOIMAN et al., 2017; CHEN et al., 2017). Uma destas evidências descritas na literatura é a presença de subgrupos específicos de células mieloides imaturas com característica imunossupressora, chamadas MDSCs (VEGLIA; PEREGO; GABRILOVICH, 2018; BRONTE et al., 2016). Por outro lado, a maioria dos estudos se concentram na ativação de linfócitos, mas poucos apontam a importância da ativação de células da imunidade inata como os monócitos. Neste sentido, buscamos caracterizar as diferentes subpopulações de MDSC e monócitos em indivíduos infectados pelo HIV e vacinados contra o meningococo C em uma tentativa de aumentar o entendimento sobre a resposta vacinal nestes pacientes.

A literatura aponta que a redução da contagem de células T CD4 e aumento da carga viral nos pacientes HIV+ estão correlacionados com a presença das MDSCs no sangue periférico destes pacientes (CLOKE et al., 2012, 2010; LEI et al., 2016; QIN et al., 2013; VEGLIA; PEREGO; GABRILOVICH, 2019; VOLLBRECHT et al., 2012).

Em nosso estudo pesquisamos a presença das subpopulações de MDSC através da expressão de CD33 e CD11b dentre as células HLA-DR^{-low} nos pacientes HIV+ e controles antes e após a vacinação contra o meningococo C. As MDSCs podem apresentar duas subpopulações; a população CD33^{low}CD11b⁺ que corresponde à linhagem granulocítica e a população CD33^{hi}CD11b⁺ que corresponde à linhagem monocítica (LIU et al., 2018; PAL et al., 2019). Devido a problemas técnicos, não conseguimos aprofundar a classificação das populações de MDSC de acordo com a expressão de CD14 e CD15.

Conforme esperado não houve variação nas duas subpopulações de MDSCs após a 1ª dose da vacina quando comparado ao período anterior, entre os controles saudáveis. A subpopulação monocítica também não apresentou variação ao longo dos diferentes tempos

vacinais entre os pacientes HIV+. Da mesma forma não encontramos variação significativa tanto na frequência da população monocítica quanto da granulocítica entre a coorte HIV+ quando comparada aos controles negativos. Como nosso grupo de pacientes HIV+ em sua maioria estava sob TARV, isso poderia explicar a ausência de uma frequência maior dessas células em nossos pacientes em relação aos HIV-. Porém QIN et al., 2013, após seguimento de pacientes HIV+ entre 16 e 60 anos, sob uso de TARV durante 84 semanas, observou que a frequência das M-MDSC permaneceu maior nos HIV+ em relação aos HIV-, mesmo após atingida redução da carga viral e da frequência da M-MDSC, sugerindo que a TARV não foi capaz de restituir a normalização das MDSCs.

No entanto, entre nossos pacientes que não estavam sob TARV, a população de PMN-MDSC apresentou aumento após a 2ª dose da vacina em relação à frequência basal, e também em relação aos tratados após a 2ª dose da vacina contrapondo o observado por Tumino et al., 2015, que não verificou diferença na frequência desta população entre tratados e não tratados.

Diferentes trabalhos mostram uma correlação inversa entre frequência de MDSC e contagem de células CD4+ e, por outro lado, uma correlação positiva com a carga viral nos pacientes HIV+, sugerindo correlação com a progressão da doença (QIN et al., 2013; VOLLBRECHT et al., 2012; ZHANG et al., 2017). Em nosso trabalho também observamos que a população PMN-MDSC em V2 se correlacionou positivamente com a carga viral. Apesar de não termos obtido correlação entre MDSC e células T CD4, evidenciamos uma correlação negativa entre a frequência da razão de células T CD4/PMN-MDSC em V2 com a carga viral mostrando que, conforme a razão diminui, ocorre um aumento da carga viral, sugerindo que existe um desbalanço entre PMN-MDSC e a frequência de CD4, o que pode estar relacionado com a progressão da doença.

Outra população de células mieloides que da mesma forma que as MDSCs também se encontra correlacionada com o estado inflamatório são os monócitos. Os monócitos se subdividem em subpopulações baseados na diferença de expressão dos marcadores CD14 e CD16 em clássicos CD14⁺CD16⁻, intermediários CD14⁺CD16⁺, e não clássicos CD14^{int}CD16⁺. Segundo Han et al., 2009 a desregulação entre os subgrupos de monócitos em indivíduos HIV+ pode contribuir para a persistência da ativação imune ou para uma imunorregulação negativa. Os subgrupos de monócitos intermediário e não clássico já foram encontrados aumentados na infecção pelo HIV (WONG et al., 2012) e estão aumentados em pacientes sem TARV quando comparado com controles HIV- (HAN et al., 2009).

Não encontramos diferenças entre pacientes e controles, em nenhuma das subpopulações de monócitos, conforme observado por McCausland et al (2015), que avaliou

pacientes HIV+ sob TARV (MCCAUSLAND et al., 2015). A infecção pelo HIV promove a expansão de monócitos CD14⁺CD16⁺ e CD14^{low}CD16⁺, através de mecanismos que podem ser direcionados pela própria replicação viral (ELLERY et al., 2007; HAN et al., 2009; PRABHU et al., 2019). Entretanto, como a maioria dos pacientes que compuseram nosso estudo estavam sob TARV e com carga viral suprimida, este fato poderia explicar a ausência do aumento destes monócitos em nossa coorte.

A ativação celular é uma característica da infecção pelo HIV. Avaliamos a frequência de monócitos ativados através da expressão de CD163. A ativação celular foi observada principalmente entre os monócitos clássicos, seguidos da população de monócitos intermediários e não clássicos, tanto nos pacientes infectados pelo HIV quanto nos indivíduos saudáveis. Resultados similares foram descritos por Tippett e colaboradores (2011). No entanto, nós não observamos nenhuma diferença quando comparamos a frequência das diferentes subpopulações de monócitos ativados entre pacientes HIV+ e indivíduos saudáveis, ao contrário de Tippett que encontrou maior frequência de monócitos intermediários ativados entre os pacientes HIV+ quando comparado aos controles negativos (TIPPETT et al., 2011).

Entretanto, foi observada uma redução significativa após a 2^a dose da vacina (V4) na frequência dos monócitos clássicos e intermediários ativados (CD163+) quando comparado à frequência antes da 1^a dose da vacina (V1), bem como quando comparado à frequência observada após a 1^a dose da vacina (V2) nos pacientes HIV+.

Essa redução na frequência de monócitos ativados, tanto clássicos quanto intermediários, coincidem com redução da carga viral (mediana de 1811, 709, 622,5 cópias/mL em V1, V2 e V3, respectivamente), o que poderia explicar a redução dos monócitos ativados (CHEN et al., 2017; PRABHU et al., 2019). Outra hipótese a ser considerada é a expansão das PMN-MDSC observada em V3 e V4 que poderiam estar suprimindo a ativação dos monócitos através da supressão de células T ou indução de células Treg.

Ao analisarmos a relação de monócitos clássicos e monócitos clássicos ativados com a carga viral observamos uma correlação inversa e significativa, conforme previamente observado (FISCHER-SMITH; TEDALDI; RAPPAPORT, 2008). Diferentes trabalhos têm mostrado o papel dos monócitos intermediários na patogênese do HIV, onde eles se correlacionam positivamente com a carga viral e negativamente com a contagem de células T CD4+, em alguns casos isso é evidenciado antes do uso de TARV (CHEN et al., 2017; HAN et al., 2009). Conforme descrito anteriormente, alguns dos pacientes avaliados neste trabalho estavam sob TARV com carga viral suprimida, o que pode justificar a ausência de correlações positivas entre monócitos intermediários com a carga viral em nosso estudo.

Interessantemente, os monócitos Não Clássicos (CD14^{int}CD16⁺) tanto antes (V1) quanto após a vacina (V2), bem como antes da dose reforço (V3), se correlacionaram inversa e significativamente com os Títulos de Anticorpos Bactericidas (SBA) dos pacientes infectados pelo HIV de após 1^a dose da vacina (V2) bem como de antes da dose reforço (V3). Somente após a 2^a dose da vacina observamos uma fraca correlação inversa, e não significativa entre a frequência de monócitos não clássicos com os títulos de SBA obtidos nessa mesma visita.

Os dados na literatura apontam que em pacientes HIV+ a frequência de monócitos não clássicos se correlaciona positivamente com a frequência de células T CD4⁺ produtoras de IFN- γ e TNF- α enquanto que a frequência de monócitos intermediários correlaciona-se positivamente com a frequência de células T CD4⁺ produtoras de IL-4 (CHEN et al., 2017). De forma interessante, nosso grupo observou anteriormente uma correlação positiva entre a concentração de IL-4, uma citocina importante para o desenvolvimento do centro germinativo, e os níveis de SBA em pacientes portadores do HIV após imunização contra o meningococo C (MILAGRES et al., 2018). A infecção *in vitro* de células CD14⁺ pelo vírus da dengue promoveu a expansão de monócitos intermediários capazes de estimular a proliferação de células B, induzindo sua diferenciação em plasmablastos secretores de IgG e IgM (KWISSA et al., 2014). Estes resultados sugerem que os monócitos intermediários podem auxiliar em uma resposta eficiente de anticorpos. Por outro lado, monócitos intermediários ativados se correlacionaram negativamente com a resposta de anticorpos após imunização contra influenza em pacientes portadores do HIV (GEORGE et al., 2018).

No entanto, não há relatos na literatura mostrando o comportamento da subpopulação de monócitos não clássicos na resposta vacinal, necessitando de maiores investigações para definir qual o seu papel na resposta de anticorpos.

Nossos resultados apontaram correlações importantes sugerindo um papel de destaque das MDSC e de monócitos na resposta vacinal, embora tenhamos tido limitações pela heterogeneidade individual e pelo modesto tamanho de nossa amostragem. Como visto anteriormente, alguns estudos demonstram a importância de marcadores de ativação e anormalidades entre as subpopulações de monócitos na patogênese da infecção pelo HIV mesmo sob TARV, e nosso grupo pretende continuar as investigações dosando citocinas e CD163 solúvel no soro destes pacientes, em uma tentativa de complementar nosso entendimento sobre a relação do excesso de ativação e a baixa resposta vacinal após a primeira dose da vacina (FROTA, 2015 e 2017).

CONCLUSÕES

- A população de M-MDSC não apresentou variação significativa nos diferentes tempos avaliados entre os pacientes HIV+
- Após a 2ª dose da vacina observamos maior frequência da população de PMN-MDSC nos pacientes sem TARV em relação aos pacientes tratados.
- A frequência de células PMN-MDSC detectada após a 1ª dose da vacina apresentou correlação positiva com a carga viral basal e após a vacinação.
- A frequência da razão de células TCD4 e PMN-MDSC apresentou correlação inversa e significativa com a carga viral antes e após uma dose da vacina.
- Não houve variação significativa de cada subpopulação de monócitos ao longo das avaliações e entre pacientes e controles.
- Tanto entre pacientes HIV+ quanto nos controles a subpopulação de monócitos clássicos foi a que apresentou maior frequência em relação às demais.
- Entre os monócitos ativados (CD163+) foi encontrada maior frequência de monócitos clássicos, seguido da população de monócitos intermediários e não clássicos tanto nos pacientes infectados pelo HIV quanto dos indivíduos saudáveis.
- A frequência dos monócitos clássicos ativados e intermediários ativados foi menor após a 2ª dose da vacina tanto em relação à frequência antes quanto após a 1ª dose da vacina.
- A frequência dos monócitos clássicos e monócitos clássicos ativados obtidos após a 1ª dose da vacina apresentou correlação inversa e significativa com a carga viral tanto de antes, quanto de após a 1ª dose da vacina.
- A frequência de PMN-MDSC obtida antes da dose reforço se correlacionou negativamente com a frequência de monócitos clássicos e intermediários ativados após a dose reforço da vacina.
- A frequência de monócitos não clássicos (CD14^{int}CD16⁺) apresentou uma correlação inversa e significativa com os títulos de anticorpos bactericidas (SBA) nos diferentes tempos avaliados.

REFERÊNCIAS

- ACEVEDO, R. et al. The Global Meningococcal Initiative meeting on prevention of meningococcal disease worldwide: Epidemiology, surveillance, hypervirulent strains, antibiotic resistance and high-risk populations. **Expert Review of Vaccines** Taylor and Francis Ltd, , 2 jan. 2019. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30526162>>. Acesso em: 16 fev. 2020
- AGRATI, C. et al. Myeloid derived suppressor cells expansion persists after early art and may affect CD4 T cell recovery. **Frontiers in Immunology**, v. 10, n. AUG, p. 1–10, 2019.
- ALI, A. et al. Global practices of meningococcal vaccine use and impact on invasive disease **Pathogens and Global Health. Taylor & Francis**, , jan. 2014.
- ANBAZHAGAN, K. et al. Transcriptomic network support distinct roles of classical and non-classical monocytes in human **International. Reviews of Immunology** Informa Healthcare, , 2 nov. 2014.
- ANCUTA, P. et al. Fractalkine preferentially mediates arrest and migration of CD16+ monocytes. **Journal of Experimental Medicine**, v. 197, n. 12, p. 1701–1707, 16 jun. 2003.
- ANDRADE, A. L. et al. Impact of meningococcal C conjugate vaccination four years after introduction of routine childhood immunization in Brazil. **Vaccine**, v. 35, n. 16, p. 2025–2033, 11 abr. 2017.
- ARRUDA, M. B. et al. Brazilian network for HIV drug resistance surveillance (HIV-BresNet): A survey of treatment-naïve individuals. **Journal of the International AIDS Society**, v. 21, n. 3, p. 1–8, 2018.
- AUFFRAY, C. et al. Monitoring of blood vessels and tissues by a population of monocytes with patrolling behavior. **Science**, v. 317, n. 5838, p. 666–670, 3 ago. 2007.
- BALASUBRAMANIAM, M.; PANDHARE, J.; DASH, C. Immune Control of HIV. **JoLS, Journal of Life Sciences**, v. 1, n. 1, 1 jun. 2019.
- BERTOLINI, D. V. et al. Immunogenicity of a meningococcal serogroup C conjugate vaccine in HIV-infected children, adolescents, and young adults. **Vaccine**, v. 30, n. 37, p. 5482–5486, 10 ago. 2012.
- BISSEL, S. J. et al. Longitudinal analysis of activation markers on monocyte subsets during the development of simian immunodeficiency virus encephalitis. **Journal of Neuroimmunology**, v. 177, n. 1–2, p. 85–98, ago. 2006.
- BOOIMAN, T. et al. High cellular monocyte activation in people living with human immunodeficiency virus on combination antiretroviral therapy and lifestyle-matched controls is associated with greater inflammation in cerebrospinal fluid. **Open Forum Infectious Diseases**, v. 4, n. 3, p. 1–11, 2017.
- BOUCHON, A.; DIETRICH, J.; COLONNA, M. Cutting Edge: Inflammatory Responses Can

Be Triggered by TREM-1, a Novel Receptor Expressed on Neutrophils and Monocytes. **The Journal of Immunology**, v. 164, n. 10, p. 4991–4995, 15 maio 2000.

BOWERS, N. L., SCOTT HLTON, E., HUIJBREGTS, R. P. H., GOEPFERT, P. A., HEATH, S. L., HEL, Z. (2014). *Immune Suppression by Neutrophils in HIV-1 Infection: Role of PD-L1/PD1 Pathway*. **PLoS Pathog** 10(3):e1003993. Editor: <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1003993>

BRONTE, V. et al. Recommendations for myeloid-derived suppressor cell nomenclature and characterization standards. **Nature Communications**, v. 7, 2016.

BRUGER, A. M. et al. How to measure the immunosuppressive activity of MDSC: assays, problems and potential solutions. **Cancer Immunology, Immunotherapy**, v. 0, [s.d.].

BUECHLER, C. et al. Regulation of scavenger receptor CD163 expression in human monocytes and macrophages by pro- and antiinflammatory stimuli. **Journal of Leukocyte Biology**, v. 67, n. 1, p. 97–103, 2000.

CAUGANT, D. A.; MAIDEN, M. C. J. Meningococcal carriage and disease-Population biology and evolution. **Vaccine**, v. 27, n. SUPPL. 2, p. B64, 24 jun. 2009.

CHEN, P. et al. Perturbations of monocyte subsets and their association with T helper cell differentiation in acute and chronic HIV-1-infected patients. **Frontiers in Immunology**, v. 8, n. MAR, mar. 2017.

CHUN, T. W. et al. Presence of an inducible HIV-1 latent reservoir during highly active antiretroviral therapy. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 94, n. 24, p. 13193–13197, 25 nov. 1997.

CLOKE, T. et al. Characterization of a Novel Population of Low-Density Granulocytes Associated with Disease Severity in HIV-1 Infection. **PLoS ONE**, v. 7, n. 11, 13 nov. 2012.

CLOKE, T. E. et al. Increased Level of Arginase Activity Correlates with Disease Severity in HIV-Seropositive Patients. **The Journal of Infectious Diseases**, v. 202, n. 3, p. 374–385, ago. 2010.

CORDEIRO, S. M. et al. Dissemination of the ST-103 clonal complex serogroup C meningococci in Salvador, Brazil. **Microbes and Infection**, v. 20, n. 1, p. 19–24, 1 jan. 2018.

COUREUIL, M. et al. Mechanism of meningeal invasion by *Neisseria meningitidis*. 2012.

COUREUIL, M. et al. Pathogenesis of meningococemia. **Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine**, v. 3, n. 6, jun. 2013.

CRUM-CIANFLONE, N.; SULLIVAN, E. Meningococcal Vaccinations Infectious Diseases and Therapy. **Springer Healthcare**, , 1 jun. 2016.

DAMUZZO, V. et al. Complexity and challenges in defining myeloid-derived suppressor cells Cytometry Part B - Clinical Cytometry. **John Wiley and Sons Inc.**, , 1 mar. 2015.

DE LEMOS, A. P. S. et al. Clonal distribution of invasive *Neisseria meningitidis* serogroup C strains circulating from 1976 to 2005 in greater São Paulo, Brazil. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 45, n. 4, p. 1266–1273, 2007.

DEL CORNO, M. et al. HIV-1 gp120 Activates the STAT3/Interleukin-6 Axis in Primary Human Monocyte-Derived Dendritic Cells. **Journal of Virology**, v. 88, n. 19, p. 11045–11055, 1 out. 2014.

DEPARTAMENT OF HEALTH AND HUMAN SERVICES. Panel on Antiretroviral Guidelines for Adults and Adolescents. Guidelines for the Use of Antiretroviral Agents in Adults and Adolescents with HIV. **Department of Health and Human Services**. Available at: <http://www.aidsinfo.nih.gov/ContentFiles/AdultandAdolescentGL.pdf>. Accessed em 20 janeiro 2020a

DEPARTAMENT OF HEALTH AND HUMAN SERVICES. Panel on Treatment of Pregnant Women with HIV Infection and Prevention of Perinatal Transmission. Recommendations for Use of Antiretroviral Drugs in Transmission in the United States. Available at: <http://aidsinfo.nih.gov/contentfiles/lvguidelines/PerinatalGL.pdf>. Accessed em 20 de janeiro 2020b

DEVOE, I. W. The meningococcus and mechanisms of pathogenicity. **Microbiological reviews**, v. 46, n. 2, p. 162–90, jun. 1982.

DIAZ-MONTERO, M. et al. Increased circulating myeloid-derived suppressor cells correlate with clinical cancer stage, metastatic tumor burden, and doxorubicin-cyclophosphamide chemotherapy. **Cancer Immunol Immunother**, v. 58, n. 1, p. 49–59, 2009.

DORHOI, A. et al. MDSCs in infectious diseases: regulation, roles, and readjustment. **Cancer Immunology, Immunotherapy**, v. 68, n. 4, p. 673–685, 2019.

DOUEK, D. C.; PICKER, L. J.; KOUP, R. A. T CELL DYNAMICS IN HIV-1 INFECTION. **Annu. Rev. Immunol**, v. 21, p. 265–304, 2003.

DOWER, K. et al. Innate Immune Responses to TREM-1 Activation: Overlap, Divergence, and Positive and Negative Cross-Talk with Bacterial Lipopolysaccharide. **The Journal of Immunology**, v. 180, n. 5, p. 3520–3534, 1 mar. 2008.

DRABCZYK-PLUTA, M. et al. Granulocytic myeloid-derived suppressor cells suppress virus-specific CD8+ T cell responses during acute Friend retrovirus infection. **Retrovirology**, v. 14, n. 1, 23 ago. 2017.

DRAKE, A. L. et al. Retest and treat: a review of national HIV retesting guidelines to inform elimination of mother-to-child HIV transmission (EMTCT) efforts. **Journal of the International AIDS Society. John Wiley and Sons Inc.**, 1 abr. 2019. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30958644>. Acesso em: 16 fev. 2020

DROSS, S. E. et al. Kinetics of Myeloid-Derived Suppressor Cell Frequency and Function during Simian Immunodeficiency Virus Infection, Combination Antiretroviral Therapy, and Treatment Interruption. **The Journal of Immunology**, v. 198, n. 2, p. 757–766, 15 jan. 2017.

- DULL, T. et al. A Third-Generation Lentivirus Vector with a Conditional Packaging System. **Journal of Virology**, v. 72, n. 11, p. 8463–8471, 1998.
- E, F.-B. et al. HIV Virology and Pathogenetic Mechanisms of Infection: A Brief Overview. **Annali dell'Istituto superiore di sanita**, v. 46, n. 1, 2010.
- ELLERY, P. J. et al. The CD16 + Monocyte Subset Is More Permissive to Infection and Preferentially Harbors HIV-1 In Vivo . **The Journal of Immunology**, v. 178, n. 10, p. 6581–6589, 2007.
- ENGELMAN, A.; CHEREPANOV, P. The structural biology of HIV-1: mechanistic and therapeutic insights. **Nat Rev Microbiol.** v.10, n.4, p.279–290. Published 2012 Mar 16
- EPELMAN, S.; LAVINE, K. J.; RANDOLPH, G. J. Origin and Functions of Tissue Macrophages. **Immunity.** v.41, n.1, p. 21–35. 2014.
- FABRIEK, B. O. et al. The macrophage scavenger receptor CD163 functions as an innate immune sensor for bacteria. **Blood**, v. 113, n. 4, p. 887–892, 2009
- FANALES-BELASIO, E. et al. HIV Virology and Pathogenetic Mechanisms of Infection: A Brief Overview. **Annali dell'Istituto superiore di sanita**, v. 46, n. 1, 2010.
- FENWICK, C. et al. T-cell exhaustion in HIV infection **Immunological Reviews.** **Blackwell Publishing Ltd**, , 1 nov. 2019.
- FIGUEROA, J. E.; DENSEN, P. Infectious diseases associated with complement deficiencies. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 4, n. 3, p. 359–395, 1991.
- FISCHER-SMITH, T.; TEDALDI, E. M.; RAPPAPORT, J. CD163/CD16 co-expression by circulating monocytes/ macrophages in HIV: potential biomarkers for HIV infection and AIDS progression HHS Public Access. **AIDS Res Hum Retroviruses**, v. 24, n. 3, p. 417–421, 2008.
- FOELL, D.; ROTH, J. Proinflammatory S100 proteins in arthritis and autoimmune disease. **Arthritis and Rheumatism**, dez. 2004.
- FOELL, D. et al. S100 proteins expressed in phagocytes: a novel group of damage-associated molecular pattern molecules. **Journal of Leukocyte Biology**, v. 81, n. 1, p. 28–37, jan. 2007.
- FONJUNGO, P. N. et al. Ensuring quality: A key consideration in scaling-up HIV-related point-of-care testing programs. **AIDS**, v. 30, n. 8, p. 1317–1323, 15 maio 2016.
- FORD, N. et al. Managing Advanced HIV Disease in a Public Health Approach. **Clinical Infectious Diseases**, v. 66, n. suppl_2, p. S106–S110, 4 mar. 2018.
- FRANKENBERGER, M. et al. Differential cytokine expression in human blood monocyte subpopulations: A polymerase chain reaction analysis. **Blood**, v. 87, n. 1, p. 373–377, 1 jan. 1996.

FRINGS, W.; DREIER, J.; SORG, C. Only the soluble form of the scavenger receptor CD163 acts inhibitory on phorbol ester-activated T-lymphocytes, whereas membrane-bound protein has no effect. **FEBS Letters**, v. 526, n. 1–3, p. 93–96, 2002.

FROTA, A. C. C. et al. Immunogenicity and safety of Meningococcal C conjugate vaccine in children and adolescents infected and uninfected with HIV in Rio de Janeiro, Brazil. **Pediatric Infectious Disease Journal**, v. 34, n. 5, p. e113–e118, 21 maio 2015.

FROTA, A. C. C. et al. Safety and immune response after two-dose meningococcal C conjugate immunization in HIV-infected children and adolescents in Rio de Janeiro, Brazil. **Vaccine**, v. 35, n. 50, p. 7042–7048, 2017.

GABRILOVICH, D. I.; NAGARAJ, S.; LEE, H. Myeloid-derived-suppressor cells as regulators of the immune system. **Nat Rev Immunol**. 2009;9(3):162–174. doi:10.1038/nri2506

GABRILOVICH, D. I. Myeloid-derived suppressor cells. **Cancer immunology research** vol. 5,1 (2017): 3-8. doi:10.1158/2326-6066.CIR-16-0297

GALLINA, G. et al. Tumors induce a subset of inflammatory monocytes with immunosuppressive activity on CD8+ T cells. **Journal of Clinical Investigation**, v. 116, n. 10, p. 2777–2790, 2 out. 2006.

GARG, A.; SPECTOR, S. A. HIV Type 1 gp120-Induced Expansion of Myeloid Derived Suppressor Cells Is Dependent on Interleukin 6 and Suppresses Immunity. **Journal of Infectious Diseases**, v. 209, n. 3, p. 441–451, 2014.

GEORGE, V. K. et al. Circulating inflammatory monocytes contribute to impaired influenza vaccine responses in HIV-infected participants. **AIDS**, v. 32, n. 10, p. 1219–1228, 19 jun. 2018.

GINHOUX, F.; JUNG, S. Monocytes and macrophages: Developmental pathways and tissue homeostasis **Nature Reviews Immunology** Nature Publishing Group, , 2014.

GIOIA, C. A. C. et al. Seroprevalence of bactericidal antibodies against serogroup B and C Meningococci in a University Hospital. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 50, n. 5, 2017.

GIORGI, J. V. et al. Shorter Survival in Advanced Human Immunodeficiency Virus Type 1 Infection Is More Closely Associated with T Lymphocyte Activation than with Plasma Virus Burden or Virus Chemokine Coreceptor Usage. **The Journal of Infectious Diseases**, v. 179, n. 4, p. 859–870, abr. 1999.

GORDON, S. N. et al. Disruption of Intestinal CD4 + T Cell Homeostasis Is a Key Marker of Systemic CD4 + T Cell Activation in HIV-Infected Individuals . **The Journal of Immunology**, v. 185, n. 9, p. 5169–5179, 1 nov. 2010.

GOLDSCHNEIDER, I.; GOTSCHLICH, E. C.; ARTENSTEIN, M. S. Human immunity to the meningococcus. I. The role of humoral antibodies. **J Exp Med**, v. 129, n. 6, p. 1307-1326, 1969a.

GRETEN, T. F.; MANN, M. P.; KORANGY, F. Myeloid derived suppressor cells in human diseases NIH Public Access. **Int Immunopharmacol**, v. 11, n. 7, p. 802–807, 2011.

GRIFFISS, J. M. Bactericidal activity of meningococcal antisera. Blocking by IgA of lytic antibody in human convalescent sera. **Journal of immunology**, v.114, n.6, p.1779—1784, 1975.

HAN, J. et al. CD14^{high}CD16⁺ rather than CD14^{low}CD16⁺ monocytes correlate with disease progression in chronic HIV-infected patients. **Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes**, v. 52, n. 5, p. 553–559, 2009.

HARRISON, L. H. et al. Population Structure and Capsular Switching of Invasive *Neisseria meningitidis* Isolates in the Pre–Meningococcal Conjugate Vaccine Era—United States, 2000–2005 . **The Journal of Infectious Diseases**, v. 201, n. 8, p. 1208–1224, 15 abr. 2010.

HASHIMOTO, D. et al. Tissue-resident macrophages self-maintain locally throughout adult life with minimal contribution from circulating monocytes. **Immunity**, v. 38, n. 4, p. 792–804, 18 abr. 2013.

HAVERKAMP, J. M. et al. Myeloid-derived suppressor activity is mediated by monocytic lineages maintained by continuous inhibition of extrinsic and intrinsic death pathways. **Immunity**, v. 41, n. 6, p. 947–959, 18 dez. 2014.

HEIZMANN, C. W. S100 proteins structure functions and pathology. **Frontiers in Bioscience**, v. 7, n. 4, p. A846, 2002.

HILL, D. J. et al. Cellular and molecular biology of *Neisseria meningitidis* colonization and invasive disease. **Clinical Science**, 2010.

HUANG, Z.-Y. et al. Interaction of Two Phagocytic Host Defense Systems Fc RECEPTORS AND COMPLEMENT RECEPTOR 3. 2010.

HULME, A. E. et al. Identification of Capsid Mutations That Alter the Rate of HIV-1 Uncoating in Infected Cells. **Journal of Virology**, v. 89, n. 1, p. 643–651, 1 jan. 2015.

JIA, X. et al. Structural basis of evasion of cellular adaptive immunity by HIV-1 Nef. **Nature Structural and Molecular Biology**, v. 19, n. 7, p. 701–706, jul. 2012.

KOELMAN, D. L. H.; BROUWER, M. C.; VAN DE BEEK, D. Targeting the complement system in bacterial meningitis. **Brain : a journal of neurology**, v. 142, n. 11, p. 3325–3337, 1 nov. 2019.

KUHDARI, P. et al. Meningococcal B vaccination: real-world experience and future perspectives. **Pathogens and Global Health** Taylor and Francis Ltd., , 3 jul. 2016.

KUSMARTSEV, S. et al. Reversal of myeloid cell - mediated immunosuppression in patients with metastatic renal cell carcinoma. **Clinical Cancer Research**, v. 14, n. 24, p. 8270–8278, 15 dez. 2008.

- KWISSA, M. et al. Dengue virus infection induces expansion of a CD14⁺CD16⁺ monocyte population that stimulates plasmablast differentiation. **Cell Host and Microbe**, v. 16, n. 1, p. 115–127, jul. 2014.
- LANG, S. et al. Clinical relevance and suppressive capacity of human myeloid-derived suppressor cell subsets. **Clinical Cancer Research**, v. 24, n. 19, p. 4834–4844, 1 out. 2018.
- LEI, A. H. et al. Clinical Significance of Myeloid-Derived Suppressor Cells in Human Immunodeficiency Virus-1/ Hepatitis C Virus-coinfected Patients. **Scandinavian Journal of Immunology**, v. 83, n. 6, p. 438–444, 1 jun. 2016.
- LEWIS, L. A.; RAM, S. Meningococcal disease and the complement system Virulence. Taylor and Francis Inc., , 2014.
- LIU, Y. FENG et al. Expansion and activation of monocytic-myeloid-derived suppressor cell via STAT3/arginase-I signaling in patients with ankylosing spondylitis. **Arthritis Research and Therapy**, v. 20, n. 1, p. 1–13, 2018.
- LLORENTE-GARCÍA, I.; MARSH, M. A biophysical perspective on receptor-mediated virus entry with a focus on HIV. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes**, p. 183158, 18 dez. 2019.
- LOTUFO, P. A. O escore de risco de Framingham para doenças cardiovasculares. **Revista de Medicina**, v. 87, n. 4, p. 232, 2008.
- MANSA' AND, B.; KILIAN, M. Retained Antigen-Binding Activity of Fab, Fragments of Human Monoclonal Immunoglobulin A1 (IgA1) Cleaved by IgA1 Protease. **Infection and Immunity**. 1986.
- MAZANDERANI, A. H.; SHERMAN, G. G. Evolving complexities of infant HIV diagnosis within prevention of mother-to-child transmission programs [version 1; peer review: 2 approved] **F1000Research** Ltd, , 13 set. 2019.
- MANDRUZZATO, S. et al. IL4R α + Myeloid-Derived Suppressor Cell Expansion in Cancer Patients . **The Journal of Immunology**, v. 182, n. 10, p. 6562–6568, 15 maio 2009.
- MCCAUSLAND, M. R. et al. Altered monocyte phenotype in HIV-1 infection tends to normalize with integrase- inhibitor-based antiretroviral therapy. **PLoS ONE**, v. 10, n. 10, p. 1–19, 2015.
- MELONI, S. T. et al. The role of point-of-care viral load monitoring in achieving the target of 90% suppression in HIV-infected patients in Nigeria: Study protocol for a randomized controlled trial. **BMC Infectious Diseases**, v. 19, n. 1, 2 maio 2019.
- MENESES, C.; OCAMPOS, D. L.; BERTONI DE TOLEDO, T. Estagiamento de Tanner: um estudo de confiabilidade entre o referido e o observado Tanner stages: a study of reliability between the referred and the observed. [s.l: s.n.].
- MERINO, K. M. et al. Role of monocyte/macrophages during HIV/SIV infection in adult and pediatric acquired immune deficiency syndrome. **Frontiers in Immunology** Frontiers Media

S.A., , 5 dez. 2017. Disponível em:<<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29259605>>. Acesso em: 16 fev. 2020.

MILAGRES, L. et al. Baseline Circulating Activated TFH and Tissue-Like Exhausted B Cells Negatively Correlate With Meningococcal C Conjugate Vaccine Induced Antibodies in HIV-Infected Individuals. **Frontiers in immunology**, v. 9, p. 2500, 2018

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Secretária de Vigilância em Saúde. Programa Nacional de DST e Aids, Recomendações para Terapia Anti-retroviral em Adultos Infectados pelo HIV:2008/Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Programa Nacional de DST e Aids. 7a Ed. - Brasília: **Ministério da Saúde**, 2008, 244 p.: il. - (Série Manuais nº 2) ISBN 978-85-334-1352-8

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Secretaria de Vigilância em Saúde. Programa Nacional de DST e Aids. Recomendações para Terapia Antirretroviral em Crianças e Adolescentes Infectados pelo HIV: manual de bolso/ Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Programa Nacional de DST e Aids. – Brasília : **Ministério da Saúde**, 2009. 200 p. : il. – (Série Manuais, n. 85

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de DST, Aids e Hepatites Virais. RECOMENDAÇÕES PARA TERAPIA ANTIRRETROVIRAL EM ADULTOS INFECTADOS PELO HIV- 2008, Suplemento II -Critérios para Início do Tratamento Antirretroviral (Atualização das páginas 34-36)Brasília, **Ministério da Saúde** Fevereiro / 2010a

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Secretaria de Vigilância em Saúde. Programa Nacional de DST e Aids. Recomendações para Profilaxia da Transmissão Vertical do HIV e Terapia Antirretroviral em Gestantes: manual de bolso/ Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Programa Nacional de DST e Aids. – Brasília : **Ministério da Saúde**, 2010. 172 p. : il. – (Série Manuais, n. 46) 5.ª edição – 2010b

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de DST, Aids e Hepatites Virais. Manual Técnico para o Diagnóstico da Infecção pelo HIV. Brasília, **Ministério da Saúde**,Dezembro de 2013

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis. Manual dos Centros de Referência para Imunobiológicos Especiais. Brasília:**Ministério da Saúde**; 2014.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis. Nota Informativa Nº 311, de 2016/ CGPNI/DEVIT/SVS/MS. Brasília: **Ministério da Saúde**; 2016.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Secretaria de Vigilância em Saúde. Coordenação-Geral de Desenvolvimento da Epidemiologia em Serviços. Guia de Vigilância em Saúde: volume único (recurso eletrônico)/ Ministério da Saude, Secretaria de Vigilância em Saúde, Coordenação-Geral de Desenvolvimento da Epidemiologia em Serviços. -2. Ed. – Brasília: **Ministério da Saúde**, 2017.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância,

Prevenção e Controle das Infecções Sexualmente Transmissíveis, do HIV/Aids e das Hepatites Virais. Manual Técnico para o Diagnóstico da Infecção pelo HIV em Adultos e Crianças. 149 p.: il. 4ª edição. Brasília : **Ministério da Saúde**, 2018

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Doenças de Condições Crônicas e Infecções Sexualmente Transmissíveis. Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas para Prevenção da Transmissão Vertical do HIV, Sífilis e Hepatites Virais – Brasília : **Ministério da Saúde**, 2019a

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Doenças de Condições Crônicas e Infecções Sexualmente Transmissíveis-DCCI. Boletim Epidemiológico de HIV e AIDS. Numero especial/dez 2019.b Disponível em: <http://www.aids.gov.br/pt-br/gestores/vigilancia-epidemiologica> Acessado em 25 de janeiro 2020

NOCKHER, W. A.; JU⁺, J.; SCHERBERICH, J. E. Expanded CD14 CD16 Monocyte Subpopulation in Patients with Acute and Chronic Infections Undergoing Hemodialysis. **INFECTION AND IMMUNITY**. [s.l.: s.n.]. Disponível em: <<http://iai.asm.org/>>. Acesso em: 22 fev. 2020.

ONOFRE, G. et al. Scavenger receptor CD163 and its biological functions. **Acta medica (Hradec Králové) / Universitas Carolina, Facultas Medica Hradec Králové**, v. 52, n. 2, p. 57–61, 2009

PAHWA, S. Human immunodeficiency virus infection in children: nature of immunodeficiency, clinical spectrum and management. **The Pediatric infectious disease journal**, v. 7, n. 5 Suppl, p. S61-71, maio 1988.

PAL, S. et al. Myeloid-derived suppressor cells induce regulatory T cells in chronically HBV infected patients with high levels of hepatitis B surface antigen and persist after antiviral therapy. **Alimentary Pharmacology and Therapeutics**, v. 49, n. 10, p. 1346–1359, 2019.

PAREKH, B. S. et al. **Diagnosis of human immunodeficiency virus infection****Clinical Microbiology Reviews**American Society for Microbiology, , 1 jan. 2019.

PASCOM, A.R.P et al. Lessons from the field Point-of-care HIV tests done by peers, Brazil. **Bull World Health Organ**, v. 94, n. August 2015, p. 626–630, 2016.

PERANZONI, E. et al. **Myeloid-derived suppressor cell heterogeneity and subset definition****Current Opinion in Immunology**Curr Opin Immunol, , abr. 2010.

PEREIRA-MANFRO, W. F. et al. Association of serum bactericidal antibody and opsonic antibody levels after Neisseria meningitidis serogroup C conjugate vaccine in Brazilian children and adolescents infected or not infected with HIV. **Vaccine**, v. 34, n. 50, p. 6116–6119, 2016.

PETERSON, M. E. et al. Meningococcal serogroups and surveillance: A systematic review and survey. **Journal of Global Health**, v. 9, n. 1, 2019.

PHILIPPIDIS, P. et al. Hemoglobin Scavenger Receptor CD163 Mediates Interleukin-10 Release and Heme Oxygenase-1 Synthesis. **Circulation Research**, v. 94, n. 1, p. 119–126, 9

jan. 2004.

PRABHU, V. M. et al. Monocyte Based Correlates of Immune Activation and Viremia in HIV-Infected Long-Term Non-Progressors. **Frontiers in Immunology**, v. 10, n. December, p. 1–15, 2019.

QIN, A. et al. Expansion of Monocytic Myeloid-Derived Suppressor Cells Dampens T Cell Function in HIV-1-Seropositive Individuals. **Journal of Virology**, v. 87, n. 3, p. 1477–1490, 1 fev. 2013.

RANK, F., Irchhoff, K., Reenough, H. C. G., Rettler, O. B. B., Ohn, J., Ullivan, L. S., & Desrosiers, C. D. (1995). Brief report: absence of Intact *Nef* Sequences in a Long-Term Survivor with Nonprogressive HIV-1 Infection. **New England Journal of Medicine**, v.332, n. 4, p. 228-332, 1995.

REN, X. et al. How HIV-1 Nef hijacks the AP-2 clathrin adaptor to downregulate CD4. **eLife**, v. 3, 28 jan. 2014.

ROSENSTEIN, N. E. et al. Meningococcal disease. **New England Journal of Medicine**, v. 344, n. 18, p. 1378–1388, 2001.

SÁFADI, M. A. P. et al. **The epidemiology of meningococcal disease in Latin America 1945-2010: An unpredictable and changing landscape** **Epidemiology and Infection**, mar. 2013.

SANTOS-NETO, J. F. et al. **Carriage prevalence of Neisseria meningitidis in the Americas in the 21st century: a systematic review** **Brazilian Journal of Infectious Diseases** Elsevier Editora Ltda, , 1 jul. 2019.

SIBERRY, G. K. et al. Phase I/II, open-label trial of safety and immunogenicity of meningococcal (Groups A, C, Y, and W-135) polysaccharide diphtheria toxoid conjugate vaccine in human immunodeficiency virus-infected adolescents. **Pediatric Infectious Disease Journal**, v. 29, n. 5, p. 391–396, maio 2010.

SIBERRY, G. K. et al. Safety and immunogenicity of quadrivalent meningococcal conjugate vaccine in 2-to 10-year-old human immunodeficiency virus-infected children. **Pediatric Infectious Disease Journal**, v. 31, n. 1, p. 47–52, jan. 2012.

SIBERRY, G. K. et al. Guidelines for the Prevention and Treatment of Opportunistic Infections in HIV-Exposed and HIV-Infected Children: Recommendations from the National Institutes of Health, Centers for Disease Control and the Panel on Opportunistic Infections in HIV-Exposed . **Pediatr Infect Dis J**, v. 32, n. 2, p. 4, 2013.

SIBERRY, G. K. Preventing and managing HIV infection in infants, children, and adolescents in the United States. **Pediatrics in Review**, v. 35, n. 7, p. 268–286, 2014.

SPRANGERS, S.; VRIES, T. J. D.; EVERTS, V. **Monocyte Heterogeneity: Consequences for Monocyte-Derived Immune Cells** **Journal of Immunology Research** Hindawi Limited, , 2016. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27478854>>. Acesso em: 16 fev. 2020

- STUMPTNER-CUVELETTE, P. et al. HIV-1 Nef impairs MHC class II antigen presentation and surface expression. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 98, n. 21, p. 12144–12149, 9 out. 2001.
- THIEBLEMONT, N. et al. CD14^{low}CD16^{high}: A cytokine-producing monocyte subset which expands during human immunodeficiency virus infection. **European Journal of Immunology**, v. 25, n. 12, p. 3418–3424, 1995.
- TIPPETT, E. et al. Differential Expression of CD163 on Monocyte Subsets in Healthy and HIV-1 Infected Individuals. **PLoS ONE**, v. 6, n. 5, 2011.
- TUMINO, N. et al. In HIV-positive patients, myeloid-derived suppressor cells induce T-cell anergy by suppressing CD3 expression through ELF-1 inhibition. **Aids**, v. 29, n. 18, p. 2397–2407, 2015.
- TUMINO, N. et al. Granulocytic myeloid-derived suppressor cells increased in early phases of primary HIV infection depending on TRAIL plasma level. **Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes**, v. 74, n. 5, p. 575–582, 2017.
- VAN DE, J. G. J. et al. Serogroup B meningitidis Neisseria Immune Defense Against Activity of Human IgG and IgA Subclasses in. **J Immunol References**, v. 166, p. 6250–6256, 2001.
- VAN DEUREN, M.; BRANDTZAEG, P.; VAN DER MEER, J. W. M. Update on meningococcal disease with emphasis on pathogenesis and clinical management. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 13, n. 1, p. 144–166, 2000.
- VEGLIA, F.; PEREGO, M.; GABRILOVICH, D. Myeloid-derived suppressor cells coming of age. **Nature Immunology** | Vol 108 19| FEBRUARY 2018 | 108–119
- VOLLBRECHT, T. et al. Chronic progressive HIV-1 infection is associated with elevated levels of myeloid-derived suppressor cells. **Aids**, v. 26, n. 12, p. 31–37, 2012.
- VORONIN, Y. et al. Recent progress in immune-based interventions to prevent HIV-1 transmission to children: **Journal of the International AIDS Society**, v. 20, n. 4, 1 dez. 2017.
- WANG, Z. et al. Measuring replication competent HIV-1: advances and challenges in defining the latent reservoir Defining the latent reservoir for HIV-1. **Retrovirology**, v. 15, p. 21, 2018
- WEINBERG, J. L.; KOVARIK, C. L. **CLINICAL PEARL The WHO Clinical Staging System for HIV/AIDS** *American Medical Association Journal of Ethics*. [s.l.: s.n.]. Disponível em: <www.virtualmentor.org>. Acesso em: 24 fev. 2020.
- WONG, K. L. et al. The three human monocyte subsets: Implications for health and disease. **Immunologic Research**, v. 53, n. 1–3, p. 41–57, 2012.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION. Guidance on global scale-up of the prevention of mother to child transmission of HIV: towards universal access for women, infants and young

children and eliminating HIV and AIDS among children / Inter-Agency Task Team on Prevention of HIV Infection in Pregnant Women, Mothers and their Children. ISBN 978 92 4 159601 5. World Health Organization 2007

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Global update on HIV treatment 2013: results, impact and opportunities: WHO report in partnership with UNICEF and UNAIDS. ISBN 978 92 4 150573 4. June 2013. World Health Organization 2013

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Global Health Sector Strategy on HIV 2016-2021 Towards ending AIDS. June 2016. Disponível em <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/246178/WHO-HIV-2016.05-eng.pdf>. Acessado em 25 de janeiro 2020

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Global guidance on criteria and processes for validation: elimination of mother-to-child transmission of HIV and syphilis, 2nd edition. Geneva:. Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO World Health Organization; 2017a

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Guidelines for managing advanced HIV disease and rapid initiation of antiretroviral therapy, July 2017. Geneva, Switzerland:. Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO World Health Organization; 2017b

ZHANG, Z. N. et al. Myeloid-Derived Suppressor Cells Associated with Disease Progression in Primary HIV Infection: PD-L1 Blockade Attenuates Inhibition. **Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes**, v. 76, n. 2, p. 200–208, 2017.

ZHAO, F. et al. S100A9 a new marker for monocytic human myeloid-derived suppressor cells. **Immunology**, v. 136, n. 2, p. 176–183, jun. 2012

ANEXO A – Documento de aprovação do estudo pelo IPPMG/UFRJ

Comitê de Ética em Pesquisa - CEP
Projeto n.º 24/09 IPPMG/UFRJ

ell



UNIVERSIDADE FEDERAL
DO RIO DE JANEIRO
UFRJ

INSTITUTO DE PUERICULTURA E PEDIATRIA MARTAGÃO GESTEIRA
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

Rio de Janeiro, 27 de março de 2012

Prezada Dra Cristina Barroso Hofer

Informamos que o adendo no projeto "Avaliação da imunogenicidade de vacina conjugada para *Neisseria meningitidis* sorotipo C em crianças infectadas pelo HIV-1", cadastrado neste CEP com o número 24/09, foi analisado e aprovado na reunião realizada nesta data.

pl *Maria do Carmo Soares Alves Cunha*
p/ Maria do Carmo Soares Alves Cunha
Coordenadora do CEP/IPPMG

ANEXO B – Termo de consentimento livre e esclarecidoTERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO PARA SER VOLUNTÁRIO
DE UM PROJETO DE PESQUISA

TÍTULO: Imunogenicidade da Vacina Conjugada contra *Neisseria meningitidis C* em Crianças Infectadas pelo HIV.

INVESTIGADORA: Cristina Barroso Hofer, MD, MSc, PhD

Professora Adjunta de Doenças Infecciosas e Parasitárias

Universidade Federal do Rio de Janeiro

DESCRIÇÃO DO PROJETO:

Nós estamos conduzindo um projeto de pesquisa em crianças maiores de 2 anos acompanhados nos ambulatórios de DIP-IMUNO do IPPMG. Este projeto quer avaliar se seu organismo respondeu à vacina para meningite (Vacina conjugada para meningococo tipo C), prescrita pelo seu médico.

Os objetivos desta pesquisa são:

Avaliar a resposta imune da vacina conjugada para meningococo tipo C a curto e longo prazo

Avaliar se existe fatores relacionados com o estado clínico que favoreçam a resposta imune da vacina conjugada para meningococo tipo C.

Você ou seu filho estão convidados a participar deste estudo, por fazerem parte dos pacientes em acompanhamento no IPPMG. Aceitar este convite significa que você (o paciente) e todos os outros participantes da pesquisa serão entrevistados, dados clínicos do prontuário serão avaliados e coletaremos 3 amostras de até 5 mL de sangue do seu filho: uma vez no dia da vacinação, outra 1-2 meses depois e outra 1-11/2 anos após a vacinação.

Também faremos dois contatos telefônicos para avaliar qualquer reação da vacina. Esses contatos serão no 3º. e 7º. dias após a vacina.

A entrevista e a coleta levarão aproximadamente 30 minutos.

RISCOS E BENEFÍCIOS:

Não existem riscos associados a responder o questionário. O único risco quanto a coleta do sangue é de hematoma (mancha arrocheada no braço após a coleta). Este risco será minimizado pois utilizaremos coletadores experientes.

O seu médico será informado sobre os resultados desta pesquisa. Ele poderá usar estes resultados para avaliar quando é o melhor momento para a prescrição da vacina conjugada para meningococo tipo C.

CUSTOS E PAGAMENTOS:

Ao participar deste estudo, você receberá, se desejar, um atestado médico para justificar as horas de trabalho gastas na entrevista.

A cada visita do estudo, o participante receberá uma ajuda para alimentação e transporte.

A vacina é fornecida pelo Programa Nacional de Imunizações do Ministério da Saúde.

A responsabilidade pela prescrição da vacina é de seu médico. Portanto, os pesquisadores não se responsabilizam por quaisquer efeitos colaterais que possam ser atribuídos à vacinação.

CONFIDENCIALIDADE:

Você não é obrigado a responder qualquer pergunta. Todas as informações deste estudo vão ser mantidas em segredo sob a responsabilidade dos pesquisadores e somente eles terão acesso a essas informações. Você não será identificado pelo nome em qualquer publicação dos resultados desta pesquisa. Qualquer informação que diga respeito a você será confidencial.

ALTERNATIVAS A PARTICIPAÇÃO E DIREITO DE SAIR DO ESTUDO:

Sua participação nesta pesquisa é completamente voluntária. Você não é obrigado a participar desta pesquisa. Caso decida participar e depois mude de idéia poderá deixar o estudo a qualquer momento. Seu direito de atendimento neste serviço não se modificará caso você decida participar ou não da pesquisa ou até mesmo deixar de participar após ter inicialmente consentido.

CONSENTIMENTO INFORMADO VOLUNTÁRIO:

Este documento me foi explicado e todas as minhas dúvidas foram esclarecidas. Eu sei que posso fazer qualquer pergunta sobre qualquer aspecto desta pesquisa durante

o curso do estudo e que estas perguntas serão respondidas pelos pesquisadores listados na primeira página deste documento.

Qualquer pergunta que eu tenha sobre meus direitos como participante de projetos de pesquisa será respondida pelo Comitê de Ética do Instituto de Puericultura e Pediatria Martagão Gesteira, telefone: (021) 25626146, ou pela pesquisadora responsável, Dra. Cristina Barroso Hofer através do telefone: (21) 9206-3853.

Assinando este documento, eu concordo em participar deste estudo. Uma cópia deste termo de consentimento será entregue a mim.

Nome legível do participante:

Assinatura do participante voluntário:

Nome do representante legal:

Assinatura do representante legal:

Nome da testemunha:

Assinatura da testemunha:

Nome pesquisador:

Assinatura do pesquisador

Rio de Janeiro ____ de _____ de 201__.

Rio de Janeiro ____ de _____ de 200__.

ANEXO C – Critérios de inclusão e exclusão para os pacientes HIV positivos

I- Critérios de Inclusão:

- Ter idade igual ou superior a 2 anos e inferior a 18 anos, 11 meses e 29 dias por ocasião da visita de entrada;
- Preencher critério de infecção pelo HIV de acordo com o Ministério da Saúde do Brasil;
- Não estar planejando transferir residência do estado do Rio de Janeiro nos próximos 18 meses e concordar em ser contatado após a imunização;
- Concordar em vir às visitas planejadas;
- Apresentar contagem de linfócitos CD4⁺ superior ou igual a 350 células/mm³ e/ou percentagem de linfócitos CD4⁺ superior ou igual a 15% na entrada do estudo;
- Em pacientes do sexo feminino com Tanner ≥ 3 e/ história de ter apresentado menarca, a inclusão só se dará se apresentar dosagem de hormônio gonadotrópico coriônico urinário (beta-HCG) negativo;
- O responsável pelo indivíduo (de idade inferior a 18 anos) ou o próprio (idade superior a 18 anos) deve entender e concordar com o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE). Se o paciente for maior de 8 anos, e souber seu diagnóstico, e de acordo com o julgamento da enfermeira do estudo, for capaz de entender, este assentirá no estudo, assinando o termo de assentimento.

Para a revacinação dos indivíduos desse grupo, somente será aplicada vacina naqueles que apresentarem contagem de linfócitos CD4⁺ superior ou igual a 350 células/mm³ e/ou percentagem de linfócitos CD4⁺ superior ou igual a 15% por ocasião da revacinação.

II- Critérios de exclusão:

- Paciente ter recebido vacina anti-meningocócica conjugada;
- Apresentar sinais ou sintomas de imunossupressão severa (classificação 4 da OMS) por ocasião da visita de entrada no estudo;
- Apresentar qualquer outra doença imunossupressiva que não a infecção pelo HIV;

- Fazer uso ou ter a intenção do uso de drogas imunossupressoras. Para glicocorticoides considera-se dose imunossupressora a dose em prednisona de 1 mg/Kg/dia por período superior a uma semana;
- Ter feito uso de antibióticos até 3 semanas antes da imunização ou imunoglobulinas nos últimos 6 meses pré-imunização;
- Ter recebido outras vacinas dentro de quatro semanas antes da entrada do estudo ou planejar receber ou planejar receber vacinas dentro de duas semanas após o arrolamento;
- Ter incapacidade de entender e cooperar com os requerimentos do protocolo;
- O indivíduo ou responsável, no caso de menores de 18 anos ou incapacitados legalmente, apresentar qualquer alteração psiquiátrica, intoxicação por álcool ou uso de drogas ilícitas por ocasião do arrolamento;
- Ter história de alergia a vacinas;
- Ter história de sangramento, doenças hemorrágicas ou reação adversa a qualquer componente da vacina;
- Estar grávida.

Para fins de revacinação dos indivíduos desse grupo, deverão ser reavaliados todos os critérios de exclusão descritos acima.