Brazilian Journal of health Review

Ação dos linfócitos t citotóxicos funcionais sobre células infectadas pelo vírus da imunodeficiência humana

Action of cytotoxic t lymphocytes of cells infected with human immunodeficiency virus

DOI:10.34119/bjhrv3n3-054

Recebimento dos originais: 05/04/2019
Aceitação para publicação: 15/05/2020

Goldemberg Jorrary Colontoni Ferraz Alves
Biomédico patologista clínico pelo Centro Universitário São Camilo
Instituição: Centro Universitário São Camilo - Av. Nazaré, 1570 – Ipiranga, São Paulo – SP, Brasil
E-mail: goldemberg.jorrary@gmail.com

Michelangelo Juvenale
Mestre e Doutor em Imunologia pela Universidade de São Paulo
Professor de Imunologia e Alergologia Clínica do Centro Universitário São Camilo e da Faculdade Santa Marcelina
Instituições: Centro Universitário São Camilo - Av. Nazaré, 1570 – Ipiranga, São Paulo – SP, Brasil; Faculdade Santa Marcelina – Rua Cachoeira Utupanema, 40 – Itaquera/Vila Carmosina, São Paulo – SP, Brasil
E-mail: juvenale.fasm@gmail.com

RESUMO
INTRODUÇÃO: O HIV é o agente causador da AIDS, doença caracterizada por depleção dos linfócitos T helper. Os alvos de infecção pelo HIV nos humanos são células que expressam a glicoproteína CD4, presente nas APCs, principalmente, linfócitos T helper. O HIV-1 é mutagênico, assim, considerado o mais virulento. O GALT é organizado em placas de Peyer e folículos linfóides; é o maior tecido e abriga a maioria dos linfócitos, portanto, grande porta de entrada, reservatório e replicação viral do HIV. Desde seu reconhecimento em 1981, a infecção matou mais de 30 milhões de pessoas no mundo. Células T citotóxicas estão entre as principais células efetoras do sistema imune adaptativo; quando virgens, são incapazes de destruir células-alvo, sendo consideradas precursores dos linfócitos T citotóxicos (CTL-Ps). O CTL-P quando ativado, diferencia-se em linfócito T citotóxico funcional (CTL), adquirindo capacidade de eliminação por atividade lítica por ação de granzimas e perforinas nos micro-organismos intracelulares e pela interação do receptor FasL do CTL com a molécula Fas da célula-alvo, levando à apoptose. As principais funções dos CTLs é a vigilância e eliminação da infecção viral. Células dendríticas e linfócitos T helper são essenciais para a manutenção da resposta dos CTLs ao vírus. OBJETIVO: Descrever por meio de uma breve revisão de literatura, a resposta imune dos CTLs sobre células infectadas pelo HIV e compreender o porquê da diminuição dessa resposta, levando a progressão para AIDS. MÉTODOS: Realizou-se revisões bibliográficas, no período de 1999 a 2019, de diversas regiões do mundo, nos idiomas inglês e português, em bibliográfias, artigos científicos da biblioteca virtual em saúde (BVS), bases de dados LILACS, Pubmed e o portal de revistas SciELO; também foi utilizado o centro nacional de informações biotecnológicas (NCBI) e o programa em conjunto das Nações Unidas sobre HIV e AIDS (UNAIDS). RESULTADOS: CTLs específicos contra o HIV, na fase aguda estão

Brazilian Journal of health Review

em alta atividade citotóxica promovendo uma rápida queda da viremia; expressam grandes quantidades de perforina no sangue periférico e granzima A no tecido retal; expressam perforinas e granzimas no tecido linfóide e em tecido extrafolícular, mas inferiores quando comparados à infecção pelo vírus Epstein-Barr; indivíduos denominados controladores de elite expressam abundantemente fator de transcrição T-bet, perforinas e granzima B para o controle viral. CONCLUSÃO: Os CTLs são um fator importante que desempenha um papel crítico e essencial no controle da infecção do HIV e não devem ser ignorados, pois são capazes de destruir células infectadas pelo HIV e consequentemente, inibir a replicação do vírus por meio da atividade lítica e interação Fas-FasL da célula-alvo, entretanto a infecção não pode ser erradicada porquê: o HIV-1 é mutagênico e a proteína Nef diminui expressão de MHC-I; a destruição das APCs levam á: ausência de IL-7; ausência do processo de licenciamento; ausência de IL-2; falta dos estímulos para ativação, proliferação e diferenciação de um CTL a partir de um CTL-P. Na medida em que as APCs são destruídas ao decorrer do tempo, concomitantemente, a potência da resposta dos CTLs contra o HIV, tende a diminuir.

Palavras-chaves: Células. Linfócitos t citotóxicos. Granzimas. Perforina. HIV.

ABSTRACT

INTRODUCTION: HIV is the causative agent of AIDS, a disease characterized by depletion of T helper lymphocytes. The targets of HIV infection in humans are cells that express the CD4 glycoprotein, present in APCs, mainly T helper lymphocytes. HIV-1 is mutagenic, therefore, considered the most virulent. GALT is organized into Peyer plaques and lymphoid follicles; it is the largest tissue and houses most lymphocytes, therefore, a major gateway, reservoir and viral replication of HIV. Since its recognition in 1981, the infection has killed more than 30 million people worldwide. Cytotoxic T cells are among the main effector cells of the adaptive immune system; when virgin, they are unable to destroy target cells, being considered precursors of cytotoxic T lymphocytes (CTL-Ps). CTL-P, when activated, differentiates into functional cytotoxic T lymphocyte (CTL), acquiring the ability to eliminate by lytic activity through the action of granzymes and perforins on intracellular microorganisms and by the interaction of the CTL FasL receptor with the Fas molecule from target cell, leading to apoptosis. The main functions of CTLs are the surveillance and elimination of viral infection. Dendritic cells and T helper lymphocytes are essential for maintaining CTL response to the virus. OBJECTIVE: To describe, by means of a brief literature review, the immune response of CTLs on HIV-infected cells and to understand why the decrease in this response leads to progression to AIDS. METHODS: Bibliographic reviews were carried out, from 1999 to 2019, from different regions of the world, in English and Portuguese, in bibliographies, scientific articles from the virtual health library (VHL), LILACS databases, Pubmed and the portal SciELO magazines; the national biotechnology information center (NCBI) and the joint United Nations program on HIV and AIDS (UNAIDS) were also used. RESULTS: HIV-specific CTLs, in the acute phase, are in high cytotoxic activity promoting a rapid drop in viremia; express large amounts of perforin in peripheral blood and granzyme A in rectal tissue; express perforins and granzymes in lymphoid tissue and extra-follicular tissue, but lower when compared to infection by the Epstein-Barr virus; individuals called elite controllers abundantly express transcription factor T-bet, perforins and granzyme B for viral control. CONCLUSION: CTLs are an important factor that plays a critical and essential role in the control of HIV infection and should not be ignored, as they are capable of destroying HIV-infected cells and, consequently, inhibiting the replication of the virus through lytic activity and Fas-FasL interaction of the target cell, however the infection cannot be eradicated because: HIV-1 is mutagenic and the Nef protein decreases MHC-I expression; destruction of APCs leads to: absence of IL-7; absence of

Brazilian Journal of health Review

the licensing process; absence of IL-2; lack of stimuli for activation, proliferation and differentiation of a CTL from a CTL-P. As APCs are destroyed over time, at the same time, the potency of CTLs' response to HIV tends to decrease.

Keywords: Cells. T lymphocytes are cytotoxic. Granzimas. Perforin. HIV.

1 INTRODUÇÃO

O vírus da imunodeficiência humana (VIH (HIV - *Human Immunodeficiency Virus*)) é o agente causador da síndrome da imunodeficiência adquirida (SIDA (AIDS - *Acquired Immune Deficiency Syndrome*)) (UCHIL; MOTHES, 2009). Esta doença é caracterizada por profunda imunossupressão (SAHARIA; KOUP, 2013), resultando em infecções oportunistas, neoplasias secundárias e manifestações neurológicas (KUMAR; ABBAS; FAUSTO, 2016).

O HIV é um retro vírus humano (CLÍNICA, 2014), não-oncogêneo (CHAPEL *et al*., 2003), pertencente à família dos lentivírus, como por exemplo, o vírus da imunodeficiência símia (SIV - *Simian immunodeficiency vírus*). O vírus é formado por um envelope bilipídico, oriundo da célula hospedeira, onde inserem suas as glicoproteínas de 120 kDa (gp120) e de 41 kDa (gp41). No interior do envelope, há uma matriz constituída por uma proteína de 17 kDa (p17) e o capsídeo proteico de 24 kDa (p24) (KUMAR; ABBAS; FAUSTO, 2016). O material genético do vírus é constituído por duas fitas de ácido ribonucleico (RNA - *Ribonucleic acid*), associado com enzimas: transcriptase reversa, integrase e protease (ENGELMAN; CHEREPANOV, 2013). Por sua vez, o RNA é transcrito reversamente em ácido desoxirribonucleico (DNA - *Deoxyribonucleic acid*) pela transcriptase reversa. Essa cópia de DNA, denominada pró-vírus, é integrada ao genoma da célula hospedeira e é replicada juntamente com o DNA celular. O pró-vírus pode permanecer latente nas células ou pode ser expresso para formar novos vírions, ocasionando a lise celular (PARSLOW *et al*., 2004).

O HIV possui genes estruturais (*gag, env e pol*) comuns aos retrovírus, que codificam as poliproteínas Gag, Env e Pol, as quais são clivadas pelas proteases virais em proteínas individuais. Além das proteínas que formam o envelope viral, o vírus possui genes regulatórios (*tat, rev e nef*) e genes acessórios (*vif, vpr* e *vpu* – no HIV-1, ou *vpx* – no HIV-2) (FERREIRA; RIFFEL; SANT'ANA, 2010). A protease, transcriptase reversa e integrase, possuem funções enzimáticas essenciais e também são encapsuladas com a partícula viral. O HIV ainda codifica seis proteínas adicionais, sendo que três delas são encontradas na partícula viral: Vif (controla a produção de partículas virais infecciosas); Vpr (transporta o pró-virus para o núcleo da célula infectada); Nef (diminui os níveis celulares de CD4; diminui a expressão das moléculas do Complexo Principal de Histocompatibilidade (MHC) de classe I e de classe II) (PROTEIN

DATA BANK, 2011). As proteínas Tat e Rev, estão envolvidas com a regulação gênica. Já a proteína Vpu, também diminui a expressão de CD4 (CD -*Cluster of differentiation*), diminui moléculas do MHC de classe II e promove a liberação de novos vírions (FERREIRA; RIFFEL; SANT'ANA, 2010).

Os alvos de infecção pelo HIV nos humanos são células que contêm uma glicoproteína de membrana denominada CD4, presente em macrófagos, células dendríticas e, principalmente, linfócitos T helper (T_H), que são células do sistema imune envolvidas diretamente na defesa do organismo, contra micro-organismos invasores (BRITO, 2011).

Inicialmente, o HIV se liga com alta afinidade aos receptores CD4. Após esse processo, o vírus se liga a um correceptor, podendo ser o CCR5 - presente principalmente em monócitos e macrófagos (CCR5 – *C-C chemokine receptor type 5*) ou o CXCR4 - presente principalmente em células T (CXCR – *C-X-C chemokine receptor type 4*), ambos receptores de quimiocinas (GUERREIRO; SANTOS-COSTA; AZEVEDO-PEREIRA, 2011). Dentre os diversos receptores existentes, outros receptores de quimiocinas e diversas proteínas que pertencem à família de receptores ligados a proteína G, foram demostrados *in vitro*, que também podem ser mediadores da infecção nas células pelo HIV-1 e HIV-2, como: CCR3, FPRL1, CCR1, CCR2b, CCR4, CXCR2, CXCR6, GPR-1, ChemR23, RDC1 e BLTR. Entretanto, *in vivo*, somente os correceptores CCR5 e CXCR4 foram demonstrados como relevantes na evolução da infecção pelo HIV (AZEVEDO-PEREIRA, SANTOS-COSTA, 2008).

Nesta síndrome, como já descrito, ocorre perda progressiva de células T $CD4^+$ (ASQUITH; MCLEAN, 2006) nos tecidos linfóides e destruição da arquitetura desses tecidos. Dessa forma, quando a contagem de células T $CD4^+$ cai abaixo de 200 por mm^3 (o normal é de 1500 células por mm^3), os pacientes tornam-se susceptíveis a infecções, e considera-se que sofram AIDS (ABBAS; LICHTMAN; PILLAI, 2019).

Duas formas geneticamente diferentes, chamadas HIV-1 e HIV-2 foram isoladas de pacientes com AIDS (KUMAR; ABBAS; FAUSTO, 2016). Apresentam cerca de 40% de homologia e o HIV-2 é mais parecido com o SIV (BALESTIERI, 2006). O HIV-1 é o tipo mais comum associado a AIDS nos Estados Unidos, Europa e África Central e apresenta maior taxa de mutação (LEWIS *et al*., 2012; LIU *et al*., 2011), dessa forma, é considerado o mais virulento (LAZZAROTTO; DERESZ; SPRINZ, 2010). Já o HIV-2, é comumente encontrado na África Ocidental e Ásia (LAZZAROTTO; DERESZ; SPRINZ, 2010). Este apresenta índices de patogenicidade e de transmissibilidade inferiores aos do HIV-1; como consequência, os indivíduos infectados apenas com o HIV-2 possuem, em geral, sobrevida mais longa (BRITO,

2011). Ambos os vírus HIV-1 e HIV-2 partilham alguns antígenos e semelhanças, dentre elas estão à disposição básica dos genes, meios de transmissão (relação sexual, transfusão sanguínea, compartilhamento de seringas, dentre outras), vias intracelulares de replicação e consequências clínicas: ambos resultam em AIDS (NYAMWEYA *et al*., 2012). O HIV-1 pode ser classificado conforme sua sequência nucleotídica e dividido em três grupos: M (*major*), O (*outlier*) e N (*neither M nor O*). Os vírus pertencentes ao grupo M são a forma causadora de AIDS mais comum em todo mundo, sendo subdivididos em vários subtipos, nomeados de A a K (PARSLOW *et al*., 2004).

Segundo Nyamweya *et al*. (2012), quando ocorre a progressão clínica, ambas as doenças causadas por HIV-1 e HIV-2 demonstram processos patológicos muito semelhantes, porém, na infecção por HIV-2 a carga viral plasmática é menor quando comparado com HIV-1, além disso, a contagem de linfócitos T $CD4^+$ é mais elevada.

Segundo Balestieri (2006), na época em que foram identificados os primeiros casos de AIDS, observou-se uma modificação na proporção entre linfócitos T $CD4^+$ e $CD8^+$, pois um indivíduo sadio apresenta, geralmente, a proporção 2:1. Hoje, sabe-se que após a infecção primária, pode ocorrer à inversão dessa proporção, podendo chegar a 1:2 em pacientes aidéticos, ou seja, aqueles que desenvolvem imunodeficiência.

Desde o momento em que o vírus foi oficialmente reconhecido, em 1981 (SINGH *et al.*, 2008), a infecção pelo HIV já matou mais de 30 milhões de pessoas em todo o mundo (BRITO, 2011).

Segundo dados recentes em Unaids (2019), até o final de 2018 havia 37,9 milhões de pessoas vivendo com HIV em todo o mundo, sendo a população adulta com 36,2 milhões e, crianças menores de 15 anos, com 1,7 milhão. Cerca de 8,1 milhões de pessoas não sabiam que eram portadoras do vírus. Em 2018 houve uma redução na incidência de casos em 40% desde o pico de infecção em 1997, cerca de 1,7 milhão de casos novos contra 2,9 milhões, respectivamente. Com relação à taxa de mortalidade, em 2018 aproximadamente 770 mil pessoas morreram de doenças relacionadas a AIDS em todo mundo, redução significativa quando comparado aos 1,7 milhão em 2004 e 1,2 milhão em 2010. Conforme Abbas, Lichtman e Pillai (2019) a doença é especialmente devastadora devido a prevalência da transmissão ser entre jovens adultos de 15 – 24 anos, idade onde as pessoas são mais sexualmente ativas.

Brazilian Journal of health Review

2 OBJETIVO

Descrever por meio de uma breve revisão de literatura, a resposta imune dos linfócitos T citotóxicos funcionais sobre células infectadas pelo HIV e compreender, o porquê da diminuição dessa resposta, levando a progressão para síndrome da imunodeficiência adquirida.

3 MÉTODOS

O presente estudo teve o embasamento de uma breve revisão bibliográfica, entre os anos de 1999 e 2019, nos idiomas inglês e português, realizada em livros disponíveis na Biblioteca Pe. Inocente Radrizzani do Centro Universitário São Camilo, artigos da biblioteca virtual em saúde (BVS), de periódicos científicos nas bases de dados LILACS, Pubmed. e portal de revistas SciELO, também foi utilizado o centro nacional de informações biotecnológicas - NCBI e o programa em conjunto das Nações Unidas sobre HIV e AIDS – UNAIDS.

4 REVISÃO DE LITERATURA: FUNDAMENTOS DA IMUNIDADE

4.1 O COMPLEXO PRINCIPAL DE HISTOCOMPATIBILIDADE (MHC)

O Complexo Principal de Histocompatibilidade (MHC - *Major Histocompatibility Complex*) foi descoberto no ano de 1940, por Snell e colaboradores, utilizando técnicas genéticas para analisar processos de rejeição tumoral e de órgãos transplantados entre linhagens distintas de camundongos (PENN, 2002). Os genes estão localizados no braço curto do cromossomo 6 (GARCIA *et al.*, 2012). Sua função é apresentar antígenos produzidos por células apresentadoras de antígenos (APCs - *Antigen presenting cells*) para serem reconhecidos pelos receptores de células T (TCR - *T-cell receptor*) dos linfócitos T (LI; RAGHAVAN, 2010). Sendo assim, os linfócitos T $CD8^+$, reconhecem MHC de classe I (expressos em praticamente todas as células nucleadas) (BLUM; WEARSCH; CRESSWELL, 2014); Os linfócitos T $CD4^+$ reconhecem MHC de classe II (expressos em células dendrítica, linfócitos B, macrófagos, monócitos, endotélio e células de Langerhans) (GARCIA et al., 2012).

4.2 PROCESSAMENTO E APRESENTAÇÃO DE ANTÍGENOS VIA MHC DE CLASSE I

Na via do MHC de classe I, os antígenos proteicos no citoplasma são processados pelo proteassomo (NAGARAJAN; GONZALEZ; SHASTRI, 2012) (sistema proteolítico localizado abundantemente do núcleo e citoplasma, responsável por: 80% da degradação de proteínas intracelulares; processamento antigênico; Eliminação de proteínas com erro de transcrição e tradução) gerando peptídeos com 7-9 resíduos de aminoácidos (PIASSA FILHO, 2010). Esses

peptídeos são transportados para o retículo endoplasmático (LI; RAGHAVAN, 2010) pelo Transportador associado ao Processamento de Antígenos (TAP) onde são ligados às moléculas de MHC de classe I (NAGARAJAN; GONZALEZ; SHASTRI, 2012). As moléculas de MHC-I-peptídeos se movimentam por meio do complexo de Golgi e são transportadas por vesículas para a superfície das células, onde ocorre o reconhecimento pelos linfócitos T $CD8^+$. Esse processo é exclusivo de proteínas intracelulares e virais (BLUM; WEARSCH; CRESSWELL, 2014). Sua expressão pode ser aumentada por *Interferon-alfa* (IFN-α), IFN-β e IFN-γ (PIASSA FILHO, 2010)

4.3 ASPECTOS GERAIS DOS LINFÓCITOS T

Os linfócitos T são mediadores da imunidade celular, assim denominados devido aos seus precursores que se originam na medula óssea, migram e sofrem maturação no timo (STEELE; LINDLEY, 2019), do qual somente os linfócitos T maduros de lá, saem e caem na circulação (MESQUITA JUNIOR *et al*., 2010). Sua ativação e função exigem a participação e um envolvimento estruturado das células apresentadoras de antígeno (FOOKSMAN *et al*., 2011).

Durante o processo de maturação, os linfócitos T passam a expressar em suas membranas uma molécula ligadora de antígeno específica, denominada TCR, responsável pelo reconhecimento do complexo peptídeo antigênico-molécula do MHC (MESQUITA JUNIOR *et al*., 2010; MURPHY; TRAVERS; WALPORT, 2010) também em associação com um complexo molecular, CD3 e cadeia zeta (ζ), promove sinalização celular subsequente e estabilização da sinapse imunológica (GUY *et al*., 2013). Timócitos cujos TCRs não apresentem afinidade pelo MHC próprio, sofrem apoptose pela falta de estímulo e, a interação com moléculas MHC de classe I ou II, determina a diferenciação do timócito em linfócito T $CD8^+$ (citotóxico) ou linfócito T $CD4^+$ (*helper* ou auxiliar) (MESQUITA JUNIOR *et al*., 2010).

Diferente dos receptores dos linfócitos B (BCR - *B-cell receptor*), que podem reconhecer antígenos livres (KINDT; GOLDSBY; OSBORNE, 2008), os TCRs somente reconhecem antígenos ligados ao MHC (FOOKSMAN *et al*., 2011).

Segundo Mesquita Júnior *et al*. (2010), o TCR é formado por duas cadeias polipeptídicas transmembranares da superfamília das imunoglobulinas ligadas covalentemente entre si por pontes dissulfeto, com uma região variável e uma região constante; é formado pelas cadeias α e β em cerca de 95% dos linfócitos T circulantes e uma pequena parte pelas cadeias γ e δ. Por

meio do processo de recombinação somática ocorre grande diversidade de repertório dos linfócitos T maduros.

Ao reconhecer um antígeno combinado com uma molécula do MHC em uma célula, sob circunstâncias apropriadas, a célula T prolifera e se diferencia em várias células efetoras e de memória (CALICH; VAZ, 2009). Existem três subpopulações bem definidas de células T: auxiliares (T_H) (LORENZI; LORENZI; ZANETTE, 2012) citotóxicas (T_C) (YOON; KIM; BRACIALE, 2010) e regulatórias (T_{reg}) (ZHU; YAMANE; PAUL, 2012)

A expressão de proteínas na superfície da membrana celular é utilizada como marcador fenotípico para identificar e distinguir populações de linfócitos, chamadas do inglês *Cluster of differentiation* (CD), significando agrupamento de diferenciação, caracterizadas estruturalmente por moléculas glicoproteicas, envolvidas com diversas funções, como interações célula-célula, receptores de citocinas, sinalização celular, canais iônicos, transportadores, enzimas, imunoglobulinas ou moléculas de adesão (BELOV *et al*., 2001).

A identificação fenotípica das subpopulações dos linfócitos T pode ser realizada quando se utiliza anticorpos monoclonais: a maioria das células T atuando como T_H, expressam CD4; atuando como T_C, expressam CD8; as que atuam como T_{reg} expressam tanto CD4 como CD25 (ABBAS; LICHTMAN; PILLAI, 2019). A proporção de células T_H para células T_C é de cerca de 2:1 no sangue periférico humano normal, podendo ser significativamente alterada por imunodeficiências, doenças autoimunes e outras disfunções (KINDT; GOLDSBY; OSBORNE, 2008).

4.4 CÉLULAS T CITOTÓXICAS

Células T citotóxicas são subpopulações dos linfócitos T (INGRAHAM; INGRAHAM, 2010) que estão entre as principais células efetoras do sistema imune adaptativo (PARISH; KAECH, 2014), caracterizadas pela expressão de CD8 (WOOLDRIDGE *et al.*, 2010) e ausência de CD4; são restritas ao reconhecimento de MHC de classe I (BENJAMINI; COICO; SUNSHINE, 2002). Quando virgens precisam de sinais homeostáticos de sobrevivência, como MHC de classe I e Interleucina-7 (IL – *Interleucine*) (PARISH; KAECH, 2014); são incapazes de destruir células-alvo, por isso, são consideradas precursores dos linfócitos T citotóxicos (CTL-Ps, *Cytotoxic T lymphocytes precursors*) (ABBAS; LICHTMAN; PILLAI, 2019). Além, com base nos estudos experimentais de Nanjappa *et al.* (2008), células T $CD8^+$ tratadas com IL-7 podem promover aumento de linfócitos T citotóxicos de memória. Somente após a ativação de um CTL-P ocorre à diferenciação em linfócito T citotóxico funcional (CTL,

C*ytotoxic T Lymphocyte*) (BADOVINAC; HARING; HARTY, 2007). Tais linfócitos produzem e secretam interferon-gamma (INF-γ) contribuindo para ativação de macrófagos (GÉRARD *et al.*, 2014) e no combate a micro-organismos intracelulares (LORENZI; LORENZI; ZANETTE, 2012). Promovem eliminação, por atividade lítica, dos micro-organismos intracelulares (ZHANG; BEVAN, 2012) pela ação de granzimas e perforinas, levando à morte celular programada (apoptose) da célula-alvo (LORENZI; LORENZI; ZANETTE, 2012) e também, podem levar a apoptose pela expressão do receptor FasL (CD95) interagindo com a molécula Fas da célula-alvo (BALESTIERI, 2006), sendo críticas no reconhecimento e na eliminação de células próprias alteradas (MESQUITA JUNIOR *et al*., 2010), infectadas por vírus, células neoplásicas (WOOLDRIDGE *et al*., 2010) ou células geneticamente diferentes nas reações de rejeição a enxertos (ABBAS; LICHTMAN; PILLAI, 2019). Posteriormente à ação dos CTLs, a maioria sofre apoptose (LORENZI; LORENZI; ZANETTE, 2012), levando formação de CTL de memória. No caso de uma reinfecção, ocorrerá uma resposta mais rápida garantindo uma melhor proteção ao hospedeiro (BADOVINAC; HARING; HARTY, 2007).

4.5 MARCADORES FENOTÍPICOS

Por meio da identificação das proteínas CD, as células T citotóxicas caracterizam-se pelas seguintes expressões de proteínas na superfície da membrana plasmática e suas respectivas funções: CD2, adesão da molécula e transdução de sinal; CD3, elemento de transdução de sinal do TCR; CD5, atualmente a função proposta é ser uma molécula de sinalização celular; CD8, molécula de adesão que se liga às moléculas do MHC de classe I e atua na transdução de sinal; CD28, receptor para a molécula B7 (co-estimulador nas células apresentadoras de antígeno (APC)); CD45, atuando na transdução de sinal (KINDT; GOLDSBY; OSBORNE, 2008) (PUNT *et al*., 2018)

4.6 DIFERENCIAÇÃO PARA LINFÓCITOS T CITOTÓXICOS FUNCIONAIS (CTL)

Para ocorrer à ativação das células T $CD8^+$ virgens, diferenciação em CTL funcionais e formação de células de memória, a participação dos linfócitos T CD4+ é necessária para a sinalização às células T $CD8^+$ (ZHANG; BEVAN, 2012). Durante uma infecção, as células T $CD8^+$ *naive* são estimuladas por APCs, ocorrendo em órgãos linfoides secundários, como linfonodos e baço (YOON; KIM; BRACIALE, 2010).

Células dendríticas (CDs) se originam na medula óssea a partir de uma célula-tronco hematopoiética pluripotente: são consideradas dentre as APCs ás mais eficientes, quando

comparadas com linfócitos B e macrófagos, capazes de apresentar antígenos via MHC de classe I e MHC de classe II (PIASSA FILHO, 2010).

A participação das células T $CD4^+$ no desenvolvimento das respostas pelos CTLs pôde ser constatada em estudos experimentais com camundongos e ratos deficientes de linfócitos T $CD4^+$: algumas infecções virais ou bacterianas – como por *Listeria monocytogenes* – não induzem uma resposta eficaz dos CTLs ou de células T $CD8^+$ de memória (SUN; BEVAN, 2009). Consequentemente, em um primeiro momento, a infecção pode ser combatida (ABBAS; LICHTMAN; PILLAI, 2019)., mas não erradicada (QIU, 2019). Sun e Bevan (2009) comentam se células T $CD8^+$ forem estimuladas cronicamente, necessitam das células T CD4 + para sobreviver.

O desenvolvimento de grânulos citoplasmáticos de perforinas (LYKENS *et al*., 2011) e granzimas (THIERY *et al*., 2012), e secreção de IFN-γ, são as características mais importantes da diferenciação dos CTLs (GÉRARD *et al.*, 2014).

Primeiramente, é necessário que uma APC adquira a habilidade de ativar CTL-Ps via interações prévias em um processo chamado de "licenciamento¨, que pode acontecer pela interação da APC (provavelmente uma célula dendrítica) com uma célula T_H1 (Figura 1A), via antígeno processado por uma molécula de MHC de classe II (CRISPE, 2014).

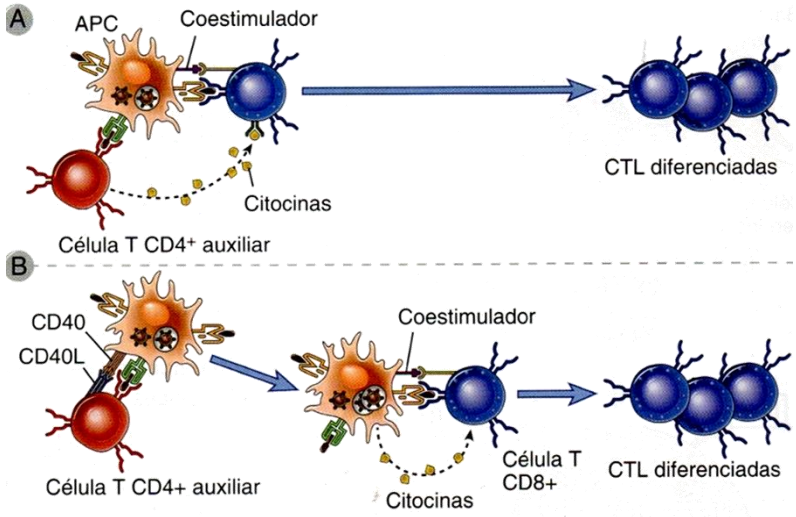
Durante o licenciamento a interação co-estimuladora da molécula CD40, expressa pela célula dendrítica, com seu específico ligante (CD40L) sobre a célula T_H1 é necessária (Figura 1B). Essa interação pode ser observada em situações experimentais em que a ativação de CTL-P foi mediada por células dendríticas com anticorpos monoclonais anti-CD40, resultando o mesmo efeito sobre CD40L em células T_H1 (SUN; BEVAN, 2009). Dessa forma, uma vez licenciada, a célula dendrítica interage com o CTL-P via antígeno apresentado por uma molécula de MHC de classe I para efetuar a ativação de um CTL efetor (CALICH; VAZ, 2009). O papel preciso das células T_H1 na geração dos CTL, a partir de CTL-P virgens, ainda não está completamente definido e parece ser improvável que uma célula T_H1 e CTL-P interajam diretamente.

Abbas, Lichtman e Pillai (2019) afirmam não ter certeza da necessidade de ligação simultânea da célula T_H1 com a APC. Kindt, Goldsby e Osborne (2008) questionam se deve haver cooperação entre célula dendrítica, linfócitos T $CD4^+$ auxiliares e CTL-P, cada uma interagindo simultaneamente com antígenos apresentados pela mesma célula dendrítica (Figura 2); ou se a célula dendrítica licenciada, por uma interação com uma célula T_H1, retém a sua capacidade de ativar CTL-Ps durante algum período após a associação ser finalizada. Já Crispe

Brazilian Journal of health Review

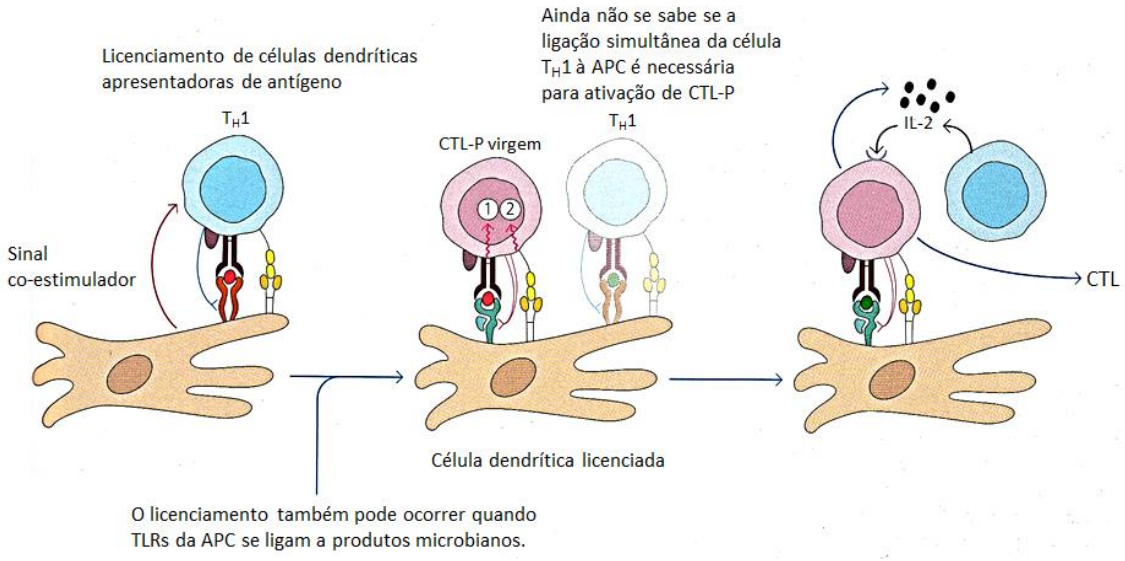
(2014), comenta em seu artigo, a respeito deste mecanismo: tanto a célula T_H1 como a célula T citotóxica devem encontrar a mesma APC, mas não necessariamente ao mesmo tempo.

Figura 1: Função das células T auxiliares na diferenciação dos linfócitos T $CD8^+$.



Fonte: (ABBAS; LICHTMAN; PILLAI, 2019).

Figura 2: Geração de CTLs efetoras

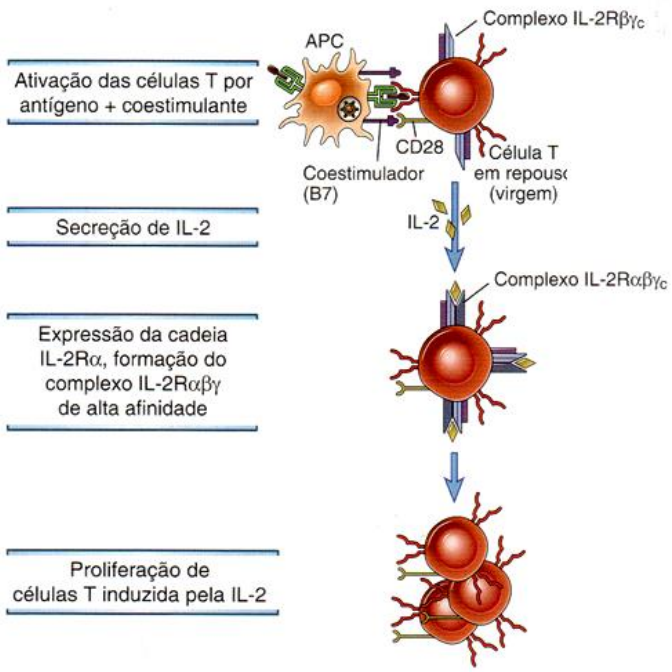


Fonte: Adaptado de (KINDT; GOLDSBY; OSBORNE, 2008).

A ativação, proliferação e diferenciação de um CTL a partir de CTL-P, necessita de no mínimo três sinais em sequência (Figura 3): primeiro, o sinal antígeno-específico transmitido pelo complexo TCR mediante a atividade de reconhecimento na interação com uma APC licenciada (FOOKSMAN *et al*., 2011); segundo, um sinal co-estimulador (ZHANG; BEVAN, 2012) transmitido a partir da interação CD28-B7 do CTL-P com APC (CALICH; VAZ, 2009);

terceiro, um sinal induzido pela também interação de IL-2 com seu receptor de alta afinidade (IL-2Rβϒϒϒϒϒ) (PARISH; KAECH, 2009).

Figura 3: Ativação e proliferação das células T citotóxicas, e regulação do receptor de IL-2.



Fonte: Adaptado de (ABBAS; LICHTMAN; PILLAI, 2019).

IL-2 é uma glicoproteína de 14 a 17 kDa que possui conformação globular. Suas funções são: estimular a sobrevivência, proliferação e diferenciação das células T ativadas pelo antígeno; é também responsável pela manutenção da resposta das células T_{reg} e mediação da morte celular induzida (LIAO *et al*., 2011). CTL não produzem IL-2, necessitam da participação do linfócitos T_H1, para proliferar (BALESTIERI, 2006)

> Os receptores funcionais da IL-2 são transitoriamente expressados na ativação das células T virgens e efetoras, e consiste de três proteínas associadas não covalentemente: IL-2Rα (CD25), que é exclusivo de IL-2R; IL-215Rβ (CD122), que contribui com a ligação da IL-2; ϒc (CD132), que não está diretamente envolvido na ligação de IL-2, mas sua associação com o complexo do receptor é importante para que a ligação seja de alta afinidade e conduza à ativação completa das vias de transmissão do sinal (ABBAS; LICHTMAN; PILLAI, 2019).

Badovinac, Haring e Harty (2007) e Zhang e Bevan (2012) discutem que uma célula T $CD8^+$ virgem pode passar por até 19 divisões celulares em um ciclo de 4 a 6 horas após a estimulação por reconhecimento do patógeno. Embora o trabalho de Yoon, Kim e Braciale (2010) estima um ciclo de 2 horas. Lembrando que a transição da fase G1 para a fase S do ciclo

celular e o início da síntese de DNA são os pontos críticos responsáveis pela regulação e controle do tempo de divisão celular, sendo assim, a duração do tempo em que uma célula se encontra na fase G0 / G1 do ciclo, afetará, significativamente, a velocidade da divisão celular (YOON; KIM; BRACIALE, 2010).

As citocinas (LIAO *et al*., 2011) e os co-estimuladores (SUN; BEVAN, 2009) fornecidos pelas células dendríticas não são necessários para desencadear a função efetora dos CTL, ou seja, matar células-alvo (MURPHY; TRAVERS; WALPORT, 2010). Portanto, uma vez que as células T $CD8^+$ específicas para um antígeno tenham se diferenciado em CTL completamente funcionais, podem matar qualquer célula nucleada que exibir aquele antígeno (CALICH; VAZ, 2009).

Durante a diferenciação em linfócitos T citotóxicos, as células T $CD8^+$ *naives* passam por mudanças dramáticas em seu metabolismo, principalmente com aumento na captação de glicose, aminoácidos e ferro (ZHANG; BEVAN, 2012); outra mudança é a fosforilação oxidativa (HEIDEN; CANTLEY; THOMPSON, 2010) para atender a demanda de construção de ácidos nucleicos, lipídios e proteínas (MICHALEK; RATHMELL, 2010).

Observa-se em indivíduos positivos para o HIV, infecção e eliminação preferencialmente de linfócitos T CD4+, concluindo assim que a deficiência funcional das células T $CD4^+$ auxiliares é a explicação mais provável para os defeitos na geração de um CTL (UCHIL; MOTHES, 2009).

4.7 RECONHECIMENTO DO ANTÍGENO E ATIVAÇÃO DO CTL

O CTL se liga e reage à célula-alvo usando receptor antigênico (TCR), co-receptores (CD8, CD3 e ζ) (WOOLDRIDGE *et al*., 2010) e a molécula de adesão LFA-1 (*Leukocyte funcion-associated antingen 1* – Ligante principal para integrina) (FOOKSMAN *et al*., 2011).

Primeiramente, as células-alvo devem expressar o antígeno em associação com moléculas do MHC de classe I (MHC serve como ligante para o TCR, além da participação dos os co-receptores CD8, CD3 e ζ) e o ICAM-1 (*Intercellular adhesion molecule 1* - Molécula de adesão intracelular 1) ligante principal para LFA-1 para serem eficientemente reconhecidas pelos CTL (BEAL *et al*., 2008). O envolvimento LFA-1-ICAM-1 fornece estabilidade e permite aumentar a sensibilidade das células T ao antígeno em 100 vezes, quando comparado na ausência de LFA-1 (FOOKSMAN *et al*., 2011). Segundo BEAL *et al.* (2008), o rompimento da ligação CTL LFA-1 com ICAM-1 da célula-alvo, pode comprometer a potência da lise celular. A formação desta sinapse imunológica, ou conjugado CTL-célula-alvo (GÉRARD *et*

al., 2014), ocorre em poucos minutos por um processo dependente de Ca^{+} e que requer energia metabólica (THIERY *et al*., 2012): é caracterizada por um anel de justaposição entre o CTL e as membranas da célula-alvo, mediada pela ligação LFA-1-ICAM-1 (BEAL *et al*., 2008).

A ativação do CTL promove a conversão do LFA-1 de um estado de baixa afinidade para alta afinidade (GÉRARD *et al*., 2014). Deste modo, o CTL se adere e forma o conjugado somente com a célula-alvo e, entre 5 e 10 minutos após, em estado de alta afinidade, durante o ataque a membrana, o LFA-1 retorna ao estado de baixa afinidade, facilitando a dissociação do CTL-célula alvo (ABBAS; LICHTMAN; PILLAI, 2019).

4.8 MECANISMO DE CITOTOXICIDADE E DESTRUIÇÃO DAS CÉLULAS-ALVO POR CTL

Os primeiros eventos na morte mediada por CTL são a formação de conjugados, (BEAL *et al*., 2008); ataque à membrana, promovendo o "tiro letal" e prossegue mesmo se o CTL se desprender da célula-alvo (ABBAS; LICHTMAN; PILLAI, 2019); dissociação do CTL e a destruição da célula-alvo (GUY *et al*., 2013).

Após a formação do conjugado CTL-célula-alvo, o complexo de Golgi e os grânulos citotóxicos, são transportados por microtúbulos e reposicionados no citoplasma do CTL, concentrando-se próximo a região da sinapse. A membrana dos lisossomos secretores, onde encontram-se as granzimas e perforinas, funde-se com a membrana plasmática da célula-alvo. Como resultado, ocorre exocitose do conteúdo dos grânulos no espaço do anel sináptico (MURPHY; TRAVERS; WALPORT, 2010).

Na apoptose citolítica das células-alvo, ocorre por um processo dependente de Ca^{+2}, neste caso, ocorre ação sinérgica envolvendo perforina e serina-proteases (BLINK; A TRAPANI; A JANS, 1999).

A perforina é uma proteína de 68 kDa; na presença de Ca^{+2} e em pH neutro, liga-se a lipídeos de membrana como fosforilcolina; promove formação de poros cilíndricos com diâmetro de 5 a 20 nm; sua função é facilitar a entrega das granzimas para o citosol da célula-alvo (BLINK; A TRAPANI; A JANS, 1999)

Pertencentes à família de serina-proteases, as granzimas A, B e C, clivam ácido aspártico (THIERY *et al*., 2012). A granzima B é uma proteína de 32 kDa (BLINK; A TRAPANI; A JANS, 1999) e possui atividade apoptótica mais forte dentre as granzimas; melhor eficiência em induzir ativação de caspases, em relação a granzima A; pode ativar a morte celular dependente e independente de caspase (TRAPANI, 2001).

Também com atividade citolítica, mas ainda não muito bem compreendida, a granulisina, proteína de 15 kDa, pode alterar a permeabilidade por formar poros na membrana da célula-alvo e de agentes microbianos (KRENSKY; CLAYBERGER, 2009).

Os grânulos também contêm um proteoglicano sulfatado, o serglicina, que serve para montar um complexo que contém granzimas e perforinas (LYKENS *et al*., 2011).

O mecanismo de morte independente dos grânulos também pode ser utilizado: neste caso, a destruição da célula-alvo é mediada pelo sistema Fas-FasL por causa da interação Fas expressa pelas células-alvo (GENESCA, 2011). Essa proteína transmembrana, membro da família do receptor TNF (*Tumor necrosis fator* – Fator de necrose tumoral), pode enviar um sinal de morte celular por apoptose (GRAY; MAHRUS; WELLS, 2010) quando sofre um ligação cruzada por seu ligante natural, ligante de Fas (FasL (CD95)) expresso pelos CTLs sob ativação (MESQUITA JUNIOR *et al*., 2010).

Esse processo também é caracterizado por diversas alterações morfológicas e bioquímicas das células e é de crucial importância para o desenvolvimento embrionário, maturação do sistema imune, defesa contra infecções virais (BERGANTINI *et al.*, 2005) e eliminação de tumores (MEÇA *et al*., 2010); pode ser deflagrado por estímulos externos (via extrínseca ou via receptor de morte celular) ou pelo estresse intracelular (via mitocondrial), em que ambas as vias culminam para ativação de proteases caspases (BERGANTINI *et al*., 2005), incorporando cisteína e aspartato para clivagem de resíduos de ácido aspártico (GRAY; MAHRUS; WELLS, 2010).

Como resultado final dessa cascata, ocorre a morte celular por apoptose (BERGANTINI *et al*., 2005). O processo é regulado por inúmeros fatores inibidores e ativadores. Entre os inibidores estão algumas proteínas da família Bcl-2 (bcl-2, bcl-xL, mcl-1, a1 e bcl-w) (MEÇA *et al*., 2010) e da família IAP (*Inhibitor of apoptosis protein* – Proteína inibidora de apoptose). Entre os ativadores estão Fas, o DR4, o DR5, IFN-ϒ e outras proteínas membros da família Bcl- 2 (bad, bak, bax, harakiri e boK) (BERGANTINI *et al*., 2005).

Antes da célula-alvo ser destruída, após o "tiro letal", o CTL é liberado da sinapse, assim os CTL não são lesados pela ação citotóxica. Essa especificidade da função efetora assegura, que as células saudáveis não sejam destruídas (MURPHY; TRAVERS; WALPORT, 2010).

Brazilian Journal of health Review

4.9 PAPÉIS DOS CTLS CONTRA VÍRUS

> Os anticorpos possuem papel fundamental na contenção da disseminação de um vírus na fase aguda da infecção, porém, eles não são capazes de eliminar os vírus se estes entrarem em um estado latente no qual seu DNA é integrado no DNA cromossômico do hospedeiro, então, uma vez que a infecção estiver estabelecida, os mecanismos imunes mediados por células são os responsáveis pela defesa do hospedeiro (KINDT; GOLDSBY; OSBORNE, 2008).

Os CTLs são gerados em resposta ao vírus e podem controlar a infecção, mas não erradica-la (MURPHY; TRAVERS; WALPORT, 2010). O principal papel fisiológico dos CTL é a vigilância e eliminação da infecção viral. (LIMA, 2013).

Os efeitos antivirais dos CTL constituem morte de células infectadas, mas outros mecanismos incluem a ativação de nucleases em células infectadas que degradam os genomas virais e a secreção de citocinas (BALESTIERI, 2006). IFN-γ pode ativar fagócitos e apresentar atividade antiviral, como estimular a expressão de MHC de classe I (PIASSA FILHO, 2010).

Em relação ao HIV, na fase aguda, os CTLs de pessoas infectadas são capazes de inibir a replicação viral destruindo de 15 a 35% de células infectadas, reduzindo a viremia (FERRARI *et al*., 2011; (MCMICHAEL; ROWLAND-JONES, 2001)). Entretanto, a progressão para AIDS, não necessariamente é interrompida (WALKER; MCMICHAEL, 2012).

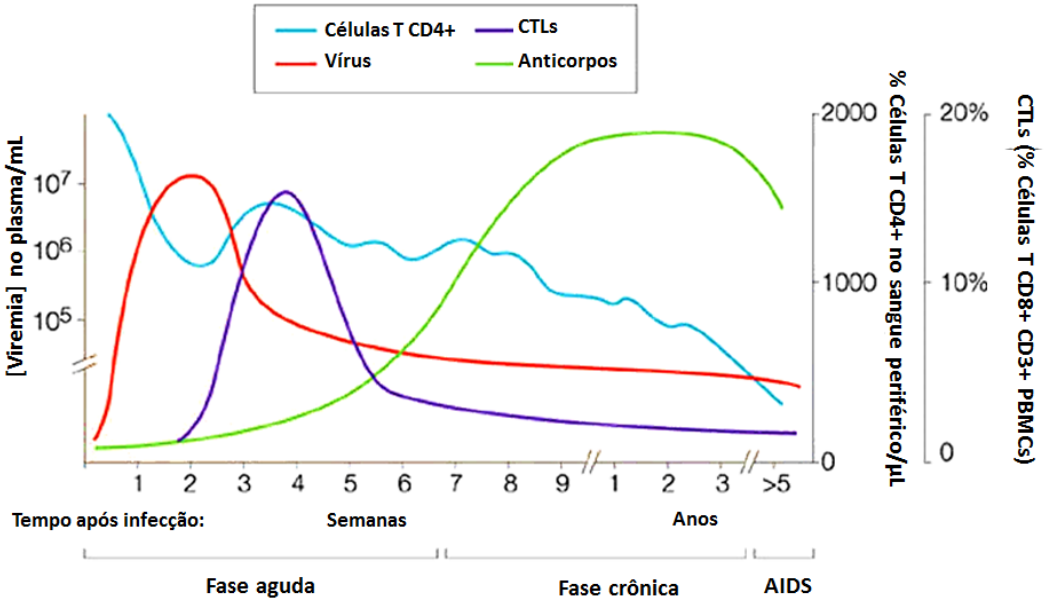
A resposta dos linfócitos T contra vírus e ao HIV-1 é dominada pela ação dos linfócitos T citotóxicos (WALKER; MCMICHAEL, 2012). Os linfócitos T auxiliares, são importantes na manutenção da resposta dos CTL (SUN; BEVAN, 2009), pois, a cooperação entre as respostas T $CD4^+$ e T $CD8^+$ é essencial para o controle da infecção promovida pelo HIV (SILVA, 2009). Esse processo é notável em camundongos com déficit de linfócitos T $CD4^+$, por introdução de anticorpos anti-$CD4^+$ ou geneticamente modificados. Além disso, a depleção seletiva dos CTLs em macacos rhesus, infectados com o vírus da imunodeficiência símia resultou num aumento rápido da carga viral sanguínea, confirmando a ideia de que, os CTLs possuem importante papel no controle da viremia Andersson *et al*. (2002). Como resultado, a resposta dos CTLs, é prejudicada (SUN; BEVAN, 2009; WALKER; MCMICHAEL, 2012).

4.10 CTL *VERSUS* HIV

Os CTLs específicos contra o HIV, inicialmente (fase aguda), estão em alta atividade citotóxica (JONES *et al*., 2004), promovendo uma rápida queda da viremia (Gráfico 1 e 2) (GOULDER; WATKINS, 2004; (SILVA, 2009)), desempenhando importante papel no

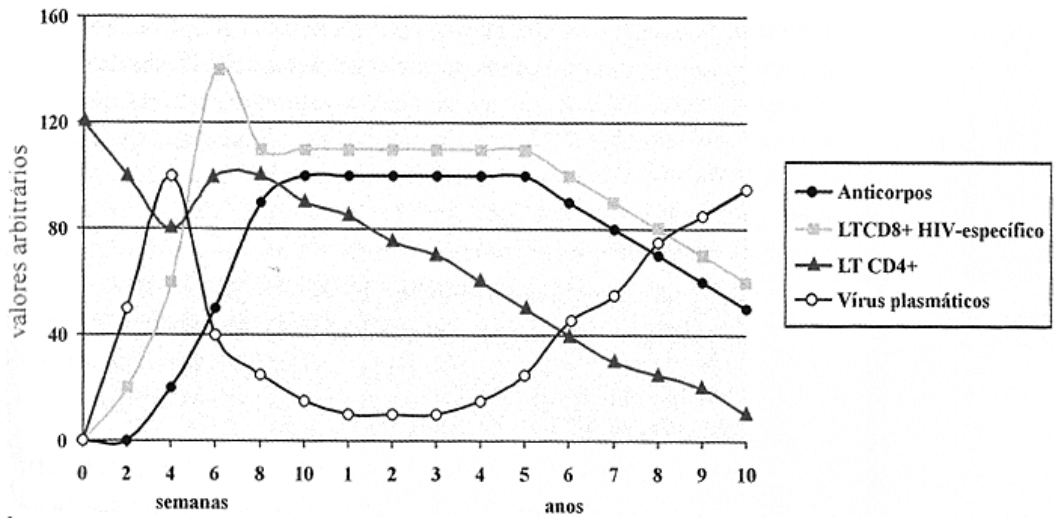
controle inicial da infecção (FÈVRIER; DORGHAM; REBOLLO, 2012). Isto ocorre devido ao reconhecimento e destruição de células infectadas com o vírus, através da lise celular e da secreção de citocinas aumentando a imunidade anti-viral, suprindo a infecção (SILVA, 2009). Essa resposta inicial à viremia, para ocorrer uma redução mensurável, pode levar em torno de 30 dias (BHARDWAJ; HLADIK; MOIR, 2012). As primeiras semanas caracterizam-se por intensa replicação viral. A replicação viral é seguida por redução da viremia, resultante da resposta imune contra o vírus. (BALESTIERI, 2006).

Gráfico 1: Resposta imune ao HIV.



Fonte: Adaptado de (GOULDER; WATKINS, 2004).

Gráfico 2: Resposta imune ao HIV.



Fonte: Adaptado de (BALESTIERI, 2006)

Andersson *et al*. (2002) relatam que os mecanismos-chave para a destruição de células infectadas pelo HIV e consequentemente controle da viremia, por meio da ação dos CTLs, são: perforinas, granzimas e interações Fas-FasL. De fato, defeitos na produção ou expressão dessas moléculas efetoras citolíticas, tanto de CTL como de células assassinas naturais (NK - *Natural Killer*), podem resultar na persistência da replicação do HIV.

As primeiras respostas dos CTLs são muitas vezes, específicos para *Env* e *Nef*, enquanto que as respostas *Gag*-específicas e *Pol*-específicos tendem a surgir mais tarde (BHARDWAJ; HLADIK; MOIR, 2012). Entretanto, o HIV sofre diversas mutações, escapando do reconhecimento dos CTLs, fazendo com que os mesmos, percam sua eficácia (DUGGAL; CHUGH; DUGGAL, 2012).

Mudanças significativas podem ocorrer nas células T quando infectadas pelo HIV-1, levando a alterações fenotípicas e funcionais (HUNT; CARRINGTON, 2008; OWEN *et al*, 2010). Dentre elas estão: alterações no processamento do epítopo antigênico, MHC, e TCR (BHARDWAJ; HLADIK; MOIR, 2012). Logo, epítopos do HIV são impedidos de se associarem e serem expressos pelo MHC de classe I da APC, e reconhecidos via TCR pelos CTLs, devido à proteína *Nef* do vírus (FERREIRA; RIFFEL; SANT'ANNA, 2010).

Ao longo do tempo, as células T $CD8^+$ também se esgotam devido às: exposições persistentes ao antígeno; ativações repetitivas. Considerando o fato de que células T $CD8^+$ recentemente ativadas dão origem às células de memória com elevada capacidade proliferativa, potente ação citotóxica e produção de citocinas, ao decorrer do tempo, CTLs, perdem grande parte de suas capacidades funcionais mencionadas (BHARDWAJ; HLADIK; MOIR, 2012).

Alfonzo *et al.* (2012) estudaram pacientes pediátricos infectados pelo HIV, e mostram que o estado funcional das células T $CD4^+$ e $CD8^+$ diferem. Crianças infectadas pelo HIV, com progressão rápida para a doença, apresentam um maior comprometimento da imunidade funcional, do que bebês, nos quais a doença evoluía lentamente. A razão para tal, segundo Hunt e Carrington (2008) e Murphy, Travers e Walport (2010), a replicação do HIV ocorre somente em células T ativadas. Além, Owen *et al.,* (2010) mostram que, os indivíduos que mantém a carga viral reduzida e o número de linfócitos T $CD4^+ \geq 500 / mL$, denominados controladores de elite (EC - *Elite controllers* (indivíduos expostos com frequência ao HIV, porém, soronegativos)), possuem menor expressão de marcadores de ativação.

O reconhecimento do MHC de classe I pelas células T $CD8^+$, influência na cinética de progressão para AIDS nos indivíduos infectados pelo HIV-1 (LIMA, 2013). Sob estimulação, os CTLs que podem expressar e secretar diversas citocinas concomitantemente, além de seus

mecanismos efetores, são nomeados CTLs polifuncionais. Sendo assim, forma-se uma resposta que confere resistência e proteção contra a infecção pelo HIV-1 (ERICKSON *et al*., 2008; LIMA, 2013).

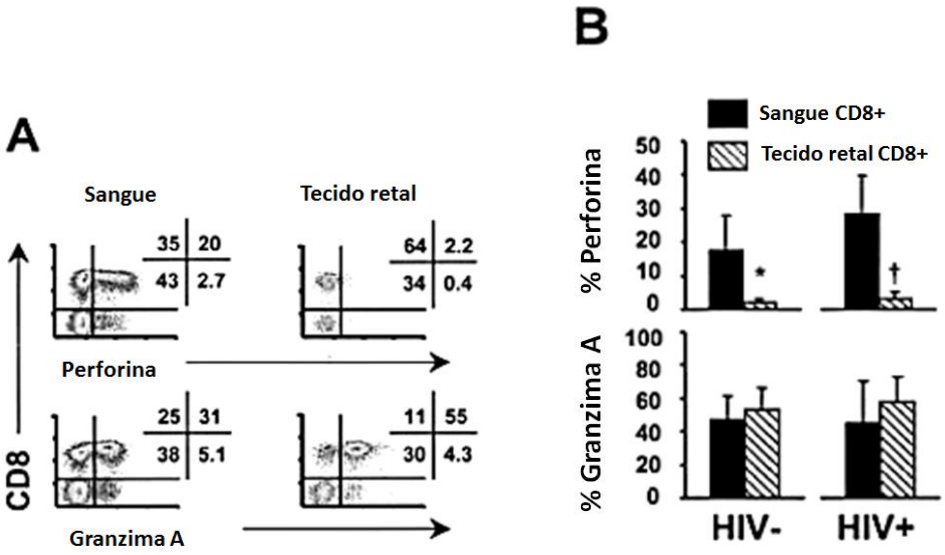
O tecido linfóide associado ao intestino (GALT- *Gut-associated lymphoid tissue*) é organizado em placas de Peyer e folículos linfoides; é o maior tecido linfóide no corpo humano e abriga a grande maioria dos linfócitos; portanto, uma grande porta de entrada para o reservatório e replicação viral do HIV-1. Demostrado em estudos com modelos animais, 7-14 dias após a infecção pelo HIV-1, ocorre depleção de células T $CD4^+$ na lâmina própria, acompanhado com aumento da frequência de células T $CD8^+$ (SHACKLETT *et al.*, 2004). Sendo assim, Shacklett *et al*. (2004) estudaram a expressão de granzima A e perforina nos grânulos de células T $CD8^+$ no GALT e no sangue, comparando com indivíduos saudáveis e HIV+. Em ambos os grupos de pacientes, células T $CD8^+$ expressaram um número significativamente menor de perforina no tecido retal, do que no sangue periférico (Gráfico 3). Em ambos os grupos de pacientes, células T $CD8^+$ expressaram um número significativamente maior de granzima A no tecido retal, do que no sangue periférico (Gráfico 3). Para excluir a possibilidade, de que, o procedimento para o isolamento das amostras teciduais, dos linfócitos T $CD8^+$, possa ter resultado em degranulação parcial ou degradação de perforina, foi avaliado a expressão de perforina *in situ*, e consequentemente, realizado a técnica de imuno-histoquímica e coloração do tecido retal (Figura 4). Granzima A e raras perforinas estão presentes nos grânulos intracelulares dos CTLs retais. Na lâmina HIV+, a frequência de células T $CD8^+$ foi superior em comparação aos indivíduos saudáveis (Figura 4-A e D). Além disso, a expressão intracelular de granzimas A (Figura 4-B e E) foi superior à expressão de perforinas (Figura 4-C e F) nos CTLs do tecido retal. As granzimas estavam frequentemente presentes em grânulos citoplasmáticos, como mostrado por microscopia confocal (mostrado em verde, Figura 4-G). A coloração da proteína $CD8^+$ (corado em vermelho) revelou que a granzima A foi frequentemente co-localizada com $CD8^+$ perto da membrana (corado em amarelo), sugerindo exocitose ativa dos grânulos. Já a distribuição intracelular de grânulos de perforina, a coloração foi rara (Figura 4-I, corada em verde e amarelo). Como a granzima A e perforina foram detectados nos grânulos citoplasmáticos (verde) ou co-localizada com CD8 na membrana (amarelo), estes resultados demonstram que os grânulos citotóxicos dos CTLs intestinais (tecido retal) expressam granzima A abundantemente, mas pouca perforina.

Brazilian Journal of health Review

Gráfico 3: Expressão analisada por citometria de fluxo de perforina e granzima A no sangue periférico e tecido retal, em pacientes saudáveis e HIV+.

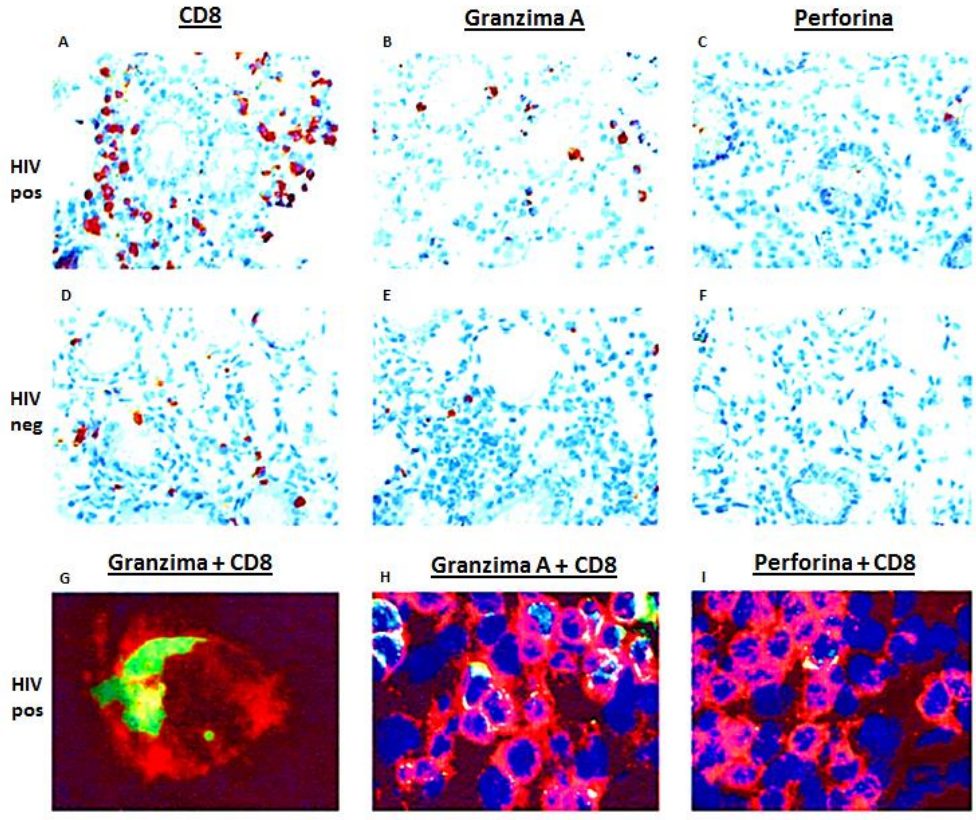
Gráfico A: números indicam a percentagem de células T $CD8^+$ em cada quadrante.

Gráfico B: resumos de resultados, 10 HIV+ e 5 HIV negativos.



Fonte: Adaptado de (SHACKLETT *et al*., 2004).

Figura 4: Imuno-histoquímica.

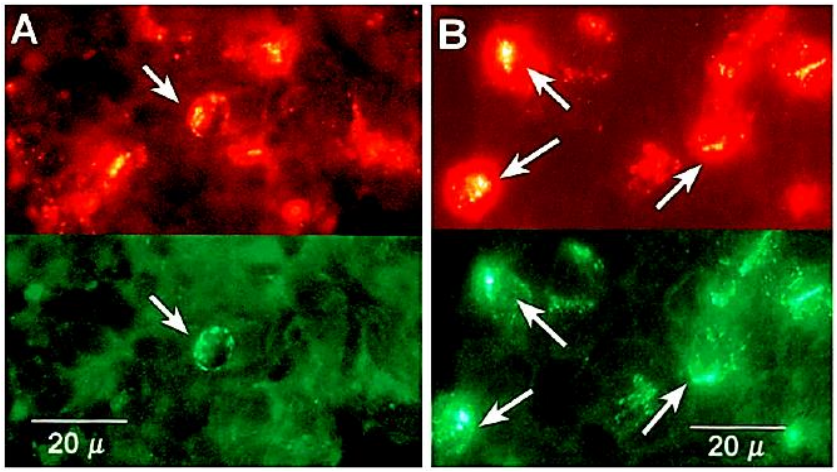


Fonte: Adaptado de (SHACKLETT *et al*., 2004).

Núcleos corados em azul. A-C, tecido retal de pacientes HIV+, corado CD8 (A), granzima A (B) e perforina (C). D-F, tecido retal de pacientes saudáveis (controle), corado CD8 (D), granzima (E) e perforina (F). Observar aumento na frequência de células T $CD8^+$ em HIV+. G-I, imagens de varredura a laser confocal da proteína CD8 (vermelho; G-I), granzima A (verde; G e H), perforina (verde; I).

Andersson *et al.* (2002), também mostram em seu estudo, baixos níveis de expressão de perforinas e maior expressão de granzimas A, por CTL no tecido linfóide, comparando a expressão durante a infecção aguda por HIV e na infecção pelo vírus Epstein-Barr (EBV - *Epstein-Barr vírus*) (Figura 5). Compara também, a expressão de perforinas por CTLs no tecido extrafolícular, na infecção aguda pelo HIV e infecção pelo vírus Epstein-Barr, concluindo novamente menor expressão de perforinas na infecção pelo HIV-1 (Figura 6).

Figura 5: Imunofluorescência confocal mostrando a expressão de perforina e granzimas A nas infecções por HIV-1 (A) e pelo vírus Epstein-Barr (B) nos CTLs em tecido linfóide.

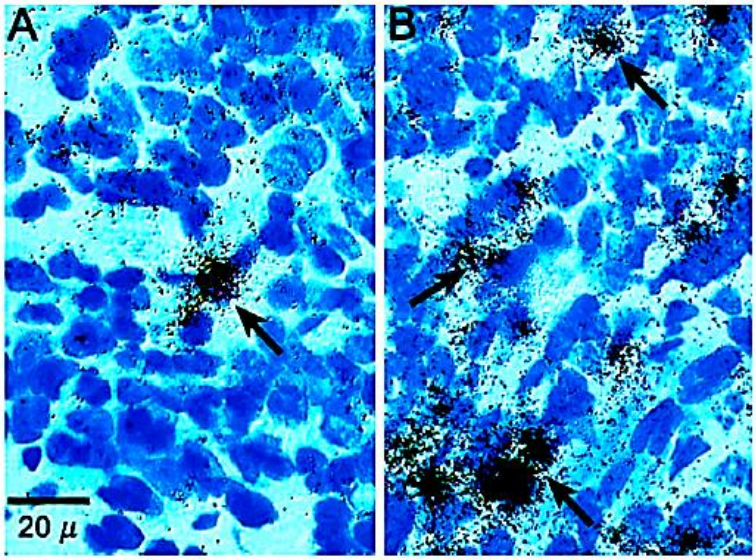


Fonte: (ANDERSSON *et al.*, 2002)

A (superior): marcação de granzimas A por coloração Alexa vermelho 546 [sigma]; A (inferior): marcação de perforinas por coloração Alexa verde 488 [sigma]; Observar aumento significativo na expressão de granzimas A em relação à fraca expressão de perforinas na infecção pelo HIV-1. B (superior): marcação de granzimas A por coloração Alexa vermelho 546 [sigma]; B (inferior): marcação de perforinas por coloração Alexa verde 488 [sigma]; Observar equilíbrio da expressão de granzimas A e perforinas na infecção pelo vírus Epstein-Barr.

Brazilian Journal of health Review

Figura 6: Expressão de perforinas (pontos pretos indicados por seta) por CTLs em tecido extrafolícular na infecção aguda pelo HIV (A) e pelo vírus Epstein-Barr (B). Observar menor expressão de perforinas em A, infecção aguda pelo HIV.

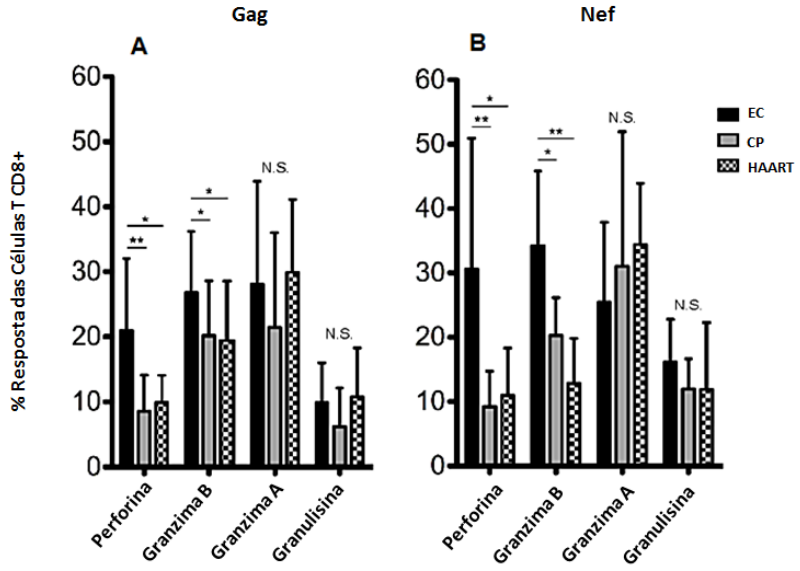


Fonte: (ANDERSSON *et al*., 2002)

Indivíduos denominados Controladores de Elite (Elite Control (EC)), podem controlar a carga viral naturalmente para níveis mais baixos, sem a intervenção da terapia anti-retroviral altamente ativa (HAART - *Highly active antiretroviral therapy*) (HERSPERGER *et al*., 2011). Os mecanismos imunológicos deste controle ainda não são claramente entendidos, mas buscar entender esse controle natural pode ajudar no desenvolvimento de estratégias imunoterapêuticas e uma possível vacina (MADHAVI *et al*., 2017). De acordo com os estudos de Hersperger *et al*. (2011), essa população possui maior expressão do fator de transcrição T-bet (responsável pela condução e modulação da função efetora; influência nos níveis de expressão das moléculas citolíticas) em CTL específicos ao HIV. Comentam também que, CTLs específicas para o HIV de ECs, demonstraram maior expressão de perforina e granzima B, do que, progressores cronicamente infectados (PCs) infectados pelo HIV ou indivíduos com supressão de HAART, em ambos os grupos (Gráfico 4); no entanto, não houve diferença nos níveis de granzima A ou granulisina entre os grupos.

Brazilian Journal of health Review

Gráfico 4: Relação de produção de perforina, granzima B, granzima A e granulisina Gag específico (A) e Nef específico (B) de respostas de CTLs ao HIV em pacientes controladores de elite (EC), progressores cronicamente infectados (CP) e indivíduos com terapia anti-retroviral altamente ativa (HAART).



Fonte: Adaptado de (HERSPERGER *et al*., 2011)

Entretanto, as APCs, em especial os linfócitos T $CD4^+$, são infectadas, danificadas e destruídas pelo vírus HIV (GOONETILLEKE *et al*., 2009) que, em uma infecção crônica, a taxa de destruição dos linfócitos T $CD4^+$ é estimada em 3×10^9 células por dia (SILVA, 2009). Isso é importante, porque, para ocorrer a ação dos CTLs, após o reconhecimento via TCR do peptídeo viral, expresso via MHC-I pela célula-alvo e dos mecanismos efetores de eliminação viral (MOTOZONO *et al*., 2009; ROUSSEAU *et al*., 2008) como descritos ao decorrer do trabalho, sobre células infectadas pelo HIV, a presença das APCs é fundamental justamente, por contribuírem com mecanismos de sobrevivência, ativação, diferenciação e ação dos CTLs. Dessa forma, na medida em que as APCs são destruídas, concomitantemente, a potência da resposta dos CTLs contra o HIV também diminui (BALESTIERI, 2006; GOULDER; WATKINS, 2004). No estudo de Qiu (2019), foi formulado um modelo matemático para investigar o efeito do citotóxico da resposta imune dos CTL e ajudar na compreensão da dinâmica da infecção pelo HIV, no qual simulações e cálculos matemáticos confirmam os resultados teóricos no qual os CTL é um fator importante que desempenha um papel crítico e essencial no controle da infecção do HIV e não devem ser ignorados.

Brazilian Journal of health Review

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os CTLs são capazes de destruir as células infectadas pelo HIV e, consequentemente, inibir a replicação do vírus, por meio da ação em conjunto de granulisinas, perforinas, granzimas (principalmente a granzima B) e interações Fas-FasL, levando a morte celular da célula-alvo por apoptose, e como resultado, promovendo redução da viremia na fase aguda. Dessa forma, em um primeiro momento, a infecção pode ser combatida, mas não erradicada.

A infecção não pode ser erradicada porque o HIV-1 é mutagênico e promove diminuição na expressão de MHC-I por meio da proteína Nef, escapando do reconhecimento dos CTLs. Além disso, ao decorrer do tempo, a profunda imunodeficiência provocada pelo HIV-1, por ser mais virulento que o HIV do tipo 2, em especial, a destruição de linfócitos T helper e células dendríticas, causam uma série de alterações prejudicando a perda de resposta para o combate dos CTLs sobre o HIV e, consequentemente, levando a progressão para AIDS.

A falta de IL-7 constitui uma das alterações que merecem destaque, uma vez em que é estimulo de sobrevivência para as células T $CD8^{+}$; o processo de licenciamento não ocorre, posteriormente, o CTL-P não se diferencia em CTL funcional, isso é extremamente prejudicial, porque um CTL-P é incapaz de destruir células-alvo, via dependente ou independente de grânulos.

A ausência do processo de licenciamento, no qual os linfócitos T helper e células dendríticas estão integralmente envolvidos, a ativação, proliferação e diferenciação de um CTL a partir de CTL-P não ocorrem, pois necessitam do sinal antígeno-específico transmitido pelo complexo TCR mediante a atividade de reconhecimento na interação com uma APC licenciada, um sinal co-estimulador transmitido a partir da interação CD28-B7 do CTL-P com a APC e um sinal induzido pela interação de IL-2 com seu receptor IL-2Rβϒ.

Na medida em que as APCs são destruídas ao decorrer do tempo, concomitantemente, a potência da resposta dos CTLs contra o HIV, tende a diminuir.

REFERÊNCIAS

ABBAS, Abul K.; LICHTMAN, Andrew H.; PILLAI, Shiv. **Imunologia celular e molecular.** 9. ed. Rio de Janeiro, Rj: Elsevier, 2019.

ALFONZO, Miguel Antonio *et al*. Estado funcional dos linfócitos T CD4+ e CD8+ e seu papel na progressão lenta da infecção por HIV em pacientes pediátricos. **Jornal de Pediatria.** Rio de Janeiro, Rj, p. 161-168. 18 jan. 2012.

ANDERSSON, Jan *et al*. Low Levels of Perforin Expression in CD81 T Lymphocyte Granules in Lymphoid Tissue during Acute Human Immunodeficiency Virus Type 1 Infection. **The Journal Of Infectious Diseases.** Chicago, p. 1355-1358. 16 abr. 2002.

ASQUITH, Becca; MCLEAN, Angela R.. **In vivo CD8 T cell control of immunodeficiency virus infection in humans and macaques.** 2006. Disponível em: <www.pnas.orgcgidoi10.1073pnas.0700666104>. Acesso em: 05 maio 2015.

AZEVEDO-PEREIRA, J. M.; SANTOS-COSTA, Q. [Chemokine receptors and its importance in the replication cycle of human immunodeficiency vírus: clinical and therapeutic implications]. Acta médica portuguesa, v. 21, n. 5, p. 497-504, out. 2008.

BADOVINAC, Vladimir P.; HARING, Jodie S.; HARTY, John T.. Initial T Cell Receptor Transgenic Cell Precursor Frequency Dictates Critical Aspects of the CD8+ T Cell Response to Infection. Immunity, Iowa, v. 26, p.827-841, 7 jun. 2007.

BALESTIERI, Filomena Maria Perrella. **Imunologia.** Barueri, Sp: Manole, 2006.

BEAL, A. M *et al.* Protein kinase C theta regulates stability of the peripheral adhesion ring junction and contributes to the sensitivity of target cell lysis by CTL. Journal Immunol, Philadelphia, Pa, v. 7, n. 181, p.4815-4824, 1 out. 2008. Department of Microbiology and Immunology and Kimmel Cancer Institute.

BELOV, Larissa *et al*. Immunophenotyping of Leukemias Using a Cluster of Differentiation Antibody Microarray. **Cancer Research,** Sydney, v. 61, p.4483-4489, 01 jun. 2001.

BENJAMINI, Eli; COICO, Richard; SUNSHINE, Geoffrey. **Imunologia.** 4. ed. Rio de Janeiro, Rj: Guanabara Koogan, 2002.

BERGANTINI, Ana Paula F. *et al*. Leucemia mielóide crônica e o sistema Fas-FasL. **Rev. Bras. Hematol. Hemoter,** São José do Rio Preto, Sp, v. 27, n. 2, p.120-125, 21 jun. 2005.

BHARDWAJ, Nina; HLADIK, Florian; MOIR, Susan. **The immune response to HIV.** 2012. Disponível em :http://www.nature.com/nri/posters/hiv/nri1201_hiv_references.pdf>. Acesso em: 19 mar. 2015.

BLINK, Elizabeth J; A TRAPANI, Joseph; A JANS, David. Perforin-dependent nuclear targeting of granzymes: A central role in the nuclear events of granule-exocytosis-mediated apoptosis? **Immunology And Cell Biology,** Australia, n. 77, p.206-215, 06 jan. 1999.

BLUM, Janice S.; WEARSCH, Pamela A.; CRESSWELL, Peter. Pathways of Antigen Processing. **Annu Rev Immunol,** Indianapolis, In, v. 31, p.443-473, 19 maio 2014.

BRITO, Monique Araújo de. Fármacos recentes usados para o tratamento da infecção pelo HIV-1: enfuvirtida, maraviroc, raltegravir e etravirina. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada,** Niterói, Rj, v. 32, n. 2, p.159-168, 17 abr. 2011.

CALICH, Vera; VAZ, Celidéia. **Imunologia.** 2. ed. Rio de Janeiro, Rj: Revinter, 2009.

CHAPEL, Helen *et al*. Imunologia para o clínico. 4. ed. Rio de Janeiro, Rj: Revinter, 2003.

CLÍNICA, Sociedade Brasileira de Patologia (Org.). **Recomendações da Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial (SBPC/ML):** Coleta e preparo da amostra biológica. Barueri, Sp: Manole: Minha Editora, 2014.

CRISPE, Ian N.. APC licensing and CD4 T cell help in liver-stage malaria. **Frontiers In Microbiology,** Seattle, Wa, v. 5, n. 617, p.1-5, 11 nov. 2014.

DUGGAL, S.; CHUGH, T. D.; DUGGAL, A. K. HIV and Malnutrition: Effects on Immune System. Clinical and Developmental Immunology, v. 2012, p.1-8, 2012.

ENGELMAN, Alan; CHEREPANOV, Peter. The structural biology of HIV-1: mechanistic and therapeutic insights. **Nat Rev Microbiol,** Boston, Ma, v. 10, n. 4, p.279-290, 01 abr. 2013.

ERICKSON, A. L *et al.* Potentially exposed but uninfected individuals produce cytotoxic and polyfunctional human immunodeficiency virus type 1 specific CD8(+) T- cell responses which can be defined to the epitope level. Clin Vaccine Immunol, v. 15, n. 11, p. 1745-1748, 2008.

FERRARI, Guido *et al*. Relationship between Functional Profile of HIV-1 Specific CD8 T Cells and Epitope Variability with the Selection of Escape Mutants in Acute HIV-1 Infection. **Plos Pathogens,** North Carolina, v. 7, n. 2, p.1-14, 10 fev. 2011.

FERREIRA, R. C. S.; RIFFEL, A.; SANT'ANA, A. E. G. HIV: mecanismo de replicação, alvos farmacológicos e inibição por produtos derivados de plantas. Química Nova, v. 33, n. 8, p. 1743-1755, 2010.

FÈVRIER, M.; DORGHAM, K.; REBOLLO, A. CD4+ T Cell Depletion in Human Immunodeficiency Virus (HIV) Infection: Role of Apoptosis. Viruses, v. 3, n. 5, p. 586-612, 12 maio. 2011.

FOOKSMAN, David R *et al.* Functional Anatomy of T Cell Activation and Synapse Formation. Annu Rev Immunol, New York, Ny, v. 105, n. 79, p.1-30, 23 abr. 2011.

GARCIA, Marco Antonio Ayala *et al*. The Major Histocompatibility Complex in Transplantation. **Journal Of Transplantation.** México, p. 1-7. 19 abr. 2012.

GENESCA, Meritxell. Characterization of an Effective CTL Response against HIV and SIV Infections. **Journal Of Biomedicine And Biotechnology.** Badalona, Spain, p. 1-9. 01 ago. 2011.

GÉRARD, Audrey *et al*. Secondary Synaptic T-T Circuits Drive Protective CD8+ T cell Differentiation. **Nat Immunol,** San Francisco, v. 14, n. 4, p.356-363, 22 mar. 2014.

GOONETILLEKE, Nilu *et al*. The first T cell response to transmitted/ founder virus contributes to the control of acute viremia in HIV-1 infection. The Journal Of Experimental Medicine. Oxford, p. 1253-1272. 08 jun. 2009.

GOULDER, Philip J. R.; WATKINS, David I.. HIV and SIV CTL escape: implications for vaccine design. **Nature Reviews Immunology,** Oxford, v. 8, n. 4, p.630-640, ago. 2004. Http://www.nature.com/nri/journal/v4/n8/fig_tab/nri1417_F1.html.

GRAY, Daniel C.; MAHRUS, Sami; WELLS, James A.. Activation of Specific Apoptotic Caspases with an Engineered Small Molecule-Activated Protease. **Cell,** San Francisco, Ca, v. 142, n. 4, p.637-646, 20 ago. 2010.

GUERREIRO. R.; SANTOS-COSTA, Q.; AZEVEDO-PEREIRA, J. M. [The chemokines and their receptors: characteristics and physiological functions]. Acta médica portuguesa, v. 24 Suppl 4, p. 967-976, dez. 2011.

GUY, Clifford S. *et al*. Distinct T cell receptor signaling pathways drive proliferation and cytokine production in T cells. Nat Immunol, Memphis, Tn, v. 14, n. 3, p.262-270, 14 mar. 2013.

HEIDEN, Matthew G. Vander; CANTLEY, Lewis C.; THOMPSON, Craig B.. Understanding the Warburg Effect: The Metabolic Requirements of Cell Proliferation. Science, Boston, Ma, v. 324, n. 5930, p.1029-1033, 5 abr. 2010.

HERSPERGER, Adam R. *et al*. Increased HIV-specific CD8 T-cell cytotoxic potential in HIV elite controllers is associated with T-bet expression. Bloodjournal. Philadelphia, Pa, p. 3799-3808. 7 abr. 2011.

HUNT, P. W.; CARRINGTON, M. Host genetic determinants of HIV pathogenesis: an immunologic perspective. Curr Opin HIV AIDS, v. 3, n. 3, p. 342-348, 2008.

INGRAHAM, John L.; INGRAHAM, Catherine A.. **Introdução à Microbiologia:** Uma abordagem baseada em estudos de casos. 3. ed. São Paulo, Sp: Cengage Learning, 2010.

JONES, Nicola A. et al. Determinants of Human Immunodeficiency Virus Type 1 Escape from the Primary CD8 Cytotoxic T Lymphocyte Response. **The Journal Of Experimental Medicine.** England, p. 1243-1256. 15 nov. 2004.

JUNIOR, Danilo Mesquita *et al*. Sistema Imunitário - Parte II Fundamentos da resposta imunológica mediada por linfócitos B eT. Rev Bras Reumatol, São Paulo, Sp, v. 5, n. 50, p.552-580, 23 set. 2010.

KINDT, Thomas J.; GOLDSBY, Richard A.; OSBORNE, Barbara A.. Imunologia de Kuby. 6. ed. Porto Alegre, Rs: Artmed, 2008.

KRENSKY, A. M.; CLAYBERGER, C.. Biology and clinical relevance of granulysin. **Tissue Antigens,** Bethesda, v. 3, n. 73, p.193-198, mar. 2009.

KUMAR, Vinay; ABBAS, Abul K.; FAUSTO, Nelson. **Patologia:** Bases patológicas das doenças. 9. ed. Rio de Janeiro, Rj: Elsevier, 2016.

LAZZAROTTO, Alexandre Ramos; DERESZ, Luís Fernando; SPRINZ, Eduardo. HIV/AIDS e Treinamento Concorrente: a Revisão Sistemática. **Rev Bras Med Esporte**, Novo Hamburgo, Rs, v. 16, n. 2, p. 149-154, abr. 2010.

LEWIS, Martha J. *et al*. Partial Escape of HIV-1 from Cytotoxic T Lymphocytes during Chronic Infection. **Journal Of Virology.** Los Angeles, Califórnia, p. 7459-7463. 02 maio 2012.
LI, Xian C.; RAGHAVAN, Malini. Structure and function of major histocompatibility complex (MHC) class I antigens. **Curr Opin Organ Transplant,** Boston, Ma, v. 15, n. 4, p.499-504, ago. 2010.

LIAO, Wei *et al*. Cytokine receptor modulation by interleukin-2 broadly regulates T helper cell lineage differentiation. **Nat Immunol.,** Bethesda, v. 6, n. 12, p.551-559, jun. 2011.

LIMA, Josenilson Feitosa de. Perfil fenotípico e funcional de células Natural Killers induzido por ligantes de receptores Toll-like e células T CD8+ antígeno-específicas em indivíduos

expostos e não infectados por HIV-1. 2013. 102 f. Tese (Doutorado) - Curso de Medicina, Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, São Paulo, Sp, 2013.

LIU, Yi *et al*. Dynamics of Viral Evolution and CTL Responses in HIV-1 Infection. **Plos One,** China, v. 6, n. 1, p.1-12, 20 jan. 2011.

LORENZI, Júlio César Cetrulo; LORENZI, Valéria Cintra Barbosa; ZANETTE, Dalila Lucíola. Linfócitos T CD4+ e a resposta imune. **Scire Salutis,** Aquidabã, v. 2, n. 1, p.1-5, 30 mar. 2012.

LYKENS, Jennifer E. *et al*. Perforin is a critical physiologic regulator of T-cell activation. Blood Journal, Washington Dc, v. 118, n. 3, p.618-626, 23 maio 2011. The American Society of Hematology.

MADHAVI, Vijaya *et al*. HIV-1 Env- and Vpu-Specific AntibodyDependent Cellular Cytotoxicity Responses Associated with Elite Control of HIV. **American Society For Microbiology**: Journal of Virology, Austrália, v. 91, n. 18, p. 1-16, set. 2017. Disponível em: https://jvi.asm.org/content/91/18/e00700-17.short. Acesso em: 07 maio 2020.

MCMICHAEL, A. J.; ROWLAND-JONES, S. L. Cellular immune responses to HIV. Nature, v. 410, n. 683, p. 980-987, 2001.

MEÇA, K.k.o.l. *et al*. Apoptose e expressão de Bcl-2 e das caspases 3 e 8 em placenta bovina, em diferentes estádios de gestação. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec,** Belo Horizonte, Mg, v. 62, n. 2, p.258-264, 6 abr. 2010.

MICHALEK, Ryan D.; RATHMELL, Jeffrey C.. The metabolic life and times of a T-cell. Immunol Rev, Durham, Nc, v. 236, p.190-202, 1 jul. 2011.

MOTOZONO, Chihiro *et al*. Impact of Intrinsic Cooperative Thermodynamics of Peptide-MHC Complexes on Antiviral Activity of HIV-Specific CTL. **The Journal Of Immunology.** Tokyo, Kashiwa, Japan, p. 5528-5536. 25 fev. 2009.

MURPHY, Kenneth; TRAVERS, Paul; WALPORT, Mark. Imunobiologia de Janeway. 7. ed. Porto Alegre: Artmed, 2010.

NAGARAJAN, Niranjana A.; GONZALEZ, Federico; SHASTRI, Nilabh. Non-classical MHC class Ib-restricted cytotoxic T cells monitor antigen processing in the endoplasmic reticulum. Nat Immunol, Berkeley, Ca, v. 13, n. 6, p.579-586, 01 dez. 2012.

NANJAPPA, Som G. *et al*. Effects of IL-7 on memory CD8+ T cell homeostasis are influenced by the timing of therapy in mice. **The Journal Of Clinical Investigation .**Wisconsin, p. 1027-1039. mar. 2008.

NYAMWEYA, Samuel *et al*. Comparing HIV-1 and HIV-2 infection: Lessons for viral immunopathogenesis. **Reviews In Medical Virology,** Oxford, p.1-20, 20 nov. 2012.

OWEN, R. E *et a.* HIV+ elite controllers have low HIV-specific T-cell activation yet maintain strong, polyfunctional T-cell reponses. AIDS, v. 24, n. 8, p. 1095-1105, 2010.

PARISH, Ian A.; KAECH, Susan M.. Diversity in CD8+ T cell differentiation. Curr Opin Immunol, New Haven, Ct, v. 3, n. 21, p.291-297, 18 abr. 2014.

PARSLOW, T. G *et al.* Imunologia médica. 10. Ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004.

24. PENN, Dustin J. **Major Histocompatibility Complex (MHC).** Salt Lake City, Utah: Encyclopedia Of Life Sciences, 2002. 7 f. File:///C:/Users/Home/Downloads/00b49524ec47b910f5000000 (1).pdf.

PIASSA FILHO, Gilberto Moreira. **Avaliação da proliferação de linfócitos T CD8+ por células dendríticas desafiadas com pró-oxidantes.** 2010. 91 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Biotecnologia, Interunidades de Biotecnologia do Instituto Butantã, Universidade de São Paulo, São Paulo, Sp, 2010.

PROTEIN DATA BANK. **The Structural Biology of HIV.** 2000. Research Collaboratory for Structural Bioinformatics (RCSB). Disponível em:

<http://www.rcsb.org/pdb/education_discussion/educational_resources/struct_bio_hiv_lores.pdf>. Acesso em: 14 abr. 2015.

PUNT, Jenni *et al*. **Kuby Immunology**. 8. ed. [s.i]: W. H. Freeman, 2018.

QIU, Ting Guo And Zhipeng. The effects of CTL immune response on HIV infection model with potent therapy, latently infected cells and cell-to-cell viral transmission. **Mathematical Biosciences And Engineering**, Nanjing, v. 16, n. 6, p. 6822-6841, 26 jul. 2019. Doi: 10.3934/mbe.2019341.. Disponível em: http://www.aimspress.com/article/10.3934/mbe.2019341. Acesso em: 06 maio 2020.

ROUSSEAU, Christine M. *et al*. HLA Class I-Driven Evolution of Human Immunodeficiency Virus Type 1 Subtype C Proteome: Immune Escape and Viral Load. **Journal Of Virology.** Seattle, Washington, p. 6434-6446. jul. 2008.

SAHARIA, Kapil K.; KOUP, Richard A.. Pathogen-specific T cell susceptibility to HIV influences the natural history of opportunistic infections. **Cell,** Baltimore, v. 155, n. 3, p.1-20, 24 out. 2013.

SHACKLETT, Barbara L. *et al*. Abundant Expression of Granzyme A, but Not Perforin, in Granules of CD8 T Cells in GALT: Implications for Immune Control of HIV-1 Infection. **The Journal Of Immunology.** San Francisco, Ca, p. 641-648. 23 abr. 2004.

SILVA, Adriana Coutinho da. **Caracterização fenotípica e funcional de linfócitos T de memória de indivíduos infectados pelo HIV reativos a epítopos T CD4+ derivados de sequências consenso B do HIV-1.** 2009. 220 f. Tese (Doutorado) - Curso de Ciências, Alergia e Imunopatologia, Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, São Paulo, Sp, 2009.

SINGH, Paras et al. Immunogenetic basis of HIV-1 infection, transmission and disease progression. **Vaccine.** New Delhi, India, p. 2966-2980. 09 jan. 2008.

Steele EJ, Lindley RA.
Regulatory T cells and co-evolution of allele-specific
MHC recognition by the TCR. Scand J Immunol.

2020;91:e12853. https ://doi.org/10.1111/sji.12853
Steele EJ, Lindley RA.
Regulatory T cells and co-evolution of allele-specific
MHC recognition by the TCR. Scand J Immunol.
2020;91:e12853. https ://doi.org/10.1111/sji.12853
STEELE, Edward J.; LINDLEY, Robyn A.. Regulatory T cells and co-evolution of allele-specific MHC recognition by the TCR. **Scandinavian Journal Of Immunology**, Melbourne, Vic, v. 91, n. 3, p. 1-8, 17 dez. 2019. Wiley. http://dx.doi.org/10.1111/sji.12853..1111/sji.12853 2020;91:e12853. https ://doi.org/10.1111/sji.12853

SUN, Joseph C.; BEVAN, Michael J.. Defective CD8 T Cell Memory Following Acute Infection Without CD4 T Cell Help. Science, Washington, v. 300, n. 5617, p.1-7, 17 nov. 2009.

TRAPANI, Joseph A.. **Granzymes: a family of lymphocyte granule serine proteases.** 2001. Disponível em: <http://genomebiology.com/2001/2/12/reviews/3014>. Acesso em: 09 mar. 2015.

THIERY, Jerome *et al.* Perforin pores in the endosomal membrane trigger release of endocytosed granzyme B to the cytosol of target cells. Nat Immunol, Boston, v. 8, n. 12, p.770-777, jan. 2012.

UCHIL, Pradeep D.; MOTHES, Walther. HIV Entry Revisited. **Cell,** New Haven, v. 137, n. 3, p.402-404, 01 maio 2009.

UNAIDS (org.). **RELATÓRIO INFORMATIVO – DIA MUNDIAL CONTRA A AIDS 2019**. Brasília, Df: Unaids, 2019. 6 p. 6 f. Disponível em: https://unaids.org.br/estatisticas/. Acesso em: 09 maio 2020.

WALKER, Bruce; MCMICHAEL, Andrew. The T-Cell Response to HIV. Cold Spring Harb Perspect Med, Massachusetts, v. 11, n. 2, p.1-19, nov. 2012. Http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3543107/.

WOOLDRIDGE, Linda *et al*. Major histocompatibility complex class I molecules with superenhanced CD8 binding properties bypass the requirement for cognate TCR recognition and non-specifically activate cytotoxic T lymphocytes1. Journal Immunol, Australia, v. 7, n. 184, p.3357-3366, abr. 2010. Europe PMC Funders Group.

YOON, Heesik; KIM, Taeg S.; BRACIALE, Thomas J.. The Cell Cycle Time of CD8+ T Cells Responding In Vivo Is Controlled by the Type of Antigenic Stimulus. Plos One,Virginia, v. 5, n. 11, p.1-12, 8 nov. 2010.

ZHANG, Nu; BEVAN, Michael J.. CD8+ T Cells: Foot Soldiers of the Immune System. Immunity, Seattle, Wa, v. 2, n. 35, p.161-168, 26 ago. 2012. 1Department of Immunology and the Howard Hughes Medical Institute.

ZHU, Jinfang; YAMANE, Hidehiro; PAUL, William E.. Differentiation of Effector CD4 T Cell Populations. **Annu Rev Immunol,** Bethesda, v. 28, p.445-489, 20 nov. 2012.