

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE MEDICINA DE RIBEIRÃO PRETO
Programa de Pós-Graduação em Imunologia Básica e Aplicada

LEONARDO JUDSON GALVÃO DE LIMA

**Alterações funcionais de macrófagos ativados
nos padrões M1 e M2 de pacientes HIV-1+ em
resposta a estímulos fúngicos e bacterianos**

Ribeirão Preto

2014

LEONARDO JUDSON GALVÃO DE LIMA

**Alterações funcionais de macrófagos ativados nos
padrões M1 e M2 de pacientes HIV-1+ em resposta a
estímulos fúngicos e bacterianos**

Dissertação apresentada à Faculdade de Medicina
de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo
para obtenção do título de Mestre em Ciências.

Área de concentração: Imunologia Básica e
Aplicada.

Orientadora: Prof^ª. Dr^ª. Fabiani Gai Frantz

Versão Corrigida

(versão original disponível na Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto)

Ribeirão Preto

2014

AUTORIZO A REPRODUÇÃO E DIVULGAÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTE TRABALHO, POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE.

FICHA CATALOGRÁFICA

Lima, Leonardo Judson Galvão de

Alterações funcionais de macrófagos ativados nos padrões M1 e M2 de pacientes HIV-1+ em resposta a estímulos fúngicos e bacterianos. Ribeirão Preto, 2014.

92 p. : il. ; 30cm

Dissertação apresentada a Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto /USP. Área de concentração: Imunologia Básica e Aplicada.

Orientadora: Frantz, Fabiani Gai.

1. Macrófagos.
2. HIV.
3. Alterações funcionais.
4. Deficiência na resposta imune.

GALVÃO-LIMA, L. J. Alterações funcionais de macrófagos ativados nos padrões M1 e M2 de pacientes HIV-1+ em resposta a estímulos fúngicos e bacterianos. Dissertação apresentada à Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Ciências – Área de concentração: Imunologia Básica e Aplicada.

Aprovado em:

Banca Examinadora

Prof. Dr. _____ Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____ Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____ Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Dedico a realização deste trabalho aos meus pais, Leonaldo e Magneide, meus irmãos, Júnior e Larissa, minha sobrinha, Maria Clara e minha namorada, Waleska, por todo apoio e carinho devotados desde sempre. Apesar de longe fisicamente, jamais deixei de sentir todo amor que emana de vocês.

AGRADECIMENTOS

À Deus, pelo milagre da vida, pela magia de cada descoberta nova, pelas dúvidas e pela dádiva de seguir buscando o conhecimento infinito.

À Dra. Fabiani Frantz pelo carinho e amizade de sempre, além dos inúmeros ensinamentos durante esta fase. Muito obrigado pela confiança depositada desde a nossa primeira reunião. Espero que essa parceria renda muitos frutos.

Aos meus pais e exemplos maiores da minha vida, Leonaldo e Magneide, aos meus irmãos, Júnior e Larissa, e minha sobrinha, Maria Clara, pelo alicerce de vida, pelo imenso amor, pelos ensinamentos, por todo apoio e paciência para compreender a distância como mais uma etapa fundamental na vida. Sem vocês, essa conquista jamais seria possível. Amo muito vocês, muito obrigado!

À mulher mais paciente(!) do mundo inteiro e minha namorada, Waleska. Sua disciplina e persistência sempre me ajudaram a seguir, não importando o tamanho da dificuldade. Muito obrigado pelo seu amor. Espero poder retribuir tudo isso e poder ter você ao meu lado todos os dias da minha vida!

À Dra. Regina Schirmer Barreto Vianna pelo imenso coração e amizade, por me incentivar de todas as formas a prosseguir na árdua batalha da ciência.

Aos meus tios pelo carinho e amizade de sempre. Estendo o meu agradecimento aos meus e avós (Inês, Júlio e Luzia) em Natal. Saudades de todos. Muito obrigado pelas risadas, pelas conversas francas. Amo vocês!

À minha família em Ribeirão Preto, a república 22 (André, Lucas, Neto e Gustavo) pela amizade, pelas conversas – nem sempre científicas - durante as madrugadas e pelas boas risadas de sempre. Espero que cada um de nós consiga realizar os nossos desejos e que possamos seguir com a mesma amizade, independente dos ventos da vida. Agradeço aos amigos de sempre e de toda uma vida: Karime, Rafa, Kívhia, Luiza, Glenn, Talles, Pablo, Nicéforo,

Miguel e Júlio. Aos poucos cada um de nós vai tomando o seu lugar no mundo. Estaremos sempre perto.

Às amigas do LIME (Laboratório de Imunologia e Epigenética), Milena, Luana, Maira, Fabi (Zambs), Thaísa, Carol e Verônica. Poder dividir a bancada e a sala de reuniões com vocês sempre será uma experiência enriquecedora! Muito obrigado por todo carinho e paciência. Estendo este agradecimento aos amigos do LIIP, Morgana, Gisele, Karina, Cláudia, Patrícia, Priscila, Ana, Alyne, Carlos, Raphael, Fabiana e a Dra. Lúcia Faccioli. Muito obrigado pelo apoio e pela amizade.

Aos amigos de Natal e que também fazem pós em Ribeirão, Hudson e Luiza. Sem a companhia de vocês, tudo teria sido mais difícil. Muito obrigado!

À toda equipe do Hospital das Clínicas, especialmente ao Dr. Valdes Bollela, por viabilizarem operacionalmente a realização deste estudo. Agradeço ainda à equipe da Dra. Simone Kashima Haddad pelo treinamento inicial para trabalhar com as amostras, aos pacientes atendidos na UETDI do HC-FMRP/USP e aos doadores de sangue do Hemocentro de Ribeirão Preto por aceitarem participar deste estudo.

Aos membros da banca, Dr. Dumith Chequer Bou-Habib e Dra. Gabriela Silva Bisson, pela gentileza em contribuir para o aperfeiçoamento deste trabalho.

À Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto e à Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto pela infraestrutura. Ao Programa de Pós-Graduação em Imunologia Básica e Aplicada da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto pela formação diferencial.

À Bio-Manguinhos pela doação de kits de triagem para detecção de HIV-1/2 em amostras biológicas.

À CAPES e à FAPESP pelo suporte financeiro durante o desenvolvimento do projeto.

“Dê-me, Senhor, agudeza para entender, capacidade para reter, método e faculdade para aprender, sutileza para interpretar, graça e abundância para falar. Dê-me, Senhor, acerto ao começar, direção ao progredir e perfeição ao concluir.”

São Tomás de Aquino

RESUMO

GALVÃO-LIMA, L. J. **Alterações funcionais de macrófagos ativados nos padrões M1 e M2 de pacientes HIV-1+ em resposta a estímulos fúngicos e bacterianos.** 2014. 92f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2014.

Três décadas após a associação da infecção por HIV com o desenvolvimento da AIDS e seu reconhecimento como epidemia mundial, muitas questões permanecem em aberto e dificultam o desenvolvimento de novas abordagens terapêuticas e profiláticas mais satisfatórias. O desenvolvimento da AIDS é caracterizado pela tempestade de citocinas pró-inflamatórias no plasma, seguido por intensa imunossupressão e redução brusca na quantidade de células T CD4+ durante a replicação viral. Em contrapartida, macrófagos são cronicamente infectados pelo vírus e capazes de sobreviver por vários meses, atuando como importante reservatório viral. Apesar de não haver redução em número de células, macrófagos infectados apresentam problemas de diferenciação e deficiências funcionais. O reconhecimento de padrões moleculares associados a patógenos (PAMPs) e a presença de citocinas no microambiente celular determinam o padrão de diferenciação dos macrófagos em clássicos (M1) ou alternativos (M2). Nossos resultados indicam a reversão parcial da tempestade de citocinas no plasma durante o uso regular da terapia antirretroviral. Não foi observada liberação de óxido nítrico por macrófagos M1 e M2a após o estímulo com PAMPs, fornecendo indícios sobre o silenciamento desta via em macrófagos humanos. Macrófagos M1 e M2a de pacientes HIV+ apresentam redução progressiva na liberação de citocinas e quimiocinas após o estímulo com LPS ou β -Glucana, com restauração parcial após o uso da terapia antirretroviral. Em conjunto, nossos resultados podem ser úteis no estabelecimento de um novo parâmetro para monitoramento da terapia antirretroviral, baseado na resposta funcional de macrófagos.

Palavras-chave: Macrófagos. HIV. Alterações funcionais. Deficiência na resposta imune.

ABSTRACT

GALVÃO-LIMA, L. J. Functional changes of macrophages activated in M1 and M2 patterns derived from HIV-1+ patients in response to fungal and bacterial stimuli. 2014. 92f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2014.

Three decades after the association of HIV infection with the AIDS development and its recognition as a global epidemic, many questions remain unanswered and hamper the development of new and more effective therapeutic and prophylactic approaches. The AIDS development is characterized by proinflammatory cytokines storm in plasma, followed by severe immunosuppression and abrupt reduction of CD4+ T cells during viral replication. In contrast, macrophages are chronically infected by the virus and can survive for several months, acting as important viral reservoir. However, although there is no cell number reduction, infected macrophages have several problems of differentiation and functional impairments. The recognition of pathogen-associated molecular patterns (PAMPs) and the presence of cytokines in the cellular microenvironment determine the macrophage activation into the Classic (M1) or Alternative (M2) patterns. Our results indicated that cytokine storm on plasma is partially reversed during regular use of antiretroviral therapy. No release of nitric oxide was observed by M1 and M2a macrophages after stimulation with PAMPs, providing clues about the silencing of this pathway in human macrophages. Classical and alternatively activated macrophages have progressive reduction of cytokines and chemokines release after stimulation with LPS ou β -Glucana, with partial restore after regular use of antirretroviral therapy. Together, our data may be useful in establishing a new approach to monitoring the antiretroviral therapy, based on functional response of macrophages.

Keywords: Macrophages. HIV. Functional changes. Impaired immune response.

LISTA DE ABREVIATURAS

Ach4	Acetilação da histona 4
AIDS	Síndrome da imunodeficiência adquirida
APCs	Células apresentadoras de antígenos
CCR5	<i>C-C chemokine receptor type 5</i>
CCR7	<i>C-C chemokine receptor type 7</i>
CDC	<i>Center for Disease Control and Prevention</i>
cDNA	Ácido desoxirribonucleico complementar
CD4	<i>Cluster differentiation 4</i>
CD8	<i>Cluster differentiation 8</i>
CD14	<i>Cluster differentiation 14</i>
CD34	<i>Cluster differentiation 34</i>
CD163	<i>Cluster differentiation 163</i>
CO ₂	Dióxido de carbono
CXCR4	<i>C-X-C chemokine receptor type 4</i>
DNA	Ácido desoxirribonucleico
FCFRP/USP	Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo
FMRP/USP	Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo
GM-CSF	<i>Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor</i>
gp120	Glicoproteína de 120 kilodaltons presente no envelope do HIV
HATs	Histona-acetiltransferases
HC/FMRP/USP	Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo
HIV	<i>Human Immunodeficiency Virus</i>
HKs	Histona-Kinases

HMTs	Histona-metiltransferases
IFN- α 2	Interferon-alfa2
IFN- γ	Interferon-gama
IL-1 β	Interleucina 1 beta
IL-4	Interleucina 4
IL-5	Interleucina 5
IL-6	Interleucina 6
IL-10	Interleucina 10
IL-12(p70)	Interleucina 12, subunidades p35 e p40
IL-13	Interleucina 13
IP-10	<i>Interferon gamma-induced protein 10</i>
LPS	Lipopolissacarídeo
MCP-1	<i>Monocyte chemotactic protein-1</i>
μ g	Micrograma
mL	Mililitro
μ M	Micromolar
mRNA	Ácido ribonucleico mensageiro
NF- κ B	<i>Nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells</i>
ng	Nanograma
NO	Óxido nítrico
OMS	Organização Mundial da Saúde
PAMPs	Padrões moleculares associados aos patógenos
PRRs	Receptores celulares de reconhecimento padrão
qPCR	Quantificação da reação em cadeia da polimerase
RANTES	<i>Regulated on activation, normal T cell expressed and secreted</i>
RI	Resposta imune
RNA	Ácido ribonucleico
RPMI	Meio de cultura celular

SFB	Soro fetal bovino
STAT-1	<i>Signal transducers and activators of transcription 1</i>
STAT-6	<i>Signal transducers and activators of transcription 6</i>
TARV	Terapia antirretroviral
TCLE	Termo de consentimento livre e esclarecido
TNF- α	<i>Tumor necrosis factor-alpha</i>
UETDI	Unidade especial de tratamento de doenças infecciosas

1. INTRODUÇÃO

1.1 Estado da arte da infecção por HIV

Em 1981, a ocorrência de casos raros de infecção pulmonar por *P. carinii* e sarcoma de Kaposi em homossexuais residentes em Nova Iorque e na Califórnia, associado ao crescente número de novos casos de imunodeficiência severa, chamou atenção do Centro de Controle de Doenças (CDC) dos Estados Unidos da América. No ano seguinte, surgiram as primeiras pesquisas com intuito de elucidar o aumento progressivo de mortes com característica transmissível nesta população. Neste mesmo ano foi utilizado pela primeira vez o termo AIDS, do inglês *acquired immunodeficiency syndrome*, para designar o desenvolvimento conjunto de sinais e sintomas relacionados à falha na resposta imunológica e ocorrência de infecções oportunistas. Em 1983, as equipes lideradas pelos pesquisadores Luc Montagnier e Robert Gallo, de maneira independente, demonstraram a presença de um novo vírus (inicialmente descrito como LAV ou HTLV-III, respectivamente) em pacientes com AIDS, associando-o com a grave imunossupressão característica da síndrome (BARRÉ-SINOUSSE *et. al.*, 1983; GALLO *et. al.*, 1983). No ano seguinte, os grupos chegaram ao consenso sobre a caracterização do vírus, e posteriormente, sua nomenclatura foi unificada como *Human Immunodeficiency Virus* (HIV) pelo comitê internacional de taxonomia viral em 1986. Desde então, muitos aspectos relacionados ao vírus e à forma como ele influencia a resposta imunológica foram elucidados, permitindo a utilização de drogas capazes de retardar a proliferação viral e a ocorrência de infecções oportunistas.

No entanto, apesar dos notáveis avanços ao longo dos anos relacionados à redução do número de novos casos e ao tratamento dos indivíduos infectados, muitas questões permanecem em aberto e dificultam o desenvolvimento de abordagens terapêuticas e profiláticas mais satisfatórias, visando a eliminação do vírus com preservação do sistema imunológico do indivíduo infectado.

A epidemia mundial de HIV/AIDS foi reconhecida pela Organização Mundial da Saúde (OMS) em 1985 e, anualmente, apresenta progressão contínua. Sendo assim, de acordo com o último boletim epidemiológico, estima-se a existência de aproximadamente 34 milhões de pessoas infectadas com

HIV/AIDS em todo mundo e a ocorrência de 2,5 milhões de novos casos apenas em 2011 (WHO, 2011; IMAI & OCHIAI, 2011). No Brasil, o primeiro relato de isolamento do vírus foi feito pelo grupo liderado pelo Dr. Bernardo Galvão em 1987 e representou um importante marco no desenvolvimento científico do país, especialmente em relação à pesquisa HIV/AIDS e outras doenças infecciosas (GALVÃO-CASTRO *et. al.*, 1987).

Atualmente, a infecção por HIV e o conseqüente desenvolvimento da AIDS (HIV/AIDS), associada à ocorrência de infecções oportunistas é uma das principais causas de morte atribuídas às doenças infecciosas em todo mundo. Neste cenário destaca-se principalmente a co-infecção por *Mycobacterium tuberculosis*, responsável por 26% das mortes relacionadas à HIV/AIDS por ano (GETAHUN *et. al.*, 2010; ANSARI *et al.*, 2013). Estima-se que desde o reconhecimento da epidemia, mais de 30 milhões de óbitos tenham sido relacionados à infecção por HIV/AIDS em todo mundo, sendo 1,7 milhões apenas em 2011 (WHO, 2011).

No Brasil, de acordo com o último boletim epidemiológico (ano-base 2012) do Ministério da Saúde, a epidemia de HIV/AIDS é considerada estável, mas com progressão constante a cada ano, especialmente entre os jovens e alguns subgrupos populacionais em situação de maior vulnerabilidade. Os dados obtidos neste ano revelam um panorama preocupante: A notificação de 38.776 novos casos pelo Ministério da Saúde que representa, em média, a ocorrência de um caso novo notificado a cada 13 minutos (BRASIL, 2012).

1.2 Classificação do HIV, mecanismo de infecção viral e desenvolvimento da resposta imune

O HIV pertence à família *retroviridae* e ao gênero lentivírus, apresentando dois tipos de vírus associados ao desenvolvimento da imunodeficiência em humanos: HIV-1 e HIV-2 (BUONAGURO, TORNESELLO & BUONAGURO, 2007). De acordo com a nomenclatura proposta por Robertson e colaboradores, o HIV-1 pode ser classificado em quatro grupos de acordo com o perfil filogenético: grupo M (maior ou principal); grupo O (*outlier*

ou secundário); grupo N (não-M e não-O) e o grupo P. O grupo M pode ser ainda agrupado em 11 diferentes subgrupos (A1, A2, B, C, D, F1, F2, G, H, J e K) de acordo com a sequência isolada do vírus. (ROBERTSON *et. al.*, 2000; PLANTIER *et. al.*, 2009). Por outro lado, o HIV-2 apresenta sete diferentes grupos (A, B, C, D, E, F e G) com pouca variação genética entre eles (SANTIAGO *et. al.*, 2005).

De acordo com o perfil de distribuição global, o HIV-1 pode ser encontrado em pacientes infectados em todo o mundo, enquanto a infecção por HIV-2 é mais prevalente na África e Ásia (COCK, JAFFE & CURRAN, 2012). Ambos os vírus apresentam lenta velocidade de replicação, ação citopática e são capazes de provocar falhas no desenvolvimento da resposta imunológica (RI), favorecendo a ocorrência de infecções oportunistas e o desenvolvimento de diversos tipos de câncer (BARASA, 2011). Ao longo deste trabalho, a infecção por HIV-1 será abordada muitas vezes de forma genérica por HIV.

A infecção pelo vírus ocorre a partir do contato com sangue ou outros fluídos biológicos contaminados e podem ocorrerem com maior frequência durante a gravidez, parto ou aleitamento materno por mãe contaminada (transmissão vertical); durante a prática sexual sem uso de preservativos; através do compartilhamento de seringas e outros objetos (comuns durante o uso de drogas injetáveis); ou ainda a partir da transfusão de sangue ou derivados contaminados. Outras circunstâncias expõem o indivíduo à maior vulnerabilidade e favorecem a transmissão do vírus: abuso de álcool e outras drogas; situações de reclusão ou a prática sexual com múltiplos parceiros (SLEASMAN & GOODENOW, 2003).

Após entrar em contato com a partícula viral, as primeiras células a serem infectadas são as células dendríticas e macrófagos teciduais, as quais expressam os co-receptores CD4, CXCR4 e CCR5, fundamentais para a fusão do vírus à membrana celular (SMITH *et. al.*, 2003; FREEDMAN *et. al.*, 2003). Molecularmente, a interação inicial entre a proteína viral gp120 e o receptor CD4 induz alterações conformacionais na proteína viral, expondo uma região capaz de interagir com um segundo receptor celular (CCR5 ou CXCR4). Após esta etapa, ocorre a inserção do peptídeo de fusão viral gp41 na membrana,

permitindo assim o acesso da partícula viral ao interior celular. Em seguida, ocorre a dissociação parcial das proteínas do capsídeo viral, resultando na liberação do material genético e de proteínas virais no citoplasma da célula recém-infectada (ENGELMAN & CHEREPANOV, 2012).

O HIV apresenta um genoma de aproximadamente 9180 pares de bases, dispostos na forma de RNA de fita simples e que serve como molde para ação da transcriptase reversa para síntese de um DNA dupla fita correspondente. Esta molécula recém-sintetizada é importada para o núcleo e inserida no genoma da célula hospedeira através da ação da integrase viral, resultando na estabilização do provírus. Após esta etapa, ocorre a transcrição do DNA viral, resultando na formação de moléculas de RNA mensageiro (mRNAs), as quais serão traduzidas em proteínas não-estruturais (Tat, Rev, Nef, Vif, Vpr, Vpu) e estruturais (Gag, Pol, Env, Tat) do vírus. A síntese do polipeptídeo viral Gag dará origem às proteínas do capsídeo, da matriz e do nucleocapsídeo viral. A partir do momento em que a concentração desse polipeptídeo no citoplasma atinge níveis satisfatórios, a formação de novas partículas virais é iniciada, caracterizando o início da fase produtiva da infecção (FERRANTELLI, CAFARO & ENSOLI, 2004; CARTER & EHRLICH, 2008; ENGELMAN & CHEREPANOV, 2012; BARRÉ-SINOUSI, ROSS & DELFRAISSY, 2013).

No início da infecção, as células residentes teciduais desencadeiam a resposta imune (RI) inata liberando diversas citocinas e quimiocinas, o que resulta no recrutamento de novas células para o tecido. Dentre as células recrutadas, os macrófagos e as células dendríticas (ambas capazes de apresentar antígenos de forma profissional – APCs), expressam moléculas CD4 e CCR5 em sua superfície e permitem o estabelecimento da infecção viral no tecido. Em seguida, estas células recém-infectadas migram para os linfonodos drenantes e interagem com os linfócitos T CD4+CCR5+, disseminando a infecção através de um processo chamado de *trans-infecção* (GEIJTENBEEK *et. al.*, 2000). Dessa forma, apesar de iniciar a resposta imune adaptativa contra a infecção recém-instalada, a apresentação antigênica mediada por APCs infectadas favorece a disseminação viral nos órgãos

linfóides secundários e contribui diretamente para o estabelecimento da infecção sistêmica. A disseminação da infecção é caracterizada pelo aumento do número de novas células infectadas, a redução progressiva no número de linfócitos T CD4+ presentes no sangue periférico e na mucosa intestinal, devido ao aumento da carga viral presente no plasma e da ativação sustentada da resposta imunológica (GEIJTENBEEK *et. al.*, 2000; MOIR *et. al.*, 2000).

1.3 Desenvolvimento da AIDS e indicações para início da Terapia Antiretroviral

O desequilíbrio da resposta imunológica gerado pela lise dos linfócitos T CD4+ presentes no sangue periférico e nas mucosas, associado às alterações funcionais de macrófagos infectados, afeta diretamente a integridade do epitélio intestinal, permitindo a translocação da microbiota e a consequente liberação de diversos PAMPs na corrente sanguínea (MARCHETTI, TINCATI & SILVESTRI, 2013). O reconhecimento dessas moléculas por células da imunidade inata induz a ativação sistêmica da resposta imunológica, a partir da liberação de diversas citocinas e quimiocinas no plasma, resultando em um fenômeno conhecido como “tempestade de citocinas” (KAMAT *et. al.*, 2012). Contraditoriamente, o aumento da ativação imune é acompanhado pela maior suscetibilidade à ocorrência de infecções por microrganismos oportunistas e o desenvolvimento de outros sinais e sintomas (como febre, diarreia, sudorese noturna e emagrecimento), característicos da AIDS.

A síndrome é caracterizada pela ocorrência de infecções oportunistas secundárias à intensa imunossupressão causada após a infecção viral. A maior parte dos trabalhos encontrados na literatura relacionam o desenvolvimento deste quadro ocorre a redução brusca de linfócitos T CD4+ no sangue periférico, gerado pela intensa proliferação viral durante a fase ativa, aumento das taxas de apoptose destas células, resultando na eliminação mediada por linfócitos T CD8+vdas células infectadas e afetando diretamente a RI adaptativa (BARASA, 2011). No entanto, recentemente o grupo liderado pelo Dr. Warner Greene descreveu a morte celular através do mecanismo de piroptose, mediada

pela ativação de caspase 1 e IFI16, como principal mecanismo de redução de linfócitos T CD4+ nos órgãos linfoides secundários (DOITSH *et. al.*, 2014; MONROE *et. al.*, 2014). Contudo, até o momento são poucos os trabalhos presentes na literatura que relacionam as alterações induzidas pelo vírus em células da imunidade inata com as falhas encontradas no desenvolvimento da resposta imunológica dos indivíduos infectados.

Após a infecção pelo HIV, cada indivíduo apresenta progressão variável até o desenvolvimento da AIDS, podendo conviver vários anos sem maiores complicações de seu quadro clínico e sem a necessidade de iniciar a terapia antirretroviral (TARV) (CROWE & SONZA, 2000).

Ao longo dos últimos anos, as normas estabelecidas pelo Ministério da Saúde do Brasil e pela Organização Mundial da Saúde foram revisadas e, desde 2013, o protocolo brasileiro recomenda o início imediato da terapia antirretroviral (TARV) após o diagnóstico da infecção confirmada por ELISA ou *western-blot*. Este protocolo entende que o comprometimento sistêmico da resposta imunológica ocorre desde as etapas iniciais da infecção e tem como principais objetivos retardar a multiplicação viral e a acentuação da destruição das células do sistema imune. A terapia pode ser indicada ainda como medida profilática em situações onde parceiros sexuais apresentem condições sorológicas discordantes ou para profissionais de saúde que tenham se acidentado com material biológico e/ou perfuro-cortante (NIAID, 2011; BRASIL, 2013; WHO, 2013).

1.4 Infecção em monócitos/macrófagos e sua influência nos padrões de ativação celular

Enquanto a replicação viral é ocasiona rapidamente a destruição de linfócitos T CD4+, os monócitos e macrófagos infectados são mais resistentes e podem sobreviver por vários meses após a infecção. Tal característica permite que estas células representem um importante reservatório viral durante a infecção, favorecendo a disseminação da infecção para novas células (CUNNINGHAM *et. al.*, 2010; CLAPHAM & MCKIGHT, 2002; BENAROCH *et.*

al., 2010). Claramente, monócitos são menos permissivos à infecção viral do que macrófagos (RICH *et. al.*, 1992; SONZA *et. al.*, 1996; YU *et. al.*, 2006; ALEXAKI, LIU & WIGDAHL, 2008; COLLINI *et. al.*, 2010). No entanto, Sperber e colaboradores demonstraram que macrófagos derivados de monócitos apresentam progressivas deficiências na produção de citocinas e na apresentação de antígenos após a infecção *in vitro* por HIV, enquanto que, recentemente, Jambo e colaboradores evidenciaram alterações na fagocitose de macrófagos alveolares de pacientes infectados (SPERBER *et. al.*, 1993; JAMBO *et. al.*, 2014).

A resposta imunológica inata contra microrganismos é dependente da interação entre os receptores celulares de reconhecimento padrão (Pattern Recognition Receptors, ou PRRs) e os padrões moleculares associados aos patógenos (Pathogen Associated Molecular Pattern, ou PAMPs). Desse modo, para que ocorra a ativação de macrófagos, são necessários dois sinais principais: o reconhecimento de PAMPs pelos PRRs e o co-estímulo de citocinas presentes no microambiente celular (revisado por MELCHJORSEN, 2013). Em conjunto, esses fatores influenciam diretamente na ativação de macrófagos, polarizando a resposta destas células em dois padrões distintos: clássico (M1) ou alternativo (M2). Este processo ocorre de forma dinâmica e permite a transição entre os dois estados funcionais de ativação celular. A ativação de macrófagos no padrão M1 está relacionada com a maior produção de citocinas pró-inflamatórias, alta capacidade microbicida e de eliminação de células tumorais, relacionando-se diretamente ao desenvolvimento da resposta Th1. Por sua vez, existem três subtipos distintos de macrófagos ativados no padrão alternativo: M2a, M2b e M2c. A ativação nesses padrões divergem em relação ao conjunto de citocinas presentes no microambiente celular, porém, em geral, a ativação dos subtipos de macrófagos M2 está relacionada ao desenvolvimento da resposta imune contra infecções parasitárias, desenvolvimento e progressão tumoral, reparo tecidual e atividade imunorreguladora, assemelhando-se ao padrão de resposta Th2 (LAWRENCE & NATOLI, 2011; ISHII *et. al.*, 2009; SICA & MANTOVANI, 2012).

A presença de citocinas específicas (como IFN- γ ou IL-4/IL-13) no microambiente celular é capaz de induzir alterações epigenéticas, resultando em perfis distintos de expressão gênica e influenciando na ativação de macrófagos nos padrões M1 e M2a (KITTAN *et al.*, 2013). De forma semelhante, a co-evolução viral junto de seus hospedeiros tem selecionado aqueles mais aptos à evasão da RI, sem que ocorra prejuízo à sua capacidade de propagação (ADHYA & BASU, 2010; RASAIYAAH *et al.*, 2013). Dentre os mecanismos utilizados, a regulação epigenética representa uma importante ferramenta para silenciamento de genes da resposta imunológica do hospedeiro (GÓMEZ-DÍAZ *et al.*, 2012). Em outras condições patológicas, como na sepse, alterações epigenéticas foram associadas a funções alteradas de células da RI (WEN *et al.*, 2008). Recentemente, alguns autores têm evidenciado a importância das alterações epigenéticas no controle da replicação do HIV *in vitro* e no desenvolvimento de reservatórios virais (CASSOL *et al.*, 2009; HAKRE *et al.*, 2011), assim como no desenvolvimento de outras doenças infecciosas (MERRICK *et al.*, 2012; JOHANNSEN & LAMBERT, 2013; LIU *et al.*, 2013).

A infecção por HIV está diretamente associada à quebra da integridade da mucosa intestinal e à intensa translocação microbiana, associada a liberação de PAMPs na corrente sanguínea. Nesse contexto, os macrófagos auxiliam o desenvolvimento da tempestade de citocinas pró-inflamatórias no plasma e influenciam diretamente na ativação sustentada da resposta imunológica do perfil Th1 (MARCHETTI, TINCATI & SILVESTRI, 2013; KAMAT *et al.*, 2012; VUJKOVIC-CVIJIN, 2013). No entanto, tem sido demonstrada a capacidade de ativação e modulação *in vitro* das vias de sinalização de macrófagos não infectados após o contato com proteínas do HIV-1 (ENSOLI *et al.*, 1993; OLIVETTA *et al.*, 2003; LAWRENCE & NATOLI, 2011). Chihara e colaboradores demonstraram que proteínas virais são capazes de modular vias de sinalização dependentes de MAPK e NF- κ B preferencialmente em macrófagos M2, contribuindo para ativação sustentada da resposta imune (CHIHARA *et al.*, 2012).

Desse modo, a modulação na ativação de macrófagos induzida pela infecção viral pode estar relacionada à deficiência funcional de macrófagos de pacientes HIV+, favorecendo a ocorrência de infecções oportunistas e o desenvolvimento da AIDS.

2. CONCLUSÕES

Com base nos resultados obtidos ao longo do estudo podemos concluir que:

- A inflamação sistêmica causada pela tempestade de citocinas no plasma de pacientes infectados por HIV é parcialmente revertida em pacientes com uso regular de antirretrovirais, apresentando concentração sérica de TNF- α , IFN- γ , IL-10 e IP-10 semelhante à observada no grupo controle;
- Macrófagos derivados de monócitos humanos não liberam espécies reativas de nitrogênio (óxido nítrico) após o estímulo com PAMPs fúngico (β -glucana) ou bacteriano (LPS);
- Dentre os regimes terapêuticos avaliados, o esquema combinado (utilizando antirretrovirais capazes de inibir a ação da protease, integrase e transcriptase reversa viral) foi capaz de induzir um padrão de liberação de citocinas mais semelhante ao grupo controle, restaurando parcialmente a liberação de IL-12(p70), TNF- α , IFN- α 2, RANTES e IP-10 por macrófagos ativados nos padrões clássico (M1) ou alternativo A (M2a) após o estímulo *in vitro* com LPS ou β -glucana.

REFERÊNCIAS

ADHYA, D. & BASU, A., **Epigenetic modulation of host: new insights into immune evasion by viruses.** *Journal of Biosciences*, 2010. 35: 647-663.

ALEXAKI, A., LIU, Y. & WIGDAHL, B., **Cellular reservoirs of HIV-1 and their Role in Viral Persistence.** *Current HIV Research*, 2008. 6(5):388–400.

ALEXAKI, A. & WIGDAHL, B., **HIV-1 infection of bone marrow hematopoietic progenitor cells and their role in trafficking and viral dissemination.** *PLoS Pathogens*, 2008. 4(12):e1000215

ANSARI, W., KAMARULZAMAN, A. & SCHMIDT, R. E., **Multifaceted impact of host C-C chemokine CCL2 in the immuno-pathogenesis of HIV-1/*M. tuberculosis* co-infection.** *Frontiers in Immunology*, 2013.

AY, E., BANATI, F., MEZEI, M., BAKOS, A., NILLER, H. H., BUZÁS, K. & MINAROVITS, J., **Epigenetics of HIV infection: promising research areas and implications for therapy.** *AIDS review*, 2013. 15:181-188.

BARASA, S. S., **True story about HIV: theory of viral sequestration and reserve infection.** *HIV/AIDS - Research and Palliative Care*, 2011. 3: 125–133.

BARRÉ-SINOUSSE, F., CHERMANN, J. C., REY, F., NUGEYRE, M. T., CHAMARET, S., GRUEST J., DAUGUET, C., AXLER-BLIN, C., VÉZINET-BRUN, F., ROUZIQUX, C., ROZENBAUM, W. & MONTAGNIER, L., **Isolation of a T-lymphotropic retrovirus from a patient at risk for acquired immune deficiency syndrome (AIDS).** *Science*, 1983. 220(4599):868-871.

BARRÉ-SINOUSSE, F., ROSS, A. L. & DELFRAISSY, J. F., **Past, present and future: 30 years of HIV research.** *Nature Reviews Microbiology*, 2013.

BENAROCH, P., BILLARD, E., GAUDIN, R., SCHINDLER, M. & JOUVE, M., **HIV-1 assembly in macrophages.** *Retrovirology*, 2010.

BORDON-GRACIANI, A. P., DIAS-MELICIO, L. A., ACORCI-VALÉRIO, M. J., ARAÚJO JR., J. P., SOARES, A. M. V. C., **High expression of human monocyte iNOS mRNA induced by *Paracoccidioides brasiliensis* is not associated with increase in NO production.** *Microbes and Infection*, 2012. 14:1049-1053.

BORGES, A. H., SILVERBERG, M. J., WENTWORTH, D., GRULICH, A. E., FATKENHEUER, G., MITSUYASU, R., TAMBUSI, G., SABIN, C. A., NEATON, J. D. & LUNDGREN, J. D., **Predicting risk of cancer during HIV infection: the role of inflammatory and coagulation biomarkers.** *AIDS*, 2013. 27:1433–1441.

BRASIL, **Boletim epidemiológico AIDS e DST.** Ministério da Saúde, 2012.

BRASIL, **Protocolo clínico e diretrizes terapêuticas para adultos vivendo com HIV/AIDS.** Ministério da Saúde, 2013.

BRENCHLEY, J. M., SCHACKER, T. W., RUFF, L. E., PRICE, D. A., TAYLOR, J. H., BEILMAN, G. J., NGUYEN, P. L., KHORUTS, A., LARSON, M., HAASE, A. T. & DOUEK, D. C., **CD4+ T cell depletion during all Stages of HIV disease occurs predominantly in the gastrointestinal tract.** *The Journal of Experimental Medicine*, 2004. 200(6): 749-759.

BUKRINSKY, M. I., NOTTET, H. S., SCHMIDTMAYEROVA, H., DUBROVSKY, L., FLANAGAN, C. R., MULLINS, M. E., LIPTON, S. A. & GENDELMAN, H. E., **Regulation of nitric oxide synthase activity in Human Immunodeficiency Virus type 1 (HIV-1)-infected monocytes: implications for HIV-associated neurological disease.** *The Journal of Experimental Medicine*, 1995. 181:735-745.

BUONAGURO, L., TORNESELLO, M. L. & BUONAGURO, F. M., **Human Immunodeficiency Virus type 1 subtype distribution in the worldwide epidemic: pathogenetic and therapeutic implications.** *Journal of Virology*, 2007. 81(19):10209-10219.

CARTER, C. A. & EHRLICH, L. S., **Cell biology of HIV-1 infection of macrophages.** *Annual Review of Microbiology*, 2008. 62:425–443.

CARTER, C. C., ONAFUWA-NUGA, A., McNAMARA, L., A., RIDELL IV, J., BIXBY, D., SAVONA, M. R. & COLLINS, K. L., **HIV-1 infects multipotent progenitor cells causing cell death and establishing latent cellular reservoirs.** *Nature medicine*, 2010. 16(4):446-451.

CASSETTA, L., CASSOL, E. & POLI, G., **Macrophage polarization in health and disease.** *The Scientific World Journal*, 2011. 11:2391–2402.

CASSOL, E., CASSETTA, L., RIZZI, C., ALFANO, M. & POLI, G., **M1 and M2a polarization of human monocyte-derived macrophages inhibits HIV-1 replication by distinct mechanisms.** *The Journal of Immunology*, 2009. 182:6237 – 6246.

CEDAR, H. & BERGMAN, Y., **Epigenetics of haematopoietic cell development.** *Nature Reviews Immunology*, 2011. 11:478-488.

CHEN, Y. & WANG, S., **Activation of terminally differentiated human monocytes/macrophages by dengue virus: productive infection, hierarchical production of innate cytokines and chemokines, and the synergistic effect of lipopolysaccharide.** *Journal of Virology*, 2002. 76(19):9877–9887.

CHIHARA, T., HASHIMOTO, M., OSMAN, A., HIYOSHI-YOSHIDOMI, Y., SUZU, I., CHUTIWITOONCHAI, N., HIYOSHI, M., OKADA, S. & SUZU, S., **HIV-1 proteins preferentially activate anti-inflammatory m2-type macrophages.** *The Journal of Immunology*, 2012.

CLAPHAM, P. R. & MCKNIGHT, A., **Cell surface receptors, virus entry and tropism of primate Lentiviruses.** *Journal of General Virology*, 2002. 83:1809–1829.

COBOS-JIMÉNEZ, V., BOOIMAN, T., HAMANN, J. & KOOTSTRA, N. A., **Macrophages and HIV-1.** *Current Opinion in HIV/AIDS*, 2011. 6:385–390.

COCK, K. M., JAFFE, H. W. & CURRAN, J. W., **The evolving epidemiology of HIV/AIDS.** *AIDS*, 2012. 26:1205–1213.

COLEMAN, C. M. & WU, L., **HIV interactions with monocytes and dendritic cells: viral latency and reservoirs.** *Retrovirology*, 2009.

COLLINI, P., NOURSADEGHI, M., SABROE, I., MILLER, R. F. & DOCKRELL, D. H., **Monocyte and macrophage dysfunction as a cause of HIV-1 induced dysfunction of innate immunity.** *Current Molecular Medicine*, 2010. 10:727-740.

CROWE, S. M. & SONZA, S., **HIV-1 can be recovered from a variety of cells including peripheral blood monocytes of patients receiving highly active antiretroviral therapy: a further obstacle to eradication.** *Journal of Leukocyte Biology*, 2000. 68: 345-350.

CROWE, S. M., WESTHORPE, C. L., MUKHAMEDOVA, N., JAWOROWSKI, A., SVIRIDOV, D. & BUKRINSKY, M., **The macrophage: the intersection between HIV infection and atherosclerosis.** *Journal of Leukocyte Biology*, 2010. 87:589-598.

CUNNINGHAM, A. L., DONAGHY, H., HARMAN, A. N., KIM, M. & TURVILLE, S. G., **Manipulation of dendritic cell function by viruses.** *Current Opinion in Microbiology*, 2010. 13:524–529.

DAVICINO, R. C., ELIÇABE, R. J., DI GENARO, M. S. & RABINOVICH, G. A., **Coupling pathogen recognition to innate immunity through glycan-dependent mechanisms.** *International Immunopharmacology*, 2011.

DAWSON, M. A. & KOUZARIDES, T., **Cancer epigenetics: from mechanism to therapy.** *Cell*, 2012. 150:12-27.

DOITSH, G., GALLOWAY, N. L. K., GENG, X., YANG, Z., MONROE, K. M., ZEPEDA, O., HUNT, P. W., HATANO, H., SOWINSKI, S., MUÑOZ-ARIAS, I. & GREENE, W. C., **Cell death by pyroptosis drives CD4 T-cell depletion in HIV-1 infection.** *Nature*, 2014. 505:509-514.

EDITORIAL. **Of men, not mice.** *Nature medicine*, 2013. 19(4):379.

ENGELMAN, A. & CHEREPANOV, P., **The structural biology of HIV-1: mechanistic and therapeutic insights.** *Nature reviews microbiology*, 2012. 10:279-290.

ENSOLI, B., BUONAGURO, L., BARILLARI, G., FIORELLI, V., GENDELMAN, R., MORGAN, R. A., WINGFIELD, P. & GALLO, R. C., **Release, uptake, and effects of extracellular human immunodeficiency virus type 1 Tat protein on cell growth and viral transactivation.** *Journal of Virology*, 1993. 67: 277–287.

FANG, F. C., **Antimicrobial reactive oxygen and nitrogen species: concepts and controversies.** *Nature reviews microbiology*, 2004. 2:820-832.

FERRANTELLI, F., CAFARO, A. & ENSOLI, B., **Nonstructural HIV proteins as targets for prophylactic or therapeutic vaccines.** *Current Opinion in Biotechnology*, 2004. 15:543–556.

FITZGERALD, F., PENAZZATO, M. & GIBB, D., **Development of antiretroviral resistance in children with HIV in low- and middle-income countries.** *The Journal of Infectious Diseases*, 2013.

FREEDMAN, B. D., LIU, Q. H., DEL CORNO, M. & COLLMAN, R. G., **HIV-1 gp120 chemokine receptor-mediated signaling in human macrophages.** *Immunologic Research*, 2003. 27(2–3):261–276.

GALLO, R. C., SARIN, P. S., GELMANN, E. P., ROBERT-GUROFF, M., RICHARDSON, E., KALYANARAMAN, V. S., MANN, D., SIDHU, G. D., STAHL, R. E., ZOLLA-PAZNER, S., LEIBOWITCH, J. & POPOVIC, M., **Isolation of human T-Cell leukemia virus in acquired immune deficiency syndrome (AIDS).** *Science*, 1983. 220(4599):865-867.

GALVÃO-CASTRO, B., DOS-SANTOS, J. I., COUTO-FERNANDEZ, J. C., BONGERTZ, V., BOU-HABIB, D. C., SION, F. S., BARTH, O. M., PEREIRA, H. & PEREIRA, M. S., **Isolation and antigenic characterization of Human Immunodeficiency Virus (HIV) in Brazil.** *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 1987. 82(4):453-456.

GEIJTENBEEK, T. B., KWON, D. S., TORENSMA, R., VAN VLIET, S. J., VAN DUIJNHOFEN, G. C., MIDDEL, J., CORNELISSEN, I. L., NOTTET, H. S., KEWALRAMANI, V. N., LITTMAN, D. R., FIGDOR, C. G. & VAN KOOYK, Y., **DC-SIGN, a dendritic cell-specific HIV-1-binding protein that enhances trans-infection of T cells.** *Cell*, 2000. 100: 587-597.

GETAHUN, H., GUNNEBERG, C., GRANICH, R. & NUNN, P., **HIV infection-associated tuberculosis: the epidemiology and the response.** *Clinical Infectious Diseases*, 2010.

GÓMEZ-DÍAZ, E., JORDÀ, M., PEINADO, M. A. & RIVERO, A., **Epigenetics of host-pathogen interactions: the road ahead and the road behind.** *PLoS Pathogens*, 2012.

GROSS, T. J., KREMENS, K., POWERS, L. S., BRINK, B., KNUTSON, T., DOMANN, F. E., PHILIBERT, R. A., MILHEM, M. M. & MONICK, M. M., **Epigenetic silencing of the human *NOS2* gene: rethinking the role of nitric oxide in human macrophage inflammatory responses.** *The Journal of Immunology*, 2014.

GUHA, D. & AYYAVOO, V., **Innate immune evasion strategies by Human Immunodeficiency Virus type I.** *ISRN AIDS*, 2013.

HAKRE, S., CHAVEZ, L., SHIRAKAWA, K. & VERDIN, E., **Epigenetic regulation of HIV latency.** *Current Opinion in HIV and AIDS*, 2011. 6:19–24.

HAN, S. & BRUNET, A., **Histone methylation makes its mark on longevity.** *Trends in Cell Biology*, 2012. 22(1):42-49.

HERBEIN, G. & VARIN, A., **The macrophage in HIV-1 infection: from activation to deactivation?** *Retrovirology*, 2010. 7:33.

IMAI, K. & OCHIAI, K., **Role of histone modification on transcriptional regulation and HIV-1 gene expression: possible mechanisms of periodontal diseases in AIDS progression.** *Journal of Oral science*, 2011. 53(1): 1-13.

ISHII, M., WEN, H., CORSA, C. A., LIU, T., COELHO, A. L., ALLEN, R. M., CARSON, W. F., CAVASSANI, K. A., LI, X., LUKACS, N. W., HOGABOAM, C. M., DOU, Y., KUNKEL, S. L., **Epigenetic regulation of the alternatively activated macrophage phenotype.** *Blood*, 2009. 114: 3244-3254.

IVASHKIV, L. B., **Epigenetic regulation of macrophage polarization and function.** *Trends in Immunology*, 2013. 34(5):216-223.

JABLONKA, E. & LAMB, M. J., **The changing concept of epigenetics.** *Annals of New York Academy of Sciences*, 2002. 981:82-96.

JAMBO, K. C., BANDA, D. H., KANKWATIRA, A. M., SUKUMAR, N., ALLAIN, T. J., HEYDERMAN, R. S., RUSSEL, D. G. & MWANDUMBA, H. C., **Small alveolar macrophages are infected preferentially by HIV and exhibit impaired phagocytic function.** *Mucosal immunology*, 2014.

JANZER, A., STAMM, K., BECKER, A., ZIMMER, A., BUETTNER, R. & KIRFEL, J., **The H3K4me3 histone demethylase Fbxl10 is a regulator of chemokine expression, cellular morphology and the metabolome of fibroblasts.** *The Journal of Biological Chemistry*, 2012. 287:30984-30992.

JIANG, W., LEDERMAN, M. M., HUNT, P., SIEG, S. F., HALEY, K., RODRIGUEZ, B., LANDAY, A., MARTIN, J., SINCLAIR, E., ASHER, A. L., DEEKS, S. G., DOUEK, D. C. & BRENCHLEY, J. M., **Plasma levels of bacterial DNA correlate with immune activation and the magnitude of immune restoration in persons with antiretroviral-treated HIV infection.** *The Journal of Infectious Diseases*, 2009. 199(8): 1177–1185.

JOHANNSEN, E. & LAMBERT, P. F., **Epigenetics of human papillomaviruses.** *Virology*, 2013. 445: 205–212.

KAMAT, A., MISRA, V., CASSOL, E., ANCUTA, P., YAN, Z., LI, C., MORGELLO, S. & GABUZDA, D., **A plasma biomarker signature of immune activation in hiv patients on antiretroviral therapy.** *PLoS ONE*, 2012.

KHAITAN, A. & UNUTMAZ, D., **Revisiting immune exhaustion during HIV infection.** *Current HIV/AIDS Reports*, 2011. 8(1): 4–11.

KITTAN, N. A., ALLEN, R. M., DHALIWAL, A., CAVASSANI, K. A., SCHALLER, M., GALLAGHER, K. A., CARSON, W. F., MUKHERJEE, S., GREMBECKA, J., CIERPICKI, T., JARAI, G., WESTWICK, KUNKEL, S. L. & HOGABOAM, C. M., **Cytokine induced phenotypic and epigenetic signatures are key to establishing specific macrophage phenotypes.** *PloS One*, 2013.

KOPPENSTEINER, H., BRACK-WERNER, R. & SCHINDLER, M., **Macrophages and their relevance in Human Immunodeficiency Virus type I infection.** *Retrovirology*, 2012.

LACEY, D.C., ACHUTHAN, A., FLEETWOOD, A. J., DINH, H., ROINIOTIS, J., SCHOLZ, G. M., CHANG, M. W., BECKMAN, S. K., COOK, A. D. & HAMILTON, J. A., **Defining GM-CSF- and Macrophage-CSF-dependent macrophage responses by *in vitro* models.** *The Journal of Immunology*, 2012.

LAWN, S. D., HARRIES, A. D., MEINTJES, G., GETAHUN, H., HAVLIR, D. V., WOOD, R., **Reducing deaths from tuberculosis in antiretroviral treatment programmes in sub-Saharan Africa.** *AIDS*, 2012.

LAWRENCE, T. & NATOLI, G., **Transcriptional regulation of macrophage polarization: enabling diversity with identity.** *Nature reviews immunology*, 2011. 11:750–761.

LICHTFUSS, G. F., CHENG, W. J., FARSAKOGLU, Y., PAUKOVICS, G., RAJASURIAR, R., VELAYUDHAM, P., KRAMSKI, M., HEARPS, A. C., CAMERON, P. U., LEWIN, S. R., CROWE, S. M. & JAWOROWSKI, A., **Virologically suppressed HIV patients show activation of NK cells and persistent innate immune activation.** *The Journal of Immunology*, 2012. 189: 1491–1499.

LI, W., KATZ, B. P., BAUER, M. E. & SPINOLA, S. M., **Haemophilus ducreyi infection induces activation of the NLRP3 inflammasome in nonpolarized but not in polarized human macrophages.** *Infection and Immunity*, 2013. 81(8):2997-3008.

LIM, P. S., LI, J., HOLLOWAY, A. F. & RAO, S., **Epigenetic regulation of inducible gene expression in the immune system.** *Immunology*, 2013. 139:285–293.

LIU, X., WANG, X., YAN, S., ZHANG, Z., ABECASSIS, M. & HUMMEL, M., **Epigenetic control of cytomegalovirus latency and reactivation.** *Viruses*, 2013. 5:1325-1345.

MARCHETTI, G., TINCATI, C. & SILVESTRI, G., **Microbial translocation in the pathogenesis of HIV infection and AIDS.** *Clinical Microbiology Reviews*, 2013. 26(1):2.

LU, Y. C., YE, W. C. & OHASHI, P.S., **LPS/TLR4 signal transduction pathway.** *Cytokine*, 2008. 42:145–151.

MARTIN, C. & ZHANG, Y., **The diverse functions of histone lysine methylation.** *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 2005. 6:838-849.

MARTINEZ, F. O., GORDON, S., LOCATI, M. & MANTOVANI, A., **Transcriptional profiling of the human monocyte-to-macrophage differentiation and polarization: new molecules and patterns of gene expression.** *The Journal of Immunology*, 2006. 177:7303-7311.

MARTINEZ, F. O., SICA, A., MANTOVANI, A. & LOCATI, M., **Macrophage activation and polarization.** *Frontiers in Biosciences*, 2008. 13:453-461.

MARTINEZ, F. O., HELMING, L. & GORDON, S., **Alternative activation of macrophages: an immunologic functional perspective.** *Annual Review of Immunology*, 2009. 27:451-483.

MBONYE, U. & KARN, J., **Control of HIV latency by epigenetic and non-epigenetic mechanisms.** *Current HIV Research*, 2011. 9(8):554-567.

MacMICKING, J., XIE, Q.W. & NATHAN, C., **Nitric oxide and macrophage function.** *Annual Review of Immunology*, 1997. 15:323-350.

McDONALD, B. MOYO, S., GABAITIRI, L., GASEITSIWE, S., BUSSMANN, H., KOETHE, J. R., MUSONDA, R., MAKHEMA, J., NOVITSKY, V., MARLINK, R. G., WESTER, C. W. & ESSEX, M., **Persistently elevated serum Interleukin-6 predicts mortality among adults receiving combination antiretroviral therapy in Botswana: results from a clinical trial.** *AIDS Research and Human Retroviruses*, 2013. 29(7):993-999.

McMICHAEL, A. J., BORROW, P., TOMARAS, G. D., GOONETILLEKE, N. & HAYNES, B. F., **The immune response during acute HIV-1 infection: clues for vaccine development.** *Nature Reviews Immunology*, 2010. 10:11-23.

MEHANDRU, S., POLES, M. A., TENNER-RACZ, K., MANUELLI, V., JEAN-PIERRE, P., LOPEZ, P., SHET, A., LOW, A., MOHRI, H., BODEN, D., RACZ, P. & MARKOWITZ, M., **Mechanisms of gastrointestinal CD4+ T cell depletion during acute and early Human Immunodeficiency Virus type 1 infection.** *Journal of Virology*, 2007. 81(2):599–612.

MELCHJORSEN, J., **Learning from the messengers: innate sensing of viruses and cytokine regulation of immunity – clues for treatments and vaccines.** *Viruses*, 2013. 5:470-527.

MENG, G., WEI, X., WU, X., SELLERS, M. T., DECKER, J. M., MOLDOVEANU, Z., ORENSTEIN, J. M., GRAHAM, M. F., KAPPES, J. C., MESTECKY, J., SHAW, G. M. & SMITH, P. D., **Primary intestinal epithelial cells selectively transfer R5 HIV-1 to CCR5+ cells.** *Nature Medicine*, 2002. 8(2):150-156.

MERRICK, C. J., HUTTENHOWER, C., BUCKEE, C., AMAMBUA-NGWA, A., GOMEZ-ESCOBAR, N., WALTHER, M., CONWAY, D. J. & DURAISINGH, M. T., **Epigenetic dysregulation of virulence gene expression in severe *Plasmodium falciparum* malaria.** *The Journal of Infectious Diseases*, 2012. 205:1593–1600.

MIEDEMA, F., HAZENBERG, M. D., TESSELAAR, K., VAN BAARLE, D., DE BOER, R. J. & BORGHANS, J. A., **Immune activation and collateral damage in AIDS pathogenesis.** *Frontiers in Immunology*, 2013.

MINAGAR, A., SHAPSHAK, P., FUJIMURA, R., OWNBY, R., HEYES, M. & EISDORFER, C., **The role of macrophage/microglia and astrocytes in the pathogenesis of three neurologic disorders: HIV-associated dementia, alzheimer disease and multiple sclerosis.** *Journal of the Neurological Sciences*, 2002. 202(1-2):13-23.

MOIR, S., MALASPINA, A., LI, Y., CHUN, T. W., LOWE, T., ADELSBERGER, J., BASELER, M., EHLER, L. A., LIU, S., DAVEY Jr., R. T., MICAN, J. A. M. & FAUCI, A. S., **B cells of HIV-1-infected patients bind virions through CD21-complement interactions and transmit infectious virus to activated T cells.** *The Journal of Experimental Medicine*, 2000. 192: 637-646.

MONROE, K. M., YANG, Z., JOHNSON, J. R., GENG, X., DOITSH, G., KROGAN, N. J., GREENE, W. C., **IFI16 DNA sensor is required for death of lymphoid cd4 t cells abortively infected with HIV.** *Science*, 2014. 343:428-432.

MOSSER, D. M, & EDWARDS J. P., **Exploring the full spectrum of macrophage activation.** *Nature Reviews Immunology*, 2008. 8:958-969.

MURRAY, P. J. & WYNN, T. A., **Obstacles and opportunities for understanding macrophage polarization.** *Journal of Leukocyte Biology*. 2011. 89:557-563.

MURRAY, P. J. & WYNN, T. A., **Protective and pathogenic functions of macrophage subsets.** *Nature Reviews Immunology*, 2011b. 11:723-737.

NEUHAUS, J., JACOBS, D. R., BAKER, J. V., CALMY, A., DUPREZ, D., LA ROSA, A., KULLER, L. H., PETT, S. L., RISTOLA, M., ROSS, M. J., SHLIPAK, M. G., TRACY, R. & NEATON, J. D., **Markers of inflammation, coagulation, and renal function are elevated in adults with HIV infection.** *The Journal of Infectious Diseases*, 2010. 201(12):1788–1795.

NIAID, **HIV/AIDS**, 2011.

NIELSEN, S. D., SORENSEN, T. U., ERSBOLL, A. K., NGO, N., MATHIESEN, L., NIELSEN, J. O. & HANSEN, J. E., **Decrease in immune activation in HIV-infected patients treated with highly active antiretroviral therapy correlates with the function of hematopoietic progenitor cells and the number of naive CD4+ cells.** *Scandinavian Journal of Infectious Diseases*, 2000. 32(6):597-603.

OLIVETTA, E., PERCARIO, Z., FIORUCCI, G., MATTIA, G., SCHIAVONI, I., DENNIS, C., JAGER, J., HARRIS, M., ROMEO, G., AFFABRIS, E. & FEDERICO, M., **HIV-1 Nef induces the release of inflammatory factors from human monocyte/macrophages: involvement of Nef endocytotic signals and NF-κB activation.** *The Journal of Immunology*, 2003. 170:1716–1727.

PLANTIER, J.C., LEOZ, M., DICKERSON, J.E., DE OLIVEIRA, F., CORDONNIER, F., LEMÉE, V., DAMOND, F., ROBERTSON, D.L. & SIMON, F., **A new human immunodeficiency virus derived from gorillas.** *Nature Medicine*, 2009. 15(8):871-2.

RAES, G., DEN BERGH, R. V., DE BAETSELIER, P. & GHASSABEH, G. H., **Arginase-1 and Ym1 are markers for murine, but not human, alternatively activated myeloid cells.** *The Journal of Immunology*, 2005.

RASAIYAAH, J., TAN, C. P., FLETCHER, A. J., PRICE, A. J., BLONDEAU, C., HILDITCH, L., JACQUES, D. A., SELWOOD, D. L., JAMES, L. C., NOURSADEGHI, M. & TOWERS, G. J., **HIV-1 evades innate immune recognition through specific cofactor recruitment.** *Nature*, 2013.

REY-GIRAUD, F., HAFNER, M. & RIES, C. H., **In vitro generation of monocyte-derived macrophages under serum-free conditions improves their tumor promoting functions.** *PloS One*, 2012.

RICH, E. A., CHEN, I. S., ZACK, J. A., LEONARD, M. L. & O'BRIEN, W. A., **Increased susceptibility of differentiated mononuclear phagocytes to productive infection with Human Immunodeficiency Virus-1 (HIV-1).** *The Journal of Clinical Investigation*, 1992, 89:176-183.

ROBERTSON, D.L., ANDERSON, J.P., BRADAC, J.A., CARR, J.K., FOLEY, B., FUNKHOUSER, R.K., GAO, F., HAHN, B.H., KALISH, M.L., KUIKEN, C., LEARN, G.H., LEITNER, T., McCUTCHAN, F., OSMANOV, S., PEETERS, M., PIENIAZEK, D., SALMINEN, M., SHARP, P.M., WOLINSKY, S. & KORBER, B., **HIV-1 nomenclature proposal.** *Science*, 2000. 288(5463):55-6.

SANDLER, N. G. & SERETI, I., **Can early therapy reduce inflammation?** *Current Opinion in HIV and AIDS*, 2013.

SANTIAGO, M.L., RANGE, F., KEELE, B.F., LI, Y., BAILES, E., BIBOLLET-RUCHE, F., FRUTEAU, C., NOË, R., PEETERS, M., BROOKFIELD, J.F., SHAW, G.M., SHARP, P.M. & HAHN, B.H., **Simian immunodeficiency virus infection in free-ranging sooty mangabeys (*Cercocebus atys atys*) from the Taï Forest, Côte d'Ivoire: implications for the origin of epidemic human immunodeficiency virus type 2.** *The Journal of Virology*, 2005. 79(19):12515-27.

SAUCE, D., ELBIM, C. & APPAY, V., **Monitoring cellular immune markers in HIV infection: from activation to exhaustion.** *Current Opinion in HIV and AIDS*, 2013. 8:125–131.

SCHNEEMANN, M., SCHOEDON, G., LINSCHIED, P., WALTER, R., BLAU, N. & SCHAFFNER, A., **Nitrite generation in interleukin-4-treated human macrophage cultures does not involve the nitric oxide synthase pathway.** *The Journal of Infectious Diseases*, 1997. 175:130-135.

SCHNEEMANN, M., & SCHOEDEN, G., **Macrophage biology and immunology: man is not a mouse.** *Journal of Leukocyte Biology*, 2007.

SCHNEIDER, R., BANNISTER, A. J., MYERS, F. A., THORNE, A. W., CRANE-ROBINSON, C. & KOUZARIDES, T., **Histone H3 lysine 4 methylation patterns in higher eukaryotic genes.** *Nature Cell Biology*, 2004. 6(1):73-77.

SEOK, J., WARREN, H. S., CUENCA, A. G., MINDRINOS, M. N., BAKER, H. V., XU, W., RICHARDS, D. R., McDONALD-SMITH, G. P., GAO, H., HENNESSY, L., FINNERTY, C. C., LÓPEZ, C. M., HONARI, S., MOORE, E. E., MINEI, J. P., CUSCHIERI, J., BANKEY, P. E., JOHNSON, J. L., SPERRY, J., NATHENS, A. B., BILLIAR, T. R., WEST, M. A., JESCHKE, M. G., KLEIN, M. B., GAMELLI, R. L., GIBRAN, N. S., BROWNSTEIN, B. H., MILLER-GRAZIANO, C., CALVANO, S. E., MASON, P. H., COBB, J. P., RAHME, L. G., LOWRY, S. F., MAIER, R. V., MOLDAWER, L. L., HERNDON, D. N., DAVIS, R. W., XIAO, W. & TOMPKINS, R. G., **Genomic responses in mouse models poorly mimic human inflammatory diseases.** *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2013.

SICA, A. & MANTOVANI, A., **Macrophage plasticity and polarization: in vivo veritas.** *The Journal of Clinical Investigation*, 2012. 122(3):787-795.

SLEASMAN, J. W. & GOODENOW, M. M., **HIV-1 infection.** *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 2003. 111(2):582-592.

SMITH, P. D., MENG, G., SALAZAR-GONZALEZ, J. F. & SHAW, G. M., **Macrophage HIV-1 infection and the gastrointestinal tract reservoir.** *Journal of Leukocyte Biology*, 2003. 74:642-649.

SONZA, S., MAERZ, A., DEACON, N., MEANGER, J., MILLS, J. & CROWE, S., **Human Immunodeficiency Virus type 1 replication is blocked prior to reverse transcription and integration in freshly isolated peripheral blood monocytes.** *Journal of Virology*, 1996. 70:3863-3869.

SPERBER, K., HAMRANG, G., LOUIE, M. J., KALB, T., BANERJEE, R., CHOI, H. S. H., PARONETTO, F. & MAYER, L., **Progressive impairment of monocytic function in HIV-1-infected human macrophages hybridomas.** *AIDS Research and Human Retroviruses*, 1993. 9(7):657-667.

STACEY, A. R., NORRIS, P. J., QIN, L., HAYGREEN, E. A., TAYLOR, E., HEITMAN, J., LEBEDEVA, M., DeCAMP, A., LI, D., GROVE, D., SELF, S. G. & BORROW, P., **Induction of a striking systemic cytokine cascade prior to peak viremia in acute Human Immunodeficiency Virus Type 1 infection, in contrast to more modest and delayed responses in acute hepatitis b and c virus infections.** *The Journal of Virology*, 2009. 83(8):3719–3733.

STOLFI, C., CARUSO, R., FRANZÈ, E., SARRA, M., DE NITTO, D., RIZZO, A., PALLONE, F. & MONTELEONE, G., **Interleukin-25 fails to activate STAT6 and induce alternatively activated macrophages.** *Immunology*, 2010. 132:66–77.

STOW, J. L., LOW, P. C., OFFENHAUSER, C. & SANGERMANN, D., **Cytokine secretion in macrophages and other cells: pathways and mediators.** *Immunobiology*, 2009. 214:601–612.

STUEHR, D. J., GROSS, S. S., SAKUMA, I., LEVI, R. & NATHAN, C. F., **Activated murine macrophages secrete a metabolite of arginine with the bioactivity of endothelium-derived relaxing factor and the chemical reactivity of nitric oxide.** *The Journal of Experimental Medicine*, 1989. 169(3):1011-1020.

TEMPERINO, R., LEMPRADL, A. & POSPISILIK, J. A., **Bridging epigenomics and complex disease: the basics.** *Cellular and Molecular Life Sciences*, 2013. 70:1609–1621.

TSANG, J., CHAIN, B. M., MILLER, R. F., WEBB, B. L., BARCLAY, W., TOWERS, G. J., KATZ, D. R. & NOURSADEGHI, M., **HIV-1 infection of macrophages is dependent on evasion of innate immune cellular activation.** *AIDS*, 2009. 23(17): 2255–2263.

VIOLARI, A., COTTON, M. F, GIBB, D. M., BABIKER, A. G., STEYN, J., MADHI, S. A., JEAN-PHILIPPE, P. & MCLNTYRE, J. A., **Early antiretroviral therapy and mortality among HIV-infected infants.** *The New England Journal of Medicine*, 2008. 359:2233-2244.

VUJKOVIC-CVIJIN, I., DUNHAM, R. M., IWAI, S., MAHER, M. C., ALBRIGHT, R. G., BROADHURST, M. J., HERNANDEZ, R. D., LEDERMAN, M. M., HUANG, Y., SOMSOUK, M., DEEKS, S. G., HUNT, P. W., LYNCH, S. V. & McCUNE, J. M., **Dysbiosis of the gut microbiota is associated with HIV disease progression and tryptophan catabolism.** *Science Translational Medicine*, 2013.

WEN, H., DOU, Y., HOGABOAM, C. M. & KUNKEL, S. L., **Epigenetic regulation of dendritic cell-derived interleukin-12 facilitates immunosuppression after a severe innate immune response.** *Blood*, 2008. 111:1797-1804.

WHO, **Global HIV/AIDS response: epidemic update and health sector progress towards universal access: progress report**, 2011.

WHO, **Orientações consolidadas sobre o uso de medicamentos antirretrovirais para tratamento e prevenção da infecção pelo VIH: resumo das principais características e recomendações**, 2013.

WU, M. F., CHEN, S. T., YANG, A. H., LIN, W. W., LIN, Y. L., CHEN, N. J., TSAI, I. S., LI, L. & HSIEH, S. L., **CLEC5A is critical for dengue virus-induced inflammasome activation in human macrophages.** *Blood*, 2013.121(1):95-106.

XIONG, H., ZENG, Y. C., LEWIS, T., ZHENG, J., PERSIDSKY, Y. & GENDELMAN, H. E., **HIV-1 infected mononuclear phagocyte secretory products affect neuronal physiology leading to cellular demise: relevance for HIV-1-associated dementia.** *Journal for Neurovirology*, 2000.

YADAV, M. & SCHOREY, J. S., **The β -glucan receptor dectin-1 functions together with TLR2 to mediate macrophage activation by mycobacteria.** *Blood*, 2006. 108:3168-3175.

YU, W., WANG, Y., SHAW, C. A., QIN, X. F. & RICE, A. P., **Induction of the HIV-1 Tat cofactor cyclin T1 during monocyte differentiation is required for the regulated expression of a large portion of cellular mRNAs.** *Retrovirology*, 2006.