

ARTÍCULO ORIGINAL / ARTIGO ORIGINAL / ORIGINAL ARTICLE

# Análise das subpopulações de monócitos em pacientes HIV-1 positivos em uso ou não de antirretrovirais

Analysis of monocyte subsets in HIV-1 positive patients using or not antiretrovirals

Amandda Évelin Silva de Carvalho<sup>1</sup>  
Camila Oliveira Barbosa de Morais<sup>2</sup>  
Irmtraut Araci Hoffmann Pfrimer<sup>3</sup>  
Simone Gonçalves da Fonseca<sup>4</sup>

Rev Panam Infectol. 2015;17(3):132-138  
ISSN 1679-7140  
ISSN 1807-3352 on line  
http: www.revistaapi.com

Recebido em 23/11/2015  
Aprovado em 15/3/2016

#### Aspectos éticos

Este trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Pontifícia Universidade Católica de Goiás (CEP-SGC/UCG), como prerrogativa da Resolução 96/96, sob o CAAE 0117.1.168.000-09.

**Trabalho realizado:** Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública da Universidade Federal de Goiás (IPTSP) e Núcleo de Estudo e Pesquisa Imunológica da Pontifícia Universidade Católica de Goiás (NEPI), Goiânia, Brasil.

<sup>1</sup>Acadêmica de Biomedicina na Pontifícia Universidade Católica de Goiás, Goiânia, Brasil.

<sup>2</sup>Acadêmica de Biomedicina na Pontifícia Universidade Católica de Goiás, Goiânia, Brasil.

<sup>3</sup>Graduada em Farmácia Bioquímica pela Universidade Federal de Goiás, Goiânia, Brasil. Especialista em Microbiologia pela Universidade Federal de Goiás, Goiânia, Brasil. Doutora em Imunologia pela Universidade de São Paulo, SP, Brasil.. Pós doutorado em Imunologia pela Universidade Federal de São Paulo, SP, Brasil. Professora Titular na Pontifícia Universidade Católica de Goiás, Goiânia, Brasil. Orientadora do programa de pós-graduação *Stricto Sensu* em Ciências Ambientais e Saúde.

<sup>4</sup>Graduada em Farmácia Bioquímica pela Universidade Federal de Goiás, Goiânia, Brasil. Mestre em Imunologia Básica e Aplicada pela Universidade de São Paulo, SP, Brasil. Doutora em Imunologia pela Universidade de São Paulo, SP, Brasil. Pós doutorado pela Universidade de Montreal, Canadá. Professora Adjunta de Imunologia no Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública da Universidade Federal de Goiás, Goiânia, Brasil.

## RESUMO

**Introdução:** os monócitos podem ser divididos em subpopulações baseado nos níveis de expressão de CD14 e CD16: os clássicos (CD14<sup>high</sup>CD16<sup>-</sup>), intermediários (CD14<sup>high</sup>CD16<sup>+</sup>) e não clássicos (CD14<sup>low</sup>CD16<sup>+</sup>). **Objetivo:** avaliar as subpopulações de monócitos em pacientes infectados pelo HIV-1 em uso ou não de Terapia Antirretroviral (TARV). **Materiais e métodos:** analisamos 4 grupos de estudo, compostos por: indivíduos não infectados pelo HIV-1; indivíduos infectados pelo HIV-1 sem uso de TARV; indivíduos infectados pelo HIV-1 cuja TARV era composta por dois Inibidores da Transcriptase Reversa Nucleosídeos (T1) e indivíduos infectados pelo HIV-1, cuja TARV era composta por dois inibidores da Transcriptase Reversa Nucleosídeos associados a um inibidor da Transcriptase Reversa Não Nucleosídeo (T2). As subpopulações de monócitos foram determinadas por citometria de fluxo e as análises estatísticas realizadas com o programa GraphPad Prism 6. **Resultados:** a subpopulação CD14<sup>high</sup>CD16 apresentou baixo percentual em T1 e T2. Na subpopulação CD14<sup>low</sup>CD16+ além de redução nos grupos citados, também houve redução nos pacientes que não faziam uso de TARV. Nos monócitos CD14<sup>high</sup>CD16- verificamos um baixo percentual do grupo controle. **Conclusão:** os monócitos também são importantes alvos da TARV, contribuindo para o controle da infecção pelo HIV-1, uma que funcionam como reservatório e veículo de disseminação do vírus pelos tecidos.

**Palavras-chave:** Subpopulação de monócitos; HIV-1; Terapia Antirretroviral; Inibidores da Transcriptase Reversa

## ABSTRACT

**Introduction:** monocytes may be divided into subsets based on the levels of CD14 and CD16 expression: classical (CD14<sup>high</sup>CD16<sup>-</sup>), intermediate (CD14<sup>high</sup>CD16<sup>+</sup>) and non-classical (CD14<sup>low</sup>CD16<sup>+</sup>). **Objective:** to evaluate the monocyte subsets in patients infected with HIV-1 in use or not of Antiretroviral Therapy (ART). **Methods:** we analyzed four study groups, made up of: individuals not infected with HIV-1; individuals infected with HIV-1 without the use of ART;

individuals infected with HIV-1 whose ART consisted of two Reverse Transcriptase Inhibitors Nucleoside (T1) and individuals infected with HIV-1 whose ART consisted of two Reverse Transcriptase Nucleoside Inhibitors associated with one Reverse Transcriptase not Nucleoside Inhibitor (T2). Monocyte subsets were determined by flow cytometry and the statistical analyzes performed with the GraphPad Prism 6. **Results:** the CD14highCD16 subset presented low percentage in T1 and T2. In CD14lowCD16+ subset, as well as reduced in the mentioned groups, there was also a reduction in the patients who did not use ART. In CD14highCD16- monocytes, we see a low percentage of the control group. **Conclusion:** monocytes are also important targets of ART, contributing to the control of HIV-1 infection, since they act as a reservoir and virus spreading through the tissues.

**Keywords:** Monocyte subsets; Antiretroviral therapy (ART); HIV-1; Reverse Transcriptase Inhibitors

## INTRODUÇÃO

Os monócitos são células do sistema mononuclear fagocitário que possuem papel importante na infecção pelo HIV-1, uma vez que funcionam como reservatório e veículo de disseminação do vírus através dos tecidos<sup>(1)</sup>. Baseado nos níveis de expressão de CD14 e CD16, os monócitos humanos podem ser subdivididos em clássicos, não clássicos e intermediários. Os clássicos se caracterizam por maior expressão de CD14 e não expressão de CD16 (CD14highCD16-). Os não clássicos apresentam uma maior expressão de CD16 em relação ao CD14 (CD14lowCD16+). Os intermediários, por serem derivados dos clássicos, tem uma alta expressão de CD14 mas também expressam CD16 (CD14highCD16+). Cerca de 90% dos monócitos circulantes são clássicos, os 10% restantes correspondem aos não clássicos e intermediários, sendo estes últimos encontrados em menor percentual<sup>(2-3)</sup>.

As subpopulações de monócitos apresentam diferenças fenotípicas e funcionais conferidas por alguns genes. Existem diferenças quanto à expressão de receptores para antígenos, quimiocinas e citocinas. Os monócitos clássicos expressam especialmente o CCR2, receptor para a quimiocina CCL2, envolvida no recrutamento de monócitos para os locais de inflamação e apresentam alta expressão de genes associados ao reparo tecidual e a propriedades anti-apoptóticas. Os não clássicos

expressam mais CX<sub>3</sub>CR1, que tem como ligante a CX<sub>3</sub>CL1, envolvida na adesão dos monócitos ao endotélio e apresentam mais genes associados a propriedades anti-proliferativas e pro-apoptóticas. Já os intermediários, também expressam CX<sub>3</sub>CR1, porém possuem mais moléculas associadas à apresentação de antígenos aos linfócitos T, como MHC II, CD74 e CD40, podendo ter uma função de célula apresentadora de antígenos mais proeminente que as outras subpopulações de monócitos<sup>(4-7)</sup>.

Nos pacientes infectados pelo HIV-1 parece ocorrer um aumento da subpopulação de monócitos que expressam CD16, chegando esta a representar mais de 40% dos monócitos circulantes<sup>(8)</sup>. E estes seriam mais permissivos à infecção por HIV-1 por apresentarem maior expressão de CCR5 e CD4<sup>(9)</sup>. O aumento dessas células estaria diretamente relacionado à carga viral e inversamente à contagem de linfócitos T CD4+<sup>(10)</sup>.

Segundo Giri *et al.*<sup>(11)</sup>, a expansão dos monócitos CD16+ está relacionada com o efeito anti-apoptótico induzido pelo HIV-1, que diminuiria o *turnover* destas células quando comparadas com os linfócitos T CD4+. Isso contribuiria para a patogênese da infecção por HIV-1, uma vez que ocorreria o aumento e a manutenção das subpopulações alvo do vírus.

Os monócitos CD16+ respondem diferentemente dependendo do tipo de terapia à qual o paciente foi submetido<sup>(12)</sup>. Existem mais de 25 drogas antirretrovirais aprovadas pela *Food and Drug Administration* (FDA) para o tratamento da infecção pelo HIV-1, sendo estas divididas em seis classes de acordo com seu mecanismo de ação: Inibidores da Transcriptase Reversa Nucleosídeos (ITRN), Inibidores da Transcriptase Reversa Não-Nucleosídeos (ITRNN), Inibidores da Protease (IP), Inibidores de Fusão (IF), Antagonistas de CCR5 e Inibidores de Transferência da Cadeia de Integrase (ITCI)<sup>(13)</sup>.

A maioria das drogas antirretrovirais não consegue bloquear a replicação do HIV-1 na subpopulação CD16+ tão eficientemente quanto nos linfócitos T CD4+, o que pode ser devido à diferença entre essas duas linhagens celulares em relação ao metabolismo, receptores de membrana e resposta a citocinas<sup>(14)</sup>.

Há divergências na literatura quanto à expansão das subpopulações de monócitos, uma vez que ainda não foi elucidado qual delas realmente sofreria um aumento na infecção pelo HIV-1. Haeffner-Cavallon *et al.*<sup>(8)</sup> demonstraram que há uma expansão da subpopulação CD14lowCD16+ em indivíduos infectados pelo HIV-1. Já Han *et al.*<sup>(10)</sup> evidenciaram que monócitos CD14highCd16+ se expandem durante a infecção pelo HIV-1 e estão diretamente

relacionados com a progressão da doença. Outro fato ainda não esclarecido é o impacto do uso de diferentes combinações de antirretrovirais sobre essas células, pois estudos de Amirayan-Chevillard *et al.* <sup>(12)</sup> e Aquaro *et al.* <sup>(14)</sup> divergem quanto ao efeito do uso isolado dos inibidores da transcriptase reversa e à sua combinação com inibidores da protease sobre os monócitos CD16+.

O objetivo desse estudo foi comparar pacientes HIV-1 positivos em uso de dois fármacos (2 ITRN) com um grupo de pacientes HIV-1 positivos em uso de 3 fármacos (2 ITRN associados a um ITRNN) e um grupo de pacientes HIV-1 positivos sem uso de TARV, verificando se existe algum efeito em relação às subpopulações de monócitos quando comparados aos indivíduos não infectados.

## MATERIAIS E MÉTODOS

### Pacientes

Foram analisadas amostras de 22 pacientes infectados pelo HIV-1, atendidos no Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Goiás no período de março de 2014 a junho de 2015. A média de idade desses pacientes foi de 37 anos  $\pm$  8,3. O grupo controle foi constituído por amostras de 11 doadores não infectados pelo HIV-1, advindos do Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública da Universidade Federal de Goiás (IPTSP). As amostras foram divididas em quatro grupos. O primeiro grupo foi composto por indivíduos não infectados pelo HIV-1 (n= 11). O segundo, por indivíduos infectados pelo HIV-1 sem uso de TARV (n=8), com uma carga viral  $>10.000$  cópias/mL ( $18.827 \pm$

8.102). O terceiro grupo continha indivíduos infectados pelo HIV-1 cuja TARV denominada T1, era composta por 2 ITRN (n=6) e a contagem de células T CD4  $>500$  céls/ $\mu$ L ( $733 \pm 280$ ). O quarto grupo, formado por indivíduos infectados pelo HIV-1 cuja TARV era composta por 2 ITRN e 1 ITRNN (n=8) e que possuíam contagem de células T CD4  $>500$  céls/ $\mu$ L ( $834 \pm 358$ ), foi denominado de T2. As informações de contagem de células CD4, CD8, carga viral e tipo de TARV foram extraídas dos prontuários desses pacientes no Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Goiás e estão contidas na Tabela 1.

### Crterios de incluso e exclusão

Foram incluídos no estudo os indivíduos com idade maior de 18 anos, que concordassem em assinar o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

Foram excluídos do estudo, os indivíduos que apresentaram positividade no teste toxicológico imunocromatográfico para drogas ilícitas Multi-Drug One Step Multi-Line Screen Test Device.

### Obtenção das amostras

Foram coletados 80 mL de sangue heparinizado estéril de cada paciente para a obtenção de Células Mononucleares do Sangue Periférico (PBMCs). As PBMCs foram separadas com gradiente de densidade Ficoll-Hypaque ( $d=1077$  g/L). A contagem das PBMCs foi realizada em câmara de Neubauer com auxílio do microscópio óptico em aumento de 400x para posterior congelamento.

**Tabela 1. Parâmetros dos pacientes HIV-1 positivos**

	Pacientes		
	NO TARV	T1	T2
Número de pacientes	8	6	8
Idade	30,5 $\pm$ 4,7	40,3 $\pm$ 7,7	41 $\pm$ 8,4
Sexo (Masculino/Feminino)	6/2	6/0	6/2
Carga viral (cópias/mL)	18.827 $\pm$ 8.102	Indetectável	Indetectável
CD4 ( céls/ $\mu$ L)	648 $\pm$ 75	733 $\pm$ 280	834 $\pm$ 358
CD8 ( céls/ $\mu$ L)	1.657 $\pm$ 193	951 $\pm$ 256	1.142 $\pm$ 482
Drogas	-	Biovir+EFZ AZT+3TC	AZT+3TC+EFZ 3TC+TDF+EFZ TDF+3TC+AZT

\*Abreviações: AZT= Zidovudine ; 3TC= Lamivudine ; EFZ= Efavirez ; TDF= Tenofovir.

Os dados foram extraídos dos prontuários dos pacientes no Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Goiás. T1 corresponde aos pacientes que fazem uso de 2 ITRN: Biovir+EFZ (n=4), AZT+3TC (n=2). T2 corresponde aos pacientes que utilizam 2 ITRN associados a 1 ITRNN: AZT+3TC+EFZ (n=6), 3TC+TDF+EFZ (n=1), TDF+3TC+AZT (n=1)

### Congelamento e Descongelamento das PBMCs

Após a contagem, as células obtidas por separação com gradiente de Ficoll-Hypaque foram centrifugadas por 8 minutos a 1800 rpm e ressuspensas em 1 mL de solução de congelamento (para cada  $15 \times 10^6$  células). Tal solução é constituída de 90% de Soro Fetal Bovino (SFB) e 10% de Dimetilsulfóxido (DMSO). Os tubos foram deixados *overnight* a  $-80^\circ\text{C}$  e posteriormente foram transferidos para o nitrogênio líquido. No momento do descongelamento, os tubos de criopreservação foram retirados do nitrogênio líquido e levados rapidamente ao banho-maria a  $37^\circ\text{C}$ . Antes do descongelamento completo a solução foi transferida para um tubo contendo 10 mL de meio RPMI acrescido de 10% de SFB. As células foram imediatamente centrifugadas a 1800 rpm por 8 minutos. Após 3 lavagens com o meio, as células foram ressuspensas em meio RPMI acrescido de 10% de SFB. Foi realizada uma diluição 1/2 com azul de tripano para contagem das células na câmara de Neubauer e a avaliação da viabilidade celular foi realizada com auxílio do microscópio óptico em aumento de 400x. Foram consideradas passíveis de utilização as suspensões celulares com viabilidade  $\geq 90\%$ .

### Marcação Celular de Superfície

Após a contagem, as células foram marcadas com uma solução formada a partir de um painel de anticorpos monoclonais conjugados a fluorocromos utilizados em combinação: anti-CD14 PerCP-Cy5.5-A (BD Pharmingen), anti-CD16 PE-A (BD Pharmingen), diluídos em tampão de lavagem FACS conforme titulação realizada previamente. As células foram incubadas por 30 minutos no escuro a  $4^\circ\text{C}$ .

### Aquisição e Análise por Citometria de Fluxo

A aquisição das amostras foi realizada no citômetro FACS Verse (Becton Dickison). Foi feita a aquisição de 30.000 células a partir do *gate* de monócitos (Figura 1) definido pelos padrões de tamanho e granulosidade: FSC (*forward scatter*) versus SSC (*side scatter*), respectivamente. Foram utilizados dois tipos de fluorocromos anti-CD14 PerCP-Cy5.5-A (BD Pharmingen), anti-CD16 PE-A (BD Pharmingen) para identificação fenotípica da população de interesse. A análise dos dados foi feita por meio do BD FACS DIVA Software (BD Pharmingen).

### Análise Estatística

As análises estatísticas foram realizadas com o programa GraphPad Prism 6 (Graphpad softwa-

re, San Diego, CA, USA). Foi aplicado o teste de normalidade de Kolmogorov-Smirnov para medir o grau de concordância entre os dados e a hipótese nula ( $H_0$ ), sendo  $H_0$  correspondente à distribuição normal ( $\alpha=0,05$ ). A comparação entre os 4 grupos de estudo foi realizada por meio da Análise de Variância Simples (ANOVA). Posteriormente os dados foram correlacionados coluna com coluna pelo teste não paramétrico de Mann-Whitney, com intervalo de confiança 95% (IC95) e nível de significância  $p<0,05$ .

### RESULTADOS

Os monócitos foram divididos em subpopulações de acordo com a expressão de CD14 e CD16 (Figura 2). O ponto de corte adotado para a positividade em relação ao CD14 foi a partir de  $10^3$  e para o CD16 a partir de  $10^2$  (Figura 2). Essas populações foram separadas por citometria de fluxo e o percentual de cada uma delas foi comparada entre os 4 grupos de participantes (Figura 3).

A subpopulação CD14highCD16- apresentou diferença significativa entre os indivíduos não infectados e os pacientes sob terapia T1 e T2 (Figura 3A). O mesmo ocorreu com a subpopulação CD14highCD16+ (Figura 3B). A subpopulação CD14lowCD16+ além de demonstrar a mesma diferença entre os grupos citados, apresentou significância entre os indivíduos não infectados e os pacientes infectados pelo HIV-1 que não fazem uso de TARV (Figura 3C).

Em relação ao tipo de terapia, não foram encontradas diferenças significativas entre T1 e T2 em nenhuma das subpopulações de monócitos analisadas. Também não foram encontradas diferenças entre o uso ou não de antirretrovirais nesses pacientes.

### DISCUSSÃO

Analisando a média da subpopulação CD14highCD16+, observamos um baixo percentual dessas células nos grupos T1 ( $2,8 \pm 1,3\%$ ) e T2 ( $2,5 \pm 1,6\%$ ) em relação ao grupo controle ( $6,3 \pm 2,2\%$ ). O mesmo evento foi observado nos monócitos CD14lowCD16+ quando T1 ( $4,2 \pm 1,4\%$ ) e T2 ( $3,1 \pm 1,1\%$ ) foram comparados com o grupo controle ( $8,1 \pm 2,9\%$ ). Os pacientes que não faziam uso de TARV ( $3,3 \pm 1,8\%$ ) também demonstraram diferença significativa no percentual desses monócitos quando comparados com os controles. Segundo Ancuta *et al.*<sup>(2)</sup> e Ziegler-Heitbrock *et al.*<sup>(3)</sup> em indivíduos saudáveis essas subpopulações juntas representam cerca de 10%

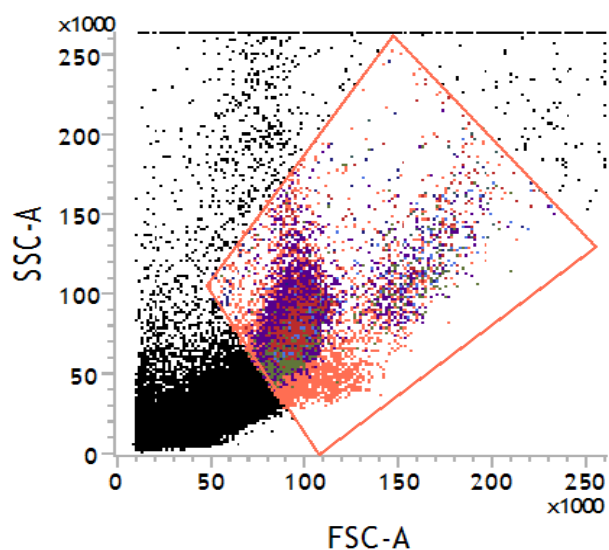


Figura 1. Gate de monócitos. Aquisição de 30.000 células definido pelos padrões de tamanho e granulidade: FSC(forward scatter) versus SSC (side scatter)

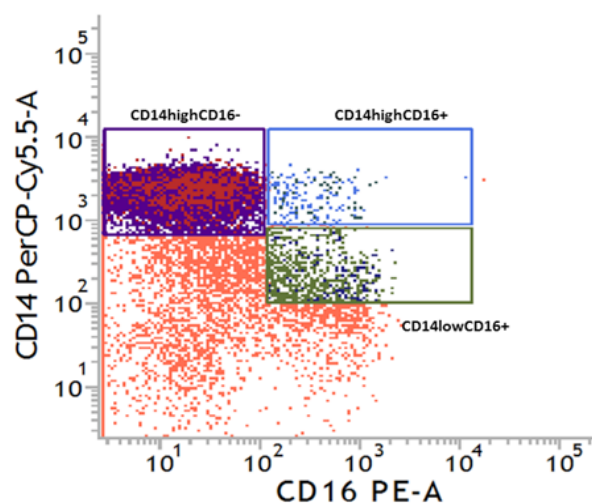


Figura 2. Identificação fenotípica das subpopulações de monócitos por citometria de Fluxo. Os monócitos divididos em 3 subpopulações baseados nos níveis de expressão de CD14 e CD16. O ponto de corte para positividade das células quanto ao CD16 foi estabelecido a partir de  $10^2$ . Já para o CD14 foi estabelecido a partir de  $10^3$

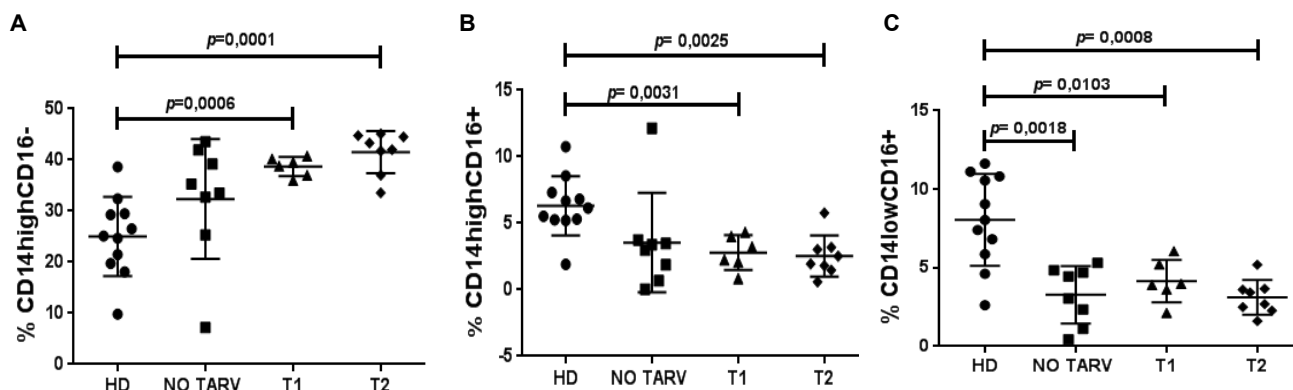


Figura 3. Porcentagem das subpopulações de monócitos pacientes infectados pelo HIV-1 em uso ou não de TARV. As subpopulações foram divididas de acordo com a expressão de CD14 e CD16 e o percentual de cada uma delas foi comparada entre os 4 grupos de estudo. T1 corresponde aos pacientes que fazem uso de 2 ITRN e T2 aos que utilizam 2 ITRN associados a 1 ITRNN. As colunas foram comparadas entre si utilizando o teste não paramétrico de Mann-Whitney e o nível de significância foi  $p < 0,05$

dos monócitos circulantes, sendo a CD14highCD16+ encontrada em menor percentagem. Fischer-Smith *et al.*<sup>(15)</sup> e Ancuta *et al.*<sup>(2)</sup> demonstraram em seus estudos que nos pacientes HIV-1 positivos com contagem de células T CD4+ menor que 300 e 350 céls/ $\mu$ L, respectivamente, os monócitos CD16+ sofreram expansão. Segundo Han *et al.*<sup>(10)</sup> a expansão desses monócitos CD16+, está relacionada diretamente com a carga viral e inversamente com a contagem de linfócitos T CD4+. Em contraste com

estudos anteriores, não observamos a expansão dos monócitos CD16+ em relação ao grupo controle, o que possivelmente se deve ao perfil dos pacientes que participaram de nosso estudo, uma vez que todos apresentaram contagem de células T CD4+ relativamente alta ( $> 400$  céls/ $\mu$ L), até mesmo aqueles que não faziam uso de terapia antirretroviral cuja carga viral era  $> 10.000$  cópias/mL (tabela 1). A redução percentual observada em nosso estudo, nos grupos T1 e T2 pode ser efeito satisfatório da

TARV, uma vez que estes fazem uso da mesma há alguns anos. Não temos parâmetros anteriores de comparação para essas subpopulações em relação a quando estes pacientes apresentavam contagem de células T CD4+ reduzida e quanto ao início da TARV.

Verificamos um baixo percentual de monócitos CD14highCD16- nos pacientes não infectados pelo HIV-1 (25±7,7%) quando comparados com o grupo T1 (38,7±1,9%) e o T2 (41,5±4,1%). Outros estudos já demonstraram que certas comorbidades podem causar redução no percentual dessa subpopulação, como ocorre na tuberculose, dengue e asma<sup>(16,17,18)</sup>. Somente testes toxicológicos e sorologia para HIV-1 foram realizados em nosso grupo controle. Não temos informações sobre as comorbidades citadas, o que pode ser uma das explicações para os nossos achados.

Em relação à terapia antirretroviral, evidenciamos em nosso estudo que não houve diferença significativa nas subpopulações de monócitos analisadas quanto aos dois tipos de terapia utilizados: 2 ITRN (T1) *versus* 2 ITRN associados a 1 ITRNN (T2). Amirayan-Chevillard *et al.*<sup>(12)</sup> observaram que somente a Terapia Antiretroviral Altamente Ativa (HAART), composta por 2 ITR associado a 1 IP, teria efeito sobre os monócitos, reduzindo a expansão da subpopulação CD16+ quando comparado a TARV composta apenas por ITR análogos ou não de nucleosídeos. Não observamos diferença estatística entre T1 e T2, o que não significa que a TARV utilizando ITR análogos ou não de nucleosídeos, não tenha surtido efeito nas subpopulações de monócitos ao longo do tempo em que está sendo utilizada, só teríamos que comparar com parâmetros de início da terapia.

## CONCLUSÃO

Embora, o papel dos monócitos na infecção pelo HIV-1 seja conhecido, as alterações sofridas por essas células em relação à expansão de subpopulações, resposta a TARV e mecanismo de infecção, ainda não estão completamente elucidadas. Mais estudos são necessários para que possamos compreender melhor o comportamento das subpopulações de monócitos durante a infecção pelo HIV-1, assim como o efeito das diferentes combinações de TARV ou mesmo da HAART sobre cada subpopulação de monócitos.

## REFERÊNCIAS

1. Fulcher JA, Hwangbo Y, Zioni R, Nickle D, Lin X, Heath L, et al. Compartmentalization of

human immunodeficiency virus type 1 between blood monocytes and CD4+ T cells during infection. *J Virol.* 2004; 78(15):7883–93.

2. Ancuta P, Kamat A, Kunstman KJ, Kim E-Y, Autissier P, Wurcel A et al. Microbial Translocation Is Associated with Increased Monocyte Activation and Dementia in AIDS Patients. *PLoS One* 2008; 3(6):2516.
3. Ziegler-Heitbrock L, Petronela A, Crowe S, Dalod M, Grau V, Hart DN, et al. Nomenclature of monocytes and dendritic cells in blood. *Blood* 2010; 116(16):74–80.
4. Cros J, Cagnard N, Woollard K, Patey N, Zhang S-Y, Senechal B, et al. Human CD14dim monocytes patrol and sense nucleic acids and viruses via TLR7 and TLR8 receptors. *Immunity* 2010; 33(3):375–86.
5. Wong KL, Tai JJ-Y, Wong W-C, Han H, Sem X, Yeap W-H, et al. Gene expression profiling reveals the defining features of the classical, intermediate, and nonclassical human monocyte subsets. *Blood* 2011; 118(5): 13–31.
6. Zawada AM, Rogacev KS, Rotter B, Winter P, Marell R-R, Fliser D, et al. SuperSAGE evidence for CD14++CD16+ monocytes as a third monocyte subset. *Blood* 2011; 118(12): 50–61.
7. ABBAS AK, LICHTMAN AH, PILLAI SHIV. *Imunologia celular e molecular.* 8 ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2015.
8. Haeffner-Cavaillon N, Thieblemont N, Weiss L, Sadeghi HM, Estcourt C. CD14lowCD16high: a cytokine-producing monocyte subset which expands during human immunodeficiency virus infection. *Eur J Immunol.* 1995; 25(12): 3418–24.
9. Ellery PJ, Tippett E, Chiu Y-L, Paukovics G, Cameron PU, Solomon A, et al. The CD16+ monocyte subset is more permissive to infection and preferentially harbors HIV-1 in vivo. *J Immunol.* 2007; 178(10): 6581–9.
10. Han J, Wang B, Han N, Zhao Y, Song C. CD14 high CD16 + Rather Than CD14 low CD16 + Monocytes Correlate With Disease Progression in Chronic HIV-Infected Patients. *J Acquir Immune Defic Syndr.* 2009; 52(5):553–59.
11. Giri MS, Nebozyhn M, Raymond A, Gekonge B, Hancock A, Creer S, et al. Circulating monocytes in HIV-1-infected viremic subjects exhibit an antiapoptosis gene signature and virus- and host-mediated apoptosis resistance. *J Immunol.* 2009; 182(7):4459–70.
12. Amirayan-Chevillard N, Tissot-Dupont H, Capo C, Brunet C, Dignat-George F, Obadia Y, et al.

- Impact of highly active anti-retroviral therapy (HAART) on cytokine production and monocyte subsets in HIV-infected patients. *Clin Exp Immunol* 2000; 120(1):107–12.
13. Panel on Antiretroviral Guidelines for Adults and Adolescents. Guidelines for the use of antiretroviral agents in HIV-1-infected adults and adolescents. Department of Health and Human Services 2015; Available at <http://www.aidsinfo.nih.gov>. Accessed 18 August 2015.
  14. Aquaro S, Perno C-F, Balestra E, Balzarini J, Cenci A, Francesconi M, et al. Inhibition of replication of HIV in primary monocyte / macrophages by different antiviral and comparative efficacy in lymphocytes drugs. *J Leuk Bio* 1997; 62(1): 138-143.
  15. Fischer-Smith T, Tedaldi EM, Rappaport J. Cd163/CD16 coexpression by circulating monocytes/macrophages in HIV: potential biomarkers for HIV infection and AIDS progression. *AIDS Res Hum Retroviruses* 2008; 24(3): 417-21.
  16. Moniuszko M, Bodzenta-Lukaszyk A, Kowal K, Lenczewska D, Dabrowska M. Enhanced frequencies of CD14<sup>+++</sup>CD16<sup>+</sup>, but not CD14<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup>, peripheral blood monocytes in severe asthmatic patients. *Clin Immunol* 2009; 130(3):338–46.
  17. Azeredo EL, Neves-Souza PC, Alvarenga AR, Reis SRNI, Torrentes-Carvalho A, Zagne S-MO, et al. Differential regulation of toll-like receptor-2, toll-like receptor-4, CD16 and human leucocyte antigen-DR on peripheral blood monocytes during mild and severe dengue fever. *Immunology* 2010; 130(2):202–16.
  18. Castaño D, García LF, Rojas M. Increased frequency and cell death of CD16<sup>+</sup> monocytes with Mycobacterium tuberculosis infection. *Tuberculosis*. Elsevier 2011; 91(5):348–60.

*Correspondência:*

**Camila Oliveira Barbosa de Morais**

*E-mail: camila\_obm@hotmail.com*