

Yordanka Medina Armenteros

**AVALIAÇÃO DA RESPOSTA IMUNE CONTRA
AS PROTEÍNAS L E G DO
VÍRUS RESPIRATÓRIO SINCICIAL HUMANO**

Tese apresentada ao programa de Pós-graduação em Microbiologia, do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo, para a obtenção do Título de Doutor em Microbiologia.

São Paulo
2012

Yordanka Medina Armenteros

**AVALIAÇÃO DA RESPOSTA IMUNE CONTRA
AS PROTEÍNAS L E G DO
VÍRUS RESPIRATÓRIO SINCICIAL HUMANO**

Tese apresentada ao programa de Pós-graduação em Microbiologia, do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo, para a obtenção do Título de Doutor em Microbiologia.

Área de concentração: Microbiologia

Orientador: Prof. Dr. Armando Morais Ventura

Versão original

São Paulo
2012

DADOS DE CATALOGAÇÃO NA PUBLICAÇÃO (CIP)
Serviço de Biblioteca e Informação Biomédica do
Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo

reprodução não autorizada pelo autor

Medina-Armenteros, Yordanka.

Avaliação da resposta imune contra as proteínas L e G do vírus respiratório sincicial humano / Yordanka Medina Armenteros. -- São Paulo, 2012.

Orientador: Prof. Dr. Armando Morais Ventura.

Tese (Doutorado) – Universidade de São Paulo. Instituto de Ciências Biomédicas. Departamento de Microbiologia. Área de concentração: Microbiologia. Linha de pesquisa: Virologia molecular

Versão do título para o inglês: Evaluation of the immune response against L and G proteins from human respiratory syncytial virus.

1. Virologia 2. Vírus de RNA 3. Vacinas 4. Epítomos I. Ventura, Prof. Dr. Armando Morais II. Universidade de São Paulo. Instituto de Ciências Biomédicas. Programa de Pós-Graduação em Microbiologia III. Título.

ICB/SBIB047/2012

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOMÉDICAS

Candidato(a): Yordanka Medina Armenteros.

Título da Tese: Avaliação da resposta imune contra as proteínas L e G do vírus respiratório sincicial humano.

Orientador(a): Prof. Dr. Armando Morais Ventura.

A Comissão Julgadora dos trabalhos de Defesa da Tese de Doutorado, em sessão pública realizada a/...../....., considerou

Aprovado(a)

Reprovado(a)

Examinador(a): Assinatura:
Nome:
Instituição:

Examinador(a): Assinatura:
Nome:
Instituição:

Examinador(a): Assinatura:
Nome:
Instituição:

Examinador(a): Assinatura:
Nome:
Instituição:

Presidente: Assinatura:
Nome:
Instituição:




**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOMÉDICAS**

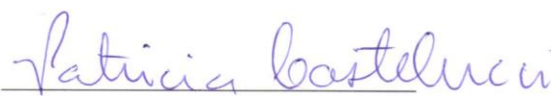
Cidade Universitária "Armando de Salles Oliveira"
Av. Prof. Lineu Prestes, 2415 – CEP. 05508-000 São Paulo, SP – Brasil
Telefone : (55) (011) 3091.7733 – telefax : (55) (011) 3091.7438
e-mail: cep@icb.usp.br

CERTIFICADO

Certificamos que o protocolo registrado sob nº **018** nas fls. **42** do livro **2** para uso de animais em experimentação, sob a responsabilidade de **Armando Moraes Ventura** Coordenador(a) da Linha de pesquisa "**Avaliação da capacidade imunoprotetora de um peptídeo da glicoproteína G do Vírus Respiratório Sincicial Humano**" do qual participou(aram) o(s) alunos **Yordanka Medina Armenteros**, está de acordo com os Princípios Éticos de Experimentação Animal adotado pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA) e foi aprovado pela **COMISSÃO DE ÉTICA EM EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL (CEEA)** em 27.02.2007.

São Paulo, 27 de fevereiro de 2007.


Prof. Dr. CARLOS PELLESCI TABORDA
Vice - Coordenador da
CEEA - ICB/USP


Profa. Dra. PATRÍCIA CASTELUCCI
Secretária da
CEEA - ICB/USP

A minha mãe

AGRADECIMENTOS

Agradeço, em primeiro lugar, a Deus que me deu a força para seguir em frente e me tem acompanhado em todos os momentos, bons e ruins, durante minha estadia no Brasil.

A minha família: minha mãe Elisa, minha avo, minhas tias Eva e Lina, minha irmã Ludmila, meu pai Ricardo, Tatá, meus primos Yoan e Anorys, e tem mais... A cada um deles, lhes agradeço por ter me educado, pelos valores passados, por me ensinar a viver, pelo apoio incondicional e pelo amor. Sem todos esses elementos, não estaria hoje onde estou.

A minha irmã Ludmila pela sua ternura e ser minha maior confidente.

Ao Tomás, a Maria Rosa, e sua família pelo apoio e o amor oferecido, e por se tornarem uma parte importante de minha vida.

A Russell por ser esse amigo maravilhoso e pai postiço; pelas lições de vida e pelo carinho sincero que oferece. Muito obrigada amigo, de coração!

Aos meus amigos da salsa, só gente bonita! A eles por me “suportarem” toda quinta, por tornar minhas semanas mais felizes, por sua amizade, pela cumplicidade. A todos os que estão e aos que passaram, muito obrigada!

A Cristina, por sua compreensão e apoio, por seu carinho e por ter esse dom de psicóloga disfarçado em amizade.

Aos irmãos da igreja Butantã.

Aos professores Mario Politi e Elizabete Vicente, pessoas especiais com uma grande sensibilidade.

Ao Prof. Dr. Armando Morais Ventura por ter me dado a oportunidade de formar parte do seu grupo de pesquisa, pelas experiências e o ensino transmitido, pela paciência, a compreensão e sua amabilidade constante; enfim, por todo o apoio oferecido desde o primeiro dia, muito obrigada!

Aos meus colegas do laboratório Cassiano, Tamura, Fernando, Fabiana, Andressa e Paulo. Obrigada pela convivência, as experiências transmitidas e o apoio.

Ao meu “querido uruguayo”, Luis: colega, amigo, confidente, irrmãozão. Obrigada pela parceria, pela confiança, por cada momento que você me dedicou e facilitou a minha vida. Por estar sempre atencioso e disposto para ouvir, aconselhar, discordar, elogiar ou criticar. Sem dúvida, uma das melhores pessoas que conheci na minha vida.

Ao Prof. Dr. Luis Carlos de Souza Ferreira e seu grupo de pesquisa. Em especial a Cariri, Mariana, Rafael, Juliana, Wilson, Robert, Jaime e Loren. Muito obrigada por cada ajuda, dúvida tirada, sorriso ou comentário sem noção capaz de deixar o dia mais errático, um pouco menos triste.

A Catarina pela ajuda no desenvolvimento dos experimentos, pelas experiências transmitidas, a ajuda incondicional; e, sobretudo, por ser amiga.

Ao pessoal do laboratório do Prof. Dr. Carlos F. M. Menck e seu grupo de pesquisa.

Ao nosso técnico Dino, e Carlos do biotério, pelo apoio e as ajudas constantes.

As agências financiadoras CNPq e FAPESP.

Ao pessoal da biblioteca, em especial a Tereza e a Eva pela amabilidade e a soliedaridade.

Aos meus amigos cubanos aqui no Brasil e lá em Cuba.

Com certeza vou deixar alguém de fora; para esses, também muito obrigada!

*“ Os ventos que às vezes tiram algo que amamos, são os mesmos que trazem algo que aprendemos a amar...
Por isso não devemos chorar pelo que nos foi tirado e sim, aprender a amar o que nos foi dado; pois tudo aquilo que é realmente nosso, nunca se vai para sempre...”*

Bob Marley

RESUMO

Medina-Armenteros Y. Avaliação da resposta imune contra as proteínas L e G do Vírus Respiratório Sincicial Humano [tese (Doutorado em Microbiologia)]. São Paulo: Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo; 2012.

O desenvolvimento de vacinas pediátricas contra o Vírus Respiratório Sincicial Humano, HRSV (do inglês, *Human Respiratory Syncytial Virus*), tem sido problemático devido à população alvo envolvida e a dificuldades para atingir um balanço entre atenuação viral e imunogenicidade. Tanto a imunização com a glicoproteína G do HRSV, proteína de ligação ao receptor celular e alvo para a resposta de anticorpos neutralizantes e protetores, quanto a primeira vacina testada inativada com formalina, encontram-se associadas com a indução de eosinofilia pulmonar mediada por uma resposta de células TCD4+ Th2 após exposição ao HRSV selvagem. Foi identificado um peptídeo da proteína G, dentro do ectodomínio conservado (aa 184 a 198), que predispõe para essa resposta Th2, sendo que a introdução de mutações eliminou a capacidade desse peptídeo predispor camundongos a desenvolver eosinofilia. Esse achado torna essa seqüência uma ferramenta atraente para o direcionamento da resposta imune protetora contra o vírus HRSV. Células T CD8+ específicas para o epítipo imunodominante encontrado na proteína M2-1 (aa 82 a 90) de HRSV reduzem a resposta Th2 e mediam resistência contra desafio com HRSV quando administrado por via intranasal em camundongos. Em humanos, existe uma relação entre a resposta de linfócitos T citotóxicos (LTC) contra HRSV e redução dos sintomas clínicos. Assim, a busca de novos epítipos nas proteínas estruturais do vírus é importante. Neste trabalho identificamos epítipos de células TCD8+ na proteína L, a polimerase viral, altamente conservada e a menos estudada nesse aspecto. Essa identificação foi feita por predição utilizando ferramentas de bioinformática, síntese dos peptídeos correspondentes e avaliação da resposta imune celular contra eles, tendo sido demonstrado que L apresenta epítipos de células T restritos pelo H-2^d. Resta caracterizar sua capacidade de proteção frente a desafio com HRSV. Uma segunda abordagem na busca de imunógenos efetivos contra HRSV, consistiu na construção de vacinas de DNA inserindo a seqüência nucleotídica do peptídeo da proteína G mutado (GM, aa164 a 204), mencionado acima. Isso foi feito em vetores de expressão eucariótica em fusão com a seqüência sinal do ativador de plasminogenio tecidual, e com a subunidade B da toxina colérica (CTB), um potente adjuvante de mucosa. Também expressamos e purificamos o peptídeo GM em fusão com CTB, a partir de um vetor bacteriano. A caracterização da resposta imune contra HRSV estimulada por esses vetores eucarióticos e peptídeos purificados revelou que o plasmídeo pTGMCTB, bem como as proteínas GM e GMCTB foram capazes de induzir resposta de anticorpos contra GM. Esses anticorpos, porém, não se mostraram neutralizantes de HRSV, como era nossa expectativa. A capacidade de proteção frente a desafio com HRSV não foi demonstrada, porém nenhum destes imunógenos induziu eosinofilia pulmonar. Concluímos que o peptídeo GM não adquire uma conformação adequada capaz de gerar anticorpos neutralizantes, quando está em fusão com a proteína CTB, tanto na forma de proteína, quanto como vacina de DNA.

Palavras-chave: Vírus Respiratório Sincicial Humano (HRSV). RNA polimerase. Epítipos de células TCD8+. Predição de epítipos. Glicoproteína G de ligação. Eosinofilia pulmonar. FI-HRSV. Vacina de DNA.

Gracias por visitar este Libro Electrónico

Puedes leer la versión completa de este libro electrónico en diferentes formatos:

- HTML(Gratis / Disponible a todos los usuarios)
- PDF / TXT(Disponible a miembros V.I.P. Los miembros con una membresía básica pueden acceder hasta 5 libros electrónicos en formato PDF/TXT durante el mes.)
- Epub y Mobipocket (Exclusivos para miembros V.I.P.)

Para descargar este libro completo, tan solo seleccione el formato deseado, abajo:

