

OTR.14 - Avaliação da expressão da osteopontina e suas isoformas de *splicing* alternativo na infecção pelo vírus influenza A

Aline da Rocha Matos¹; Jéssica Santa Cruz de Carvalho Martins^{1*}; Cristiana Couto Garcia¹; Etel Rodrigues Pereira Gimba²; Marilda Mendonça Siqueira¹.

¹Fiocruz/IOC;

²INCa.

Introdução:

A infecção pelo vírus influenza A (IAV) é responsável por altas taxas de morbi-mortalidade em todo o mundo, afetando principalmente idosos, crianças, indivíduos imunocomprometidos ou com comorbidades. O agravamento da infecção está associado à presença de co-morbidades do hospedeiro, fatores genéticos do vírus e fatores intrínsecos do hospedeiro. A osteopontina (OPN) é uma glicoproteína que sofre *splicing* alternativo, gerando isoformas (OPN-SI) e possui potencial como biomarcador em infecções e em tumores. Na infecção por influenza, a OPN encontra-se aumentada, correlacionando-se com a patogenicidade e gravidade da lesão pulmonar. Cabe ressaltar que ainda não há relatos sobre os níveis de expressão durante a infecção pelo IAV.

Objetivo:

Avaliar o nível de expressão da osteopontina e suas isoformas na infecção por IAV.

Metodologia:

No modelo *in vitro*, foram utilizadas células A549 infectadas com o vírus influenza A(H1N1)pdm09 (A/California/07/2009) em crescentes multiplicidades de infecção (MOI). As células foram coletadas 24 horas após a infecção e armazenadas a -70 °C, para posterior extração de RNA. No modelo *in vivo*, foram utilizados camundongos C57/BL/6J (N=5, por grupo), infectados com IAV adaptado A/PR/8/34 H1N1 (PR8), com título viral de 5x10³ PFU. Os animais foram sacrificados 3 e 5 dias após a infecção e os pulmões foram coletados para extração de RNA. Para detecção e quantificação da OPN e das OPN-SI, o RNA total foi extraído das células e dos tecidos pulmonares dos camundongos. Após, foi realizada transcrição reversa (RT-PCR) e PCR em tempo real. A quantificação da expressão gênica relativa foi realizada através da metodologia

do $\Delta\Delta CT$. Os genes da β -actina humana e GAPDH murino foram utilizados como normalizadores. Para as análises estatísticas, utilizamos o teste exato de Fisher para as variáveis discretas e teste t de Student para variáveis contínuas. A significância foi considerada quando os valores de $p < 0.05$.

Resultado:

No modelo de infecção *in vitro*, observamos aumento de expressão da OPN total e de todas as OPN-SI analisadas (OPN A, OPN B, OPN C e OPN 4) de forma concentração dependente, em comparação com as células não infectadas. No modelo *in vivo* de infecção, detectamos aumento significativo da expressão da OPN total após 5 dias de infecção com título viral de 5x10³ PFU, comparando-se com o grupo controle sem infecção e com o nível de expressão 3 dias após a infecção.

Conclusão:

Os resultados encontrados sugerem que o aumento da expressão da OPN total e das OPN-SI está associado à gravidade da infecção por IAV, nos modelos estudados. Dados futuros sobre o nível de expressão destes alvos em amostras de pacientes infectados por influenza A(H1N1)pdm09 serão importantes para confirmar esta associação.

Palavras-chave: Influenza A; Osteopontina; Biomarcador