

BIO.07 - Modulação da expressão de IFITM3 via agonistas dos receptores CCR5 e CXCR4 e sua implicação na replicação dos vírus influenza

Thauane dos Santos Correia da Silva¹; André Costa Ferreira¹; Aline Santos¹; Jéssica Morais¹; Thiago Moreno Lopes e Souza²; Marilda Siqueira¹; Milene Dias Miranda^{1*}.

¹Fiocruz/IOC;
²Fiocruz/CTDS.

Introdução:

Durante a co-infecção *in vitro* entre o influenza e o HIV-1, ou apenas a exposição a gp120, responsável por se ligar ao CD4 e aos receptores celulares CCR5 e CXCR4 (durante a infecção por HIV), promove inibição da replicação do influenza. Este efeito inibitório pode ser explicado pelo aumento dos níveis da proteína transmembranar induzida por interferon, IFITM3, que é um fator restritivo a diferentes replicações virais.

Objetivo:

Deste modo, estamos investigando o papel dos receptores celulares, CCR5 e CXCR4, sobre os níveis de IFITM3, e qual sua influência na replicação dos vírus influenza.

Metodologia:

Inicialmente, células MDCK foram tratadas com o dobro do ED50 dos agonistas endógenos para o receptor CCR5 (CCL3/MIP1 α , CCL4/MIP1 β e CCL5/Rantes). Após 24 horas, as células foram infectadas com o vírus influenza A(H1N1)pdm09 no MOI de 0,05 e 0,5 por 1 hora, a 37 °C e 5% de CO₂. Após 24 horas de infecção, o sobrenadante foi recolhido e o título viral avaliado por atividade neuraminidase (NA). Posteriormente, para avaliar a cinética dos níveis proteicos de IFITM3, células MDCK foram tratadas com as quimiocinas citadas acima, além de SDF-1(agonista endógeno do receptor CXCR4) e os agonistas exógenos dos receptores CCR5 e CXCR4 (gp120-Bal e gp120-IIIB a 5 μ g/mL). A monocamada celular foi lisada com tampão para *western blot* nos tempos de 3, 6, 18, 24 e 48 horas após exposição aos agonistas. Além disso, células MDCK foram tratadas com as mesmas concentrações dos agonistas

endógenos e exógenos anteriores. Após 18h, as células foram infectadas com o vírus A(H1N1)pdm09 no MOI de 0,05 por 1 hora, a 37 °C e 5% de CO₂. Após 24 horas de infecção, o sobrenadante foi recolhido e o título viral avaliado por atividade NA.

Resultado:

No primeiro ensaio, observamos que a exposição aos agonistas do receptor CCR5 foi capaz de inibir a replicação do vírus influenza, de uma maneira dependente de MOI. No segundo ensaio, vimos que o IFITM3 tem seus níveis proteicos aumentados em 18 horas após exposição aos agonistas endógenos e exógenos. No terceiro ensaio, observamos que os agonistas de ambos os receptores foram capazes de inibir a replicação do vírus influenza. Podemos destacar uma inibição da replicação viral em 90% com a pré-exposição ao MIP1 α . Estamos avaliando as vias de sinalização que levam ao aumento de IFITM3.

Conclusão:

Contribuímos com estudos na área da pesquisa básica sobre estratégias do sistema imune inato, que podem ser usadas no controle de importantes infecções virais. Além disso, estamos avaliando o papel de uma importante proteína do HIV-1, gp120, como um modulador da expressão de IFITM3, que restringe a replicação de diferentes vírus de grande importância clínica como influenza, vírus da hepatite C, *West Nile*, dengue e Febre Amarela.

Palavras-chave: IFITM3; agonistas endógenos e exógenos de CCR5 e CXCR4; influenza