



SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA XXVIII SIC

paz no plural



Evento	Salão UFRGS 2016: SIC - XXVIII SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFRGS
Ano	2016
Local	Campus do Vale - UFRGS
Título	ATIVIDADE ANTIVIRAL DO MEK-INIBIDOR CI-1040 E SEU METABOLITO PD0184352 CONTRA O VÍRUS INFLUENZA A
Autor	CHAIRINI CÁSSIA THOMÉ
Orientador	NICOLAS BRUNO MAILLARD

ATIVIDADE ANTIVIRAL DO MEK-INIBIDOR CI-1040 E SEU METABOLITO PD0184352 CONTRA O VÍRUS INFLUENZA A

Autor: Chairini Cássia Thomé **Orientador:** Nicolas Bruno Maillard **Instituição:** UFRGS

INTRODUÇÃO: Todos os anos milhares de pessoas são hospitalizadas com complicações respiratórias relacionadas à infecção pelo vírus Influenza, que pode causar desde doenças brandas à severas e até mesmo morte em alguns casos, isso faz do vírus Influenza um grande problema de saúde pública. Vacinas são o principal meio de prevenção, mas nem sempre são eficazes, pois o vírus evolui continuamente e todo ano uma nova vacinação é necessária. Drogas antivirais, como inibidores de neuraminidase, são a primeira escolha como terapia contra a gripe. Entretanto, sua especificidade pode ser facilmente ultrapassada por mutações pontuais no genoma do vírus, o que o leva ser resistente à terapia. As complicações respiratórias relacionadas à infecção pelo vírus Influenza são na maioria dos casos causadas por co- infecção bacteriana, como pneumonia bacteriana por *Staphylococcus aureus*, por exemplo. Portanto novas drogas antivirais são necessárias contra a gripe, e drogas que também possuam um efeito antibacteriano conjunto seriam as ideais. A via de sinalização celular Raf/MEK/ERK já foi descrita pelo seu importante papel na absorção do vírus nas células e na liberação de partículas virais ribonucleicas do núcleo no estágio tardio do ciclo de replicação viral. Isso dá enfoque a inibição de componentes celulares com alternativa de terapia antiviral. O MEK-inibidor CI-1040 já foi descrito por sua atividade antiviral *in vitro*, porém quando ingerido oralmente, essa molécula é convertida no fígado em sua forma metabólica (PD0184352). Com base nisso, o objetivo deste trabalho é avaliar a atividade antiviral do CI-1040 e seu metabolito PD0184352 contra o vírus Influenza e também avaliar seus efeitos contra *S. aureus*.

MÉTODOS: As linhagens celulares A549 e MDCKII foram cultivadas em meio IMDM suplementado com 10% FCS e incubadas a 37 °C e 5% CO₂. Para avaliar a atividade antiviral, as células A549 foram semeadas em placa de 24 poços (1x10⁵ células/ poço). Vinte e quatro horas após, as células foram lavadas com PBS e infectadas com o vírus Influenza A/Regensburg/D6/2009 (H1N1) pdm09 (MOI: 0,001; 2x10² pfu/poço) por 30 min e após tratadas por 24h com CI-1040 (10µM), PD0184352 (10µM), Oseltamivir (1 µM) e DMSO (1 %). Para avaliar o número de partículas infecciosas (pfu), o sobrenadante foi coletado e a titulação viral (AVICEL® ensaio de placas) foi realizada em placa de 96 poços semeada com células MDCKII (8x10⁴ células/ poço). Células infectadas foram imunomarcadas por 1h com anticorpo monoclonal específico para proteína nuclear do vírus Influenza A (anti-NP; AA5H), seguido por 30 min de incubação com anticorpo anti-mouse marcado com peroxidase (anti-mouse; HRP) e 10 min de incubação com substrato de peroxidase True Blue™.

Para avaliar a atividade antibacteriana, a bactéria SARM (*S. aureus* resistente à metilina) foi incubada com meio TBS a 37°C e tratada com CI-1040 (50µM), PD0184352 (50µM) e DMSO (0,5%) por 6h com medição das amostras a cada 30 min para avaliar o crescimento bacteriano. SARM também foi tratada com diferentes concentrações de PD0184352 (6,25µM - 100µM) por 6h, para determinar o seu EC₅₀. Todas as amostras foram analisadas em Espectrofotômetro (600nm).

RESULTADOS: PD0184352 mostrou uma inibição de aproximadamente 95% no crescimento bacteriano em comparação com o grupo controle (DMSO) e CI-1040, com EC₅₀ de 20µM. Os experimentos para avaliar a atividade antiviral ainda estão em progresso. Resultados prévios mostraram um EC₅₀ de 0,0026µM do CI-1040 contra H1N1pdm09.

CONCLUSÃO: Nosso trabalho apresenta uma nova estratégia de inibir componentes celulares como uma forma de terapia contra o vírus Influenza. Enquanto os experimentos com o vírus Influenza A ainda estão em progresso, a forma metabólica do CI-1040 foi capaz de inibir o

crescimento bacteriano de maneira mais efetiva do que o CI-1040. Entretanto, mais experimentos são necessários para confirmar seu putativo efeito antibacteriano.