XXV Congresso de Iniciação Científica da Unicamp

18 a 20 Outubro Campinas | Brasil

ATIVIDADE ANTIVIRAL DE INIBIDORES DA MAQUINARIA ESCRT NA INFECÇÃO POR ZIKA VÍRUS.

Monique Fontana.

Resumo

Zika vírus é um arbovírus emergente de grande importância clínica, uma vez que pode levar ao desenvolvimento de graves complicações neurológicas como Síndrome de Guillain-Barré e microcefalia de recém nascidos de mães contaminadas com a febre do Zika durante a gravidez. Entretanto, nenhum antiviral específico está disponível no mercado.[1] O presente estudo verifica a atividade antiviral contra ZIKV de determinados inibidores do complexo multienzimático ESCRT (Endossomal Sorting Complex Required for Transport). Pela nossa hipótese, o bloqueio dessa via irá interferir no brotamento viral durante a replicação de ZIKV.

Palavras-chave:

Vírus Zika, Maquinaria ESCRT, FGI 104.

Introdução

A ausência de antivirais específicos para o ZIKA bem como a gravidade das complicações que a infecção pode ocasionar tornam-se estímulos para a pesquisa de potenciais alvos para o desenvolvimento de fármacos. O estudo em questão tem como objetivo caracterizar a atividade anti-ZIKV de determinados inibidores da maquinaria ESCRT que se encontra na membrana plasmática das células eucarióticas e desempenha diversas funções, incluindo a biogênese de corpos vesiculares. Em células de mamíferos, os componentes da maquinaria ESCRT têm sido apontados como fatores do hospedeiro que promovem a liberação de vírus envelopados, como o Zika. Mais especificamente, a subunidade TSG101 da referida maquinaria foi apontada como fator determinante para o brotamento de diversos vírus envelopados.

Nesse estudo, usamos uma biblioteca de 30 compostos com modificações estruturais de moléculas da família FGI 104 que já se mostraram eficientes na inibição da enzima TSG 101. Tais compostos foram previamente sintetizados e cedidos por um ex-docente do Instituto de Química da Unicamp. Até o momento caracterizamos a citotoxicidade (CC50) de cada um desses compostos em células Vero por ensaios de MTT. Os próximos passos, em fase final de realização, envolvem a determinação da concentração inibitória 50 (IC50) dos compostos não tóxicos por ensaios de formação de foco infeccioso e a caracterização de qual etapa do ciclo replicativo do vírus ocorre a inibição viral através de uma metodologia de tempo de adição.

Resultados e Discussão

Foram realizados diversos experimentos prévios para a determinação de parâmetros a serem seguidos durante a elaboração do projeto. Também foram definidas as concentrações de células a serem inoculadas em cada poço por experimento bem como a porcentagem de Soro Fetal Bovino a ser utilizado. Foram determinadas as concentrações de $2,5 \times 10^5$ células/ml e de 10% de SFB, pois estas apresentaram melhores resultados referentes à manutenção das células Vero no decorrer do experimento.

A seguir, foram determinados os valores de IC50 para cada um dos compostos e os resultados foram

analisados pelo programa Graph Prism e podem ser conferidos na tabela abaixo:

Tabela 1. IC50 dos compostos do estudo em μM

Comp	CC50	Comp	CC50	Comp	CC50
1	43,73	11	206,7	21	47,75
2	39,95	12	54,66	22	34,74
3	74,00	13	36,48	23	130,0
4	31,59	14	211,3	24	177,4
5	127,9	15	97,00	25	22,86
6	80,89	16	42,91	26	58,08
7	-	17	91,32	27	171,7
8	-	18	183,3	28	37,98
9	46,09	19	260,6	29	222,2
10	17,22	20	281,0	30	2,794

De acordo com os resultados obtidos, são mais promissores, em relação à baixa citotoxicidade, os compostos 20, 19, 29, 14 e 11.

Além disso, foi elaborado um estoque viral de ZIKV para a próxima etapa do projeto. O estoque foi titulado através de ensaios de formação de placa de lise utilizando anticorpos específicos para ZIKV e foi obtido o título de $4,5 \times 10^6$ vírus/ml.

Conclusões

Os dados permitem inferir sobre os compostos destacados em relação à baixa citotoxicidade, parâmetro importante para um possível princípio ativo. A seguir, será finalizada a análise para a determinação dos melhores compostos capazes de inibir a replicação viral.

Agradecimentos

Agradeço aos professores Dr. José Luiz Proença Módena e Símon Camerer da instituição Unicamp.

[1] Musso D, Nilles EJ, Cao-Lormeau VM. 2014. Rapid spread of emerging Zika vírus in the Pacific area. Clin Microbiol Infect 20:O595–O596