



# **BIOTECNOLOGIA:**

pesquisa e inovação

Larisse Raquel Carvalho Dias

(Organizadora)



**AYA EDITORA**

2023

**Larisse Raquel Carvalho Dias**  
(Organizadora)

# **Biotecnologia: pesquisa e inovação**

**Ponta Grossa**  
**2023**

---

## **Direção Editorial**

Prof.º Dr. Adriano Mesquita Soares

## **Organizadora**

Prof.ª Dr.ª Larisse Raquel Carvalho Dias

## **Capa**

AYA Editora©

## **Revisão**

Os Autores

## **Executiva de Negócios**

Ana Lucia Ribeiro Soares

## **Produção Editorial**

AYA Editora©

## **Imagens de Capa**

br.freepik.com

## **Área do Conhecimento**

Ciências Biológicas

---

## **Conselho Editorial**

Prof.º Dr. Adilson Tadeu Basquerote Silva

*Universidade para o Desenvolvimento do Alto Vale do Itajaí*

Prof.º Dr. Aknaton Toczec Souza

*Centro Universitário Santa Amélia*

Prof.ª Dr.ª Andréa Haddad Barbosa

*Universidade Estadual de Londrina*

Prof.ª Dr.ª Andreia Antunes da Luz

*Faculdade Sagrada Família*

Prof.º Dr. Argemiro Midonês Bastos

*Instituto Federal do Amapá*

Prof.º Dr. Carlos López Noriega

*Universidade São Judas Tadeu e Lab. Biomecatrônica - Poli - USP*

Prof.º Me. Clécio Danilo Dias da Silva

*Centro Universitário FACEX*

Prof.ª Dr.ª Daiane Maria De Genaro Chiroli

*Universidade Tecnológica Federal do Paraná*

Prof.ª Dr.ª Danyelle Andrade Mota

*Universidade Federal de Sergipe*

Prof.ª Dr.ª Déborah Aparecida Souza dos Reis

*Universidade do Estado de Minas Gerais*

Prof.ª Ma. Denise Pereira

*Faculdade Sudoeste – FASU*

Prof.ª Dr.ª Eliana Leal Ferreira Hellvig

*Universidade Federal do Paraná*

Prof.º Dr. Emerson Monteiro dos Santos

*Universidade Federal do Amapá*

Prof.º Dr. Fabio José Antonio da Silva

*Universidade Estadual de Londrina*

Prof.º Dr. Gilberto Zammar

*Universidade Tecnológica Federal do Paraná*

Prof.ª Dr.ª Helenadja Santos Mota

*Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Baiano, IF Baiano - Campus Valença*

Prof.ª Dr.ª Heloísa Thaís Rodrigues de Souza

*Universidade Federal de Sergipe*

Prof.ª Dr.ª Ingridi Vargas Bortolaso

*Universidade de Santa Cruz do Sul*

Prof.ª Ma. Jaqueline Fonseca Rodrigues

*Faculdade Sagrada Família*

Prof.ª Dr.ª Jéssyka Maria Nunes Galvão

*Faculdade Santa Helena*

Prof.º Dr. João Luiz Kovaleski

*Universidade Tecnológica Federal do Paraná*

Prof.º Dr. João Paulo Roberti Junior

*Universidade Federal de Roraima*

Prof.º Me. Jorge Soistak

*Faculdade Sagrada Família*

Prof.º Dr. José Enildo Elias Bezerra

*Instituto Federal de Educação Ciência e Tecnologia do Ceará, Campus Ubajara*

Prof.ª Dr.ª Karen Fernanda Bortoloti

*Universidade Federal do Paraná*

Prof.ª Dr.ª Leozenir Mendes Betim

*Faculdade Sagrada Família e Centro de Ensino Superior dos Campos Gerais*

Prof.ª Ma. Lucimara Glap

*Faculdade Santana*

---

**Prof.º Dr. Luiz Flávio Arreguy Maia-Filho**

*Universidade Federal Rural de Pernambuco*

**Prof.º Me. Luiz Henrique Domingues**

*Universidade Norte do Paraná*

**Prof.º Dr. Milson dos Santos Barbosa**

*Instituto de Tecnologia e Pesquisa, ITP*

**Prof.º Dr. Myller Augusto Santos Gomes**

*Universidade Estadual do Centro-Oeste*

**Prof.ª Dr.ª Pauline Balabuch**

*Faculdade Sagrada Família*

**Prof.º Dr. Pedro Fauth Manhães Miranda**

*Universidade Estadual de Ponta Grossa*

**Prof.º Dr. Rafael da Silva Fernandes**

*Universidade Federal Rural da Amazônia, Campus Parauapebas*

**Prof.ª Dr.ª Regina Negri Pagani**

*Universidade Tecnológica Federal do Paraná*

**Prof.º Dr. Ricardo dos Santos Pereira**

*Instituto Federal do Acre*

**Prof.ª Ma. Rosângela de França Bail**

*Centro de Ensino Superior dos Campos Gerais*

**Prof.º Dr. Rudy de Barros Ahrens**

*Faculdade Sagrada Família*

**Prof.º Dr. Saulo Cerqueira de Aguiar Soares**

*Universidade Federal do Piauí*

**Prof.ª Dr.ª Silvia Aparecida Medeiros  
Rodrigues**

*Faculdade Sagrada Família*

**Prof.ª Dr.ª Silvia Gaia**

*Universidade Tecnológica Federal do Paraná*

**Prof.ª Dr.ª Sueli de Fátima de Oliveira  
Miranda Santos**

*Universidade Tecnológica Federal do Paraná*

**Prof.ª Dr.ª Thaisa Rodrigues**

*Instituto Federal de Santa Catarina*

---

© 2023 - **AYA Editora** - O conteúdo deste Livro foi enviado pelos autores para publicação de acesso aberto, sob os termos e condições da Licença de Atribuição *Creative Commons* 4.0 Internacional (**CC BY 4.0**). As ilustrações e demais informações contidas nos capítulos deste Livro, bem como as opiniões nele emitidas são de inteira responsabilidade de seus autores e não representam necessariamente a opinião desta editora.

---

B6168 Biotecnologia: pesquisa e inovação [recurso eletrônico]. / Larisse Raquel Carvalho Dias (organizadora) -- Ponta Grossa: Aya, 2023. 83 p.

Inclui biografia  
Inclui índice  
Formato: PDF  
Requisitos de sistema: Adobe Acrobat Reader  
Modo de acesso: World Wide Web  
ISBN: 978-65-5379-304-0  
DOI: 10.47573/aya.5379.2.217

1. Biotecnologia. 2. Bioengenharia. I. Dias, Larisse Raquel Carvalho. II. Título

CDD: 660.6

---

Ficha catalográfica elaborada pela bibliotecária Bruna Cristina Bonini - CRB 9/1347

---

**International Scientific Journals Publicações de  
Periódicos e Editora LTDA**

**AYA Editora©**

CNPJ: 36.140.631/0001-53  
Fone: +55 42 3086-3131  
WhatsApp: +55 42 99906-0630  
E-mail: contato@ayaeditora.com.br  
Site: <https://ayaeditora.com.br>  
Endereço: Rua João Rabello Coutinho, 557  
Ponta Grossa - Paraná - Brasil  
84.071-150

# SUMÁRIO

**Apresentação..... 8**

## 01

**Vitanólico com ação anticâncer: Vitaferina A..... 9**

Altevir Rossato Viana  
Nickolas Pippi  
Luciana Maria Fontanari Krause  
André Passaglia Schuch  
Cristiano Rodrigo Bohn Rhoden

DOI: 10.47573/aya.5379.2.217.1

## 02

**Maior incidência de carcinomas pulmonares em Ratas Wistar induzidos por DMBA..... 24**

Grazziele Matte Dossena  
Thais Andrade Costa Casagrande

DOI: 10.47573/aya.5379.2.217.2

## 03

**Papel dos neutrófilos na tuberculose..... 36**

Luiz Henrique Agra Cavalcante-Silva  
Arthur Gomes de Andrade  
Fernando César Comberlang  
Fernanda Silva Almeida  
Tatjana Souza Lima Keesen

DOI: 10.47573/aya.5379.2.217.3

# 04

## COVID-19: papel de células T na doença e na proteção ..... 44

Arthur Gomes de Andrade  
Luiz Henrique Agra Cavalcante-Silva  
Fernando César Comberlang  
Tatjana Souza Lima Keesen

DOI: 10.47573/aya.5379.2.217.4

# 05

## Vacinação em pessoas vivendo com HIV/AIDS: uma revisão integrativa ..... 58

Vitória Carneiro Dutra  
Deysianne Oliveira Brandão  
Arthur Gomes de Andrade  
Fernando César Comberlang  
Luiz Henrique Agra Cavalcante-Silva

DOI: 10.47573/aya.5379.2.217.5

## Organizadora ..... 78

## Índice Remissivo..... 79

---

# Apresentação

---

É com muita alegria que apresento o livro “***Biotecnologia: pesquisa e inovação***”. Este livro é um mergulho nas últimas descobertas e avanços na área da biotecnologia, abordando diferentes temas que estão transformando nossa maneira de cuidar da saúde.

Os capítulos do livro cobrem assuntos diversos. No começo, você vai aprender sobre uma substância chamada Vitaferina A, que tem potencial para combater o câncer. Depois, vai conhecer pesquisas que mostram como certos produtos químicos podem causar câncer de pulmão em ratos, nos ajudando a entender melhor esses riscos.

Um capítulo interessante fala sobre como nossas células de defesa, os neutrófilos, combatem a tuberculose. Isso ajuda a desenvolver tratamentos mais eficazes contra essa doença.

Não podemos deixar de falar sobre a COVID-19. Um capítulo se aprofunda no papel das células T no combate ao vírus e na proteção que elas oferecem. Essa informação é fundamental para entendermos como funcionam as vacinas e os tratamentos.

Por último, o livro discute a vacinação em pessoas que vivem com HIV/AIDS. É um tema importante para garantir a saúde dessas pessoas de maneira segura.

Espero que este livro inspire estudantes, pesquisadores e todos interessados em entender como a biotecnologia está transformando a medicina e a saúde. A biotecnologia tem o poder de resolver muitos problemas, mas também nos faz pensar sobre as questões éticas envolvidas. Que esta leitura seja enriquecedora e estimulante.

Boa leitura!

***Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Larisse Raquel Carvalho Dias***

*Organizadora*



## Vitanolídeo com ação anticâncer: Vitaferina A

### *Vitanolide with anticancer action: Vitaferin A*

**Altevir Rossato Viana**

*Bioquímica Toxicológica, Universidade Federal de Santa Maria, Brasil.*

**Nickolas Pippi**

*Bioquímica Toxicológica, Universidade Federal de Santa Maria, Brasil.*

**Luciana Maria Fontanari Krause**

*Morfologia, Universidade Federal de Santa Maria, Brasil.*

**André Passaglia Schuch**

*Bioquímica Toxicológica, Universidade Federal de Santa Maria, Brasil.*

**Cristiano Rodrigo Bohn Rhoden**

*Laboratório de Materiais Magnéticos Nanoestruturados, LaMMaN, Programa de Pós-Graduação em Nanociências, Universidade Franciscana – UFN, Santa Maria, 97010-032, RS, Brazil*

### RESUMO

O Brasil é um país privilegiado em riquezas naturais, sendo que a sua grande maioria ainda não foi explorada. Cada vez mais produtos de origem vegetal estão sendo descobertos com um amplo espectro de atuação em benefício da medicina. O presente capítulo propôs uma atenção maior na classe dos vitanolídeos, em especial a Vitaferina A que vem sendo amplamente investigada nos últimos anos. A pesquisa foi realizada atendendo o princípio de mostrar através de experimentos robustos, a atividade antitumoral dos ativos derivados de plantas. Os resultados foram apresentados na forma de tabelas e subtítulos autoexplicativos, além de uma discussão mostrando os mecanismos de ação da Vitaferina A.

**Palavras-chave:** bioativo. câncer. vitaesteróides. produtos naturais.

### INTRODUÇÃO

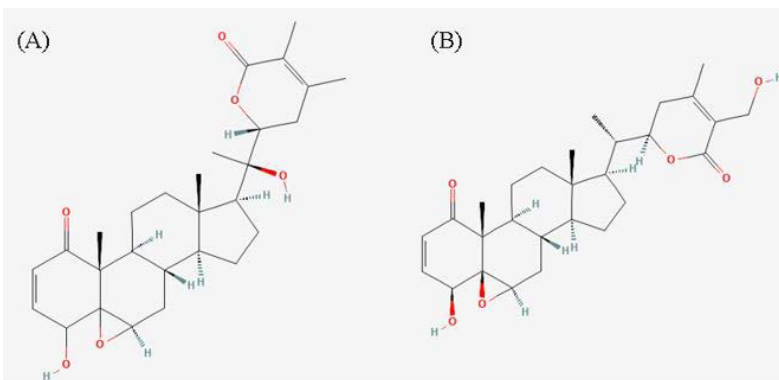
O câncer é uma das principais causas de óbitos no mundo, representando cerca de 10 milhões de mortes em 2020 possuindo mais de 100 diferentes tipos (WHO, 2022). Plantas, organismos marinhos, animais e microrganismos, têm sido alguns dos principais candidatos a novos compostos terapêuticos para essa doença, por apresentarem uma grande diversidade química (CRAGG; GROTHAUS; NEWMAN, 2009). Desde os tempos imemoriais, os produtos naturais são utilizados pela humanidade. A busca pela cura e/ou alívio de doenças pela ingestão de folhas ou sua aplicação local, talvez tenha sido uma das primeiras formas de utilização dos produtos naturais (VIEGAS JÚNIOR *et al.*, 2006). Uma dessas classes



são os vitaesteroides que possuem várias formas em sua estrutura, classificando-se em 8 grupos: vitanolídeos, vitanolídeos modificados, vitafisalinas, acnistinas, ixocarpalactonas, perulactonas e fisalinas. A classe dos vitanolídeos são produzidos principalmente pela família Solanaceae, em particular pelos gêneros *Withania*, *Physalis*, *Datura*, *Nicandra*, *Dunalia*, *Lycium*, *Tubocapsicum* e *Jaborosa*. Essa classe de compostos exibe atividades farmacológicas significativas, incluindo atividades antimicrobianas, antitumorais, anti-inflamatórias, hepatoprotetoras, imunomoduladoras, antibacterianas, repelentes de insetos, antiestresse e imunossupressoras (FANG; LIU; LI, 2012; LAN *et al.*, 2009). Dentre os vitaesteóides representados por seus esqueletos estruturais básicos, os vitanolídeos são os mais abundantes (TOMASSINI *et al.*, 2000). Singh e colaboradores (2011) e Tiwari e colaboradores (2014) citam a Vitaferina A (VA) como mais importante vitanolídeo. Jayaprakasan (2003) descobriu que, entre todos os tipos existentes de vitanolídeos, o que possuía maior atividade antiproliferativa em células tumorais era a VA (ALAM *et al.*, 2011).

Samadi e colaboradores (2010) isolaram e purificaram a VA na espécie vegetal *Vassobia breviflora*, porém foi o único estudo que identificou o composto na planta, muito provavelmente pela polaridade do solvente utilizado (VIANA *et al.*, 2022a; VIANA *et al.*, 2023b). Um vegetal com características semelhantes da citada anteriormente e que contém o ativo como majoritário é a *Withania somnifera* (PATEL; SINGH; PATEL, 2013); esse espécime vegetal muito estudado e conhecido como “Ashwagandha”, “Perfume de Cavalo”, “Ginseng Indiana” ou “Cereja de Inverno Indiana”. É uma erva do dois-pés da família Solanaceae, encontrada na África e leste da Índia (SINGH *et al.*, 2011; ALAM *et al.*, 2011). De acordo com Ayurvedic lore médico, o Rishi (sábio) Punarvasu Atriya foi a primeira pessoa, há 3000 anos, que explorou o valor medicinal da *Withania somnifera* (TIWARI *et al.*, 2014). Os constituintes ativos desses exemplares, com efeitos biológicos, são os alcaloides, esteroides lactonas e saponinas (SINGH *et al.*, 2011), porém a maioria das atividades farmacológicas de Ashwagandha têm sido atribuídos aos chamados vitanolídeos (TIWARI *et al.*, 2014). A quantidade desse ativo geralmente varia de 0,001 a 0,5% do peso seco das raízes e folhas (ALAM *et al.*, 2011).

Foi verificado, também, que nas folhas da *Withania somnifera* era encontrada maior quantidade de VA do que nas suas raízes (KURUP, 1956). E, mais tarde, a VA foi isolada de uma variedade israelita da planta e identificada sua estrutura química (C<sub>28</sub>H<sub>36</sub>O<sub>6</sub>), tendo como característica ser um composto branco cristalino, altamente oxigenado (SHOHBAT *et al.*, 1967) com um ponto de fusão de 241-245°C e peso molecular de 470,6 g·mol<sup>-1</sup>. Ela pode ser purificada a 97% por cromatografia de camada delgada e 98% por cromatografia líquida de alta eficiência, e seu armazenamento pode ser estável até 3 meses a -20°C. A sua atividade frente a células cancerígenas está relacionada com a sua estrutura, a presença de uma lactona insaturada na cadeia lateral, ao qual está ligado um álcool alélico na posição 25, bem como anéis altamente oxigenados na outra extremidade da molécula (SHOHBAT *et al.*, 1967; FUSKA *et al.*, 1985; FUSKA *et al.*, 1987), como pode ser visto na Figura 1.

**Figura 1 - Estrutura química básica dos vitanolídeos e da VA.****Figura: Estrutura química básica dos vitanolídeos (A) e Vitaferina A (B) by PubChem.**

Vários estudos demonstram que VA tem grande potencial terapêutico no tratamento de inúmeros tipos de câncer. Os trabalhos também observaram aumento da sensibilidade de células tumorais cultivadas em contato com o bioativo e trataram sinergicamente com radioterapia e quimioterapia (VYAS; SINGH, 2014). O tratamento de células de câncer de tireoide anaplásicas e papilares humanos com VA em combinação com Sorafenib resultou em efeitos importantes *in vitro* e apoptose significativamente induzida (COHEN *et al.*, 2012). Outro estudo em câncer de ovário combinou VA com cisplatina, acarretando assim a morte celular em baixa dose e geração de espécies reativas do oxigênio (EROs), sugerindo a possibilidade de terapia combinada (KAKAR *et al.*, 2012). Os efeitos sinérgicos da VA e 5-fluorouracil foram observados em um estudo com células de câncer colorretal (CRC) quando o tratamento combinado das duas substâncias levou a atividade antiproliferativa e induziu a formação de retículos endoplasmáticos, resultando assim em apoptose e autofagia (ALNUQAYDAN *et al.*, 2020).

Sudeep, Gouthamchandra e Shyamprasad (2020) demonstram através de *docking molecular*, uma forte ligação entre a molécula de VA derivada de *Withania somnifera* e o domínio de ligação de um dos receptores celulares reconhecidos por se ligarem à proteína spike (S) de MERS-CoV. Esta mesma ligação foi prevista para proteína S de SARS-CoV2, o agente viral responsável pela pandemia que se iniciou no ano de 2019 (IBRAHIM *et al.*, 2020). O vínculo entre VA e o domínio de ligação ao substrato desses receptores, demonstra uma possível ação desta molécula como inibidora da recepção celular, logo, bloqueando a entrada viral na célula. Ademais, os autores testaram a ação da VA como inibidora da protease principal de SARS-CoV2 (Mpro), molécula chave para o desenvolvimento da infecção viral, esta, que é a responsável pela replicação na célula hospedeira (LA MONICA *et al.*, 2022). A análise via *docking molecular* demonstrou um ótimo potencial de VA como inibidora da Mpro, sugerindo um segundo mecanismo de ação da molécula contra a infecção por SARS-CoV2.

## METODOLOGIA

Este capítulo trata-se de uma revisão da literatura sobre a atividade antitumoral e citotóxica de uma subclasse dos vitaesteróides. As buscas pelos artigos científicos foram realizadas em periódicos indexados nas seguintes bases de dados: *Web of Science, Pubmed/*

*Medline, Lilacs/Birem, Periódicos da CAPES.* A seleção foi feita conforme os descritores a seguir: “*withaferin A*”, “*cell culture*”, “*withaferin A*” and “*cytotoxicity*” e “*Withaferin A*” and “*antineoplastic*”, no intuito de destacar a relação entre as palavras.

Os artigos encontrados possuíam as mais diferentes datas, tendo como prioridade de seleção aqueles que eram mais recentes e escritos na língua inglesa. A verificação prosseguiu por meio de leitura e análise dos títulos e resumos em um primeiro momento. Posterior a primeira filtragem, metodologias empregadas, bem como resultados, discussões e conclusões apresentadas foram lidas aos pares pelos autores desse artigo. Em relação a critérios de exclusão destaca-se que foram suprimidos artigos por repetição e outros por não atenderem ao propósito deste trabalho mesmo após leitura do título e do resumo; portanto, o total de artigos selecionados foi de 56(...).

Os trabalhos escolhidos visavam descrever o potencial antitumoral da VA, além dos principais mecanismos de ação. Por fim, destaca-se que a busca dos artigos foi feita com todo o cuidado pelos autores do trabalho para que fossem minimizados os vieses de seleção.

## RESULTADOS E DISCUSSÕES

Diferentes vias enzimáticas produzem metabólitos secundários que são alterados por condições de crescimento, como clima, microambiente, local de crescimento, entre outros. Os diferentes estímulos físicos e químicos causam mudanças na variação dos fitoquímicos ativos presentes nas plantas (XU *et al.*, 2011). O uso medicinal de plantas mostra-se tradicional em diversas culturas sendo, em cerca de 65 a 80% da população, o principal meio de saúde até os anos 90, conforme a Organização mundial da saúde (OMS). VA é o composto mais conhecido da classe dos vitanolídeos, e seus efeitos anticancerígenos e múltiplas interações que contribuem para suas atividades anticancerígenas estão sendo investigadas. Numerosos estudos *in vivo* conectando o ativo com a inibição do crescimento de células cancerígenas derivadas de tumores humanos e modelos de câncer de camundongos induzidos experimentalmente (LEE; CHOI, 2016).

Este composto tem a capacidade de inibir proliferação de várias células cancerígenas, indiferentemente da origem do tumor (STAN *et al.*, 2008).

A capacidade de anular o crescimento de tumores *in vivo*, carcinogênese induzida experimentalmente em modelos de roedores e xenoenxerto de células cancerosas, é atribuída a VA (VYAS; SINGH, 2014). As formas de ação da VA estão sobre constante investigação, e pode agir de diferentes formas, tais como:

### Apoptose

Levando em consideração a importância da regulação do número de células, é essencial a presença de mecanismos responsáveis por se desfazer daquelas com alterações em seu ciclo ou infectadas por microrganismos. Um dos mecanismos existentes para essa função é a apoptose, também denominada de “morte celular programada”. Alterações na maquinaria deste fenômeno pode resultar na geração de tecidos com células

danificadas, podendo desenvolver tumores e posteriormente o câncer (KIRAZ *et al.*, 2016). Portanto, substâncias que induzem a apoptose, ou conseguem restaurar essa via em células danificadas, são potenciais medicamentos anticâncer, de modo que, levando as células cancerígenas à morte celular programada, não haverá maior dispersão das mesmas (NGUYEN; WELLS, 2003).

Oh e colaboradores (2008) demonstraram que concentrações entre 0,5 e 2  $\mu\text{M}$  de VA induzem a ação de enzimas caspase, principais executoras de apoptose, em células de leucemia humana (U937), além de provocar a acumulação progressiva de DNA apoptótico nessas células. Demonstrando um ótimo potencial indutor de apoptose, os autores esclareceram que a indução dessa rota pelo vitanolídeo está associada à ativação de caspase-3 e translocação de citocromo c da mitocôndria para o citosol. Também foram testadas células de carcinoma renal (Caki), câncer de cabeça e pescoço (AMC-HN-4) e câncer de cólon (HT29), onde em todas foi obtido o mesmo resultado de indução de apoptose pela VA.

Stan e colaboradores (2008) testaram a ação da VA como indutora de apoptose nas linhagens de células de câncer de mama MCF-7 e MDA-MB-231, sendo essas reativas e não reativas com estrogênio e expressando p53, um gene supressor tumoral, mutante e normal, respectivamente. Os autores verificaram uma diminuição na sobrevivência em ambas as células após 24h de incubação com concentrações entre 0,5 e 3  $\mu\text{M}$  de VA, mostrando que essa resposta é independente da reatividade com estrogênio ou da funcionalidade de p53. Posteriormente os autores determinaram que a perda de viabilidade das referidas células se deu pela indução à apoptose de VA, visto que o tratamento com o composto aumentou a fragmentação de DNA associada às histonas no citoplasma, um importante indicador do processo apoptótico que posteriormente foi corroborado pelo ensaio DAPI, que indica a abundância de células com DNA condensado ou fragmentado. Não obstante, os mesmos testes foram realizados com uma linhagem de células não-cancerígenas de epitélio da região mamária (MCF-10A), tendo como resultado uma maior resistência à indução de apoptose pela VA. Com isso, demonstra-se que células cancerígenas possuem maior sensibilidade à indução de apoptose pela VA.

Outro estudo, realizado por Zhang e colaboradores (2013), determinou que a VA também diminui a viabilidade de células de câncer de ovário (CaOV3 e SKOV3, ambas de adenocarcinoma do órgão). Utilizando cisplatina, um potente quimioterápico, como controle, os autores descobriram que as células de adenocarcinoma de ovário são sensíveis a concentrações entre 0,2 e 1,5  $\mu\text{M}$  de VA. Além disso, o tratamento com VA mostrou uma IC50 (concentração do composto que mata ou inviabiliza metade das células) em média de 465 nM, enquanto a cisplatina mostrou uma IC50 em média de 6  $\mu\text{M}$ , cerca de 12 vezes a concentração utilizada de VA, resultado que corrobora com a hipótese de utilização da VA como potencial medicamento anticâncer. Foi constatado que o tratamento com VA induziu a apoptose nas células CaOV3 e SKOV3 em uma taxa dependente de concentração. Também foi determinado que a VA aumenta a taxa de clivagem de PARP e diminui a da procaspase-3, sendo a primeira importante para o reparo do DNA e a segunda um precursor da caspase-3, corroborando com o potencial de indução à apoptose da molécula de VA.

Choi e colaboradores (2011) utilizaram células de carcinoma hepatocelular (SK-Hep-1), câncer de cólon (HT29) e carcinoma renal (Caki) como modelos para verificar a ação da VA na perda de viabilidade e morte celular. Os autores descobriram que, nesses modelos, o tratamento com as concentrações de 2, 4 e 6  $\mu\text{M}$  de VA induziram a clivagem de PARP, o que demonstra uma ação pró-apoptótica da molécula, resultado reforçado pela análise por citometria de fluxo, que mostrou um acúmulo de células na fase G1 do ciclo celular, mais um indicador de apoptose nos modelos tratados. Além disso, o grupo também concluiu que o tratamento dessas células com VA ativou mecanismos de estresse do retículo endoplasmático, como a indução do fator de transcrição pró apoptótico CHOP (proteína homóloga ao C/EBP), especulando sobre a habilidade de VA de provocar apoptose poder estar ligada em parte com a indução de estresse ao retículo endoplasmático.

Outro estudo demonstrou o potencial da VA como medicamento terapêutico contra o câncer de pulmão. O trabalho de Cai e colaboradores (2014) utiliza como modelo células A549 (câncer de pulmão de células não pequenas) sob as quais o vitanólídeo exerceu efeito citotóxico, levando as células a perderem sua viabilidade. Esse resultado foi dependente do tempo e da concentração de tratamento, ao passo que as células perderam cada vez mais viabilidade com mais tempo de exposição à VA e em uma maior concentração da molécula, sendo as concentrações utilizadas e efetivas 2,5, 5, 10 e 20 $\mu\text{M}$ . Posteriormente os autores verificaram a taxa de células que sofreram apoptose após o tratamento com VA, obtendo resultados positivos e também dependentes da concentração e tempo de exposição com o composto, demonstrando o potencial de terapêutico da VA para câncer de pulmão de células não pequenas, o mais comum dentre os cânceres desse órgão. Os estudos estão resumidos e exemplificados no quadro 1.

**Quadro 1 - Atividade pró-apoptótica do vitanólídeo (VA) frente à diversas linhagens tumorais *in vitro*.**

Autores	Linhagem celular	Tratamentos	Mecanismo de ação	Concentrações efetivas
(OH <i>et al.</i> , 2008)	U937; Caki: AMC-HN-4; HT29.	Vitaferina A	Indução de apoptose	0,25/0,5/1,5 e 2 $\mu\text{M}$
(STAN <i>et al.</i> , 2008)	MCF-7; MDA-MB-231.	Vitaferina A	Indução de apoptose	0,5/1/1,5/2 e 3 $\mu\text{M}$
(ZHANG <i>et al.</i> , 2013)	CaOV3; SKOV3.	Vitaferina A	Indução de apoptose	0,2 -1,5 $\mu\text{M}$
(CHOI <i>et al.</i> , 2011)	SK-Hep-1; HT29, Caki.	Vitaferina A	Indução de apoptose	2/4 e 6 $\mu\text{M}$
(CAI <i>et al.</i> , 2014)	A549	Vitaferina A	Indução de apoptose	2,5/5/10 e 20 $\mu\text{M}$

## Aumento da p53 e proteínas sinalizadoras

O gene e as proteínas p53 são parte do mecanismo contra estresse da célula, onde as proteínas ficam em baixas concentrações quando em situações comuns e aumentam quando as células sofrem alguma alteração que desloque as vias do ciclo celular normal. Em alguns casos a ativação de p53 irá iniciar a morte celular programada (apoptose), enquanto em outros casos irá parar o ciclo celular para iniciar o reparo de lesões causadas pelo estresse, em ambos os casos, impedindo a proliferação de células danificadas e com potencial carcinogênico. Outro importante mecanismo de supressão de tumores relacionados a p53, é sua capacidade de modular a expressão gênica (BOURDON, 2007). Levando em conta a importância de p53 no combate contra células cancerígenas, terapias

que envolvam a regulação positiva dessas proteínas possuem um grande potencial de supressão tumoral.

Panjamurthy e colaboradores (2008) demonstraram a ação da VA na regulação de p53 em tumores orais induzidos pelo agente DMBA em hamsters. Os resultados apresentados relatam 100% de supressão tumoral para os hamsters tratados com 20 mg/kg de VA via oral após a exposição à DMBA, enquanto aqueles que foram expostos à apenas ao agente carcinogênico, houve 100% de desenvolvimento tumoral. Além disso, os autores testaram a presença de p53 em ambos os grupos, descobrindo que o tratamento com VA resultou em uma regulação da expressão de p53, mantendo seus níveis normais, diferente do grupo que não recebeu o tratamento, onde a expressão dessa proteína se mostrou muito acima do normal, indicando o acúmulo de moléculas mutantes, evasão de apoptose e proliferação de células danificadas. A regulação negativa da expressão da proteína p53 nesse caso demonstra a capacidade da VA de controlar supressores tumorais tais como o gene p53.

Um estudo interessante trouxe à tona a habilidade da VA de aumentar os níveis de p53 nas células de câncer cervical CaSki, HeLa e SiHa, positivas para o vírus HPV e C33a, negativa para o vírus. No trabalho realizado por Munagala e colaboradores (2011), o tratamento com VA em concentrações entre 0,5 e 4  $\mu\text{M}$  inibiu o crescimento das quatro linhagens celulares e regulou negativamente a proteína E6 do HPV, a principal proteína oncogênica do vírus, nas três linhagens celulares positivas. Além disso, o tratamento das células CaSki com o vitanolídeo induziu o aumento da transcrição do gene p53 nas células positivas para o HPV, ao passo que diminuiu ambas transcrição e tradução das proteínas oncogênicas do vírus, restaurando as vias de supressão tumoral nessas células. Zhang e colaboradores (2011) também demonstraram a ação da VA como regulador positivo de p53 em células de câncer de mama (MCF-7). Além de diminuir a viabilidade celular, o tratamento com concentrações de VA entre 0,5 e 2,5  $\mu\text{M}$  também induziu um aumento na expressão da proteína p53, atingindo aumento máximo entre 6 e 12 horas após exposição. Também foi relatado um aumento na expressão de p21, importante regulador do ciclo celular em MCF-7 que é estimulado pela p53.

O trabalho publicado por Shi e colaboradores (2015) exhibe a função da VA na concentração de 25  $\mu\text{M}$  como molécula ativadora de sinais de estresse das células de leucemia linfoblástica de alto risco. Os autores detectaram fosforilação em diversas proteínas envolvidas na resposta ao estresse das células (como a p38, MAPK, JNK e c-Jun), o que consequentemente levou à apoptose de algumas células. Nas células sobreviventes, o estresse induzido pelo tratamento com VA demonstrou perdurar por 16 horas.

Yu e colaboradores (2010) utilizaram as linhagens celulares Panc-1, BxPc3 e MiaPaCa2 de câncer pancreático como modelo para testar a ação da VA como inibidora da proteína Hsp90, uma importante chaperona estabilizadora de proteínas importantes para o crescimento tumoral. Além de demonstrar propriedades antiproliferativas contra as três linhagens celulares utilizadas no estudo, o tratamento com 10  $\mu\text{M}$  de VA também demonstrou induzir a diminuição da concentração destas proteínas. A fim de corroborar com esse resultado, os autores também examinaram os níveis de expressão das proteínas Hsp70, visto que os níveis de Hsp70 aumentam como resposta à inibição de Hsp90. Os

resultados confirmaram as hipóteses, onde a expressão de Hsp70 subiu ao passo que as proteínas Hsp90 diminuíram, indicando a capacidade da VA de inibir a ação da chaperona Hsp90, desestabilizando proteínas importantes para o crescimento tumoral.

Ainda, a VA consegue reverter um evento chave na patogênese de muitos tipos de câncer, que é a supressão da proteína supressora de tumor p53. Os resultados de vários estudos in vivo e in vitro mostraram que a VA não só aumenta a expressão da proteína p53, mas também induz a fosforilação de p53 no resíduo de serina 315, aumentando, assim, a transcrição mediada por p53 da proteína p21 do inibidor do ciclo celular (HAHM *et al.*, 2011; ZHANG *et al.*, 2011). E, por fim, o bioativo estimula a ativação do Par-4, uma proteína supressora de tumor, que induz apoptose seletivamente em células cancerosas de uma maneira independente de p53 ou PTEN (CHAKRABORTY *et al.*, 2001; SELLS *et al.*, 1997). Estes dados estão representados simplificadaamente no quadro 2.

Quadro 2 - Efeito de regulação positiva de p53 e proteínas sinalizadoras pelo vitanolídeo frente à diversas linhagens tumorais in vitro.

Autores	Linhagem celular	Tratamentos	Mecanismo de ação	Concentrações efetivas
(PANJAMURTHY <i>et al.</i> , 2008)	Hamster-Sírio	Vitaferina A	Regulação da expressão de p53	20mg/Kg
(MUNAGALA <i>et al.</i> , 2011)	CaSki; HeLa; SiHa.	Vitaferina A	Aumento da expressão de p53	0,5-4µM
(ZHANG <i>et al.</i> , 2011)	MCF-7.	Vitaferina A	Aumento da expressão de p53	0,5 -2,5µM
(SHI <i>et al.</i> , 2015)	SEM; RS4;11; REH	Vitaferina A	Aumento na fosforilação de p38 MAPK, JNK e c-Jun	25µM
(YU <i>et al.</i> , 2010)	Panc-1; BxPc3; Mia-PaCa2	Vitaferina A	Inibição da proteína Hsp90	10µM

## Produção de EROs

Espécies reativas de oxigênio (EROs) são formas reduzidas ou excitadas de oxigênio molecular e que possui a função de estimular sinalizadores moleculares. Porém, essas moléculas também podem ser tóxicas ao organismo, causando danos oxidativos ao DNA e podendo levar a célula à morte (BAYR, 2005). Considerando-se a extensão de efeitos deletérios causados por EROs nas células, esses também podem funcionar como método terapêutico, desencadeando mecanismos de regulação, causando danos à estrutura de células tumorais, principalmente ao DNA (LIOU; STORZ, 2010). Devido ao grande potencial terapêutico de substâncias que induzem a produção de espécies reativas de oxigênio em células cancerígenas, cada vez mais estudos vêm sendo realizados na área.

Fong e colaboradores (2012) relataram a produção de EROs pela VA durante o tratamento de células tumorais de epitélio de ovário humano (A2780), sendo a quantidade de EROs produzida similar à da doxorubicina, um potente quimioterápico utilizado para tratar esse tipo de câncer. Os radicais livres produzidos pelo tratamento com concentrações entre 1 e 5 µM de VA foram responsáveis pelos danos oxidativos ao DNA dessa linhagem celular, demonstrando seu potencial como anticancerígeno também via produção de EROs.

Outro estudo, realizado por Hahm e colaboradores (2011) demonstrou que o tratamento de células de câncer de mama (MDA-MB-231 e MCF-7) com concentrações



entre 1 e 4  $\mu\text{M}$  de VA induziu o aumento da produção de EROs, principalmente superóxido nas mitocôndrias celulares, o que não aconteceu quando o modelo utilizado foi em células saudáveis do epitélio mamário (HMEC). Os autores também descobriram que concentrações entre 2,5 e 5  $\mu\text{M}$  do vitanolídeo causam inibição da fosforilação oxidativa nas células cancerígenas, podendo levar ao mau funcionamento da cadeia respiratória, resultando na apoptose celular.

Yang e colaboradores (2011) mencionaram que a concentração de 4  $\mu\text{M}$  da VA aumenta a quantidade de EROs produzidas pelas células de carcinoma renal (Caki), câncer de fígado (SK-Hep-1), câncer de mama (MDA-231) e câncer cervical (HeLa).

O trabalho de Mayola e colaboradores (2011) relata a capacidade da molécula de VA de induzir apoptose em células de melanoma humano (M14, Mel501, SK28 e Lu1205), através da produção de EROs nas células. Quando tratadas com 3  $\mu\text{M}$  de VA, as células exibiram uma alta concentração de EROs, mais especificamente do ânion superóxido na mitocôndria e peróxido de hidrogênio no citoplasma, indicando a eficácia do tratamento como indutor de danos oxidativos à célula.

Xia e colaboradores (2018) também demonstraram a ação da VA como estimulante da produção de EROs nas células de câncer de cólon (HCT-116 e RKO). As linhagens celulares, quando tratadas com concentrações entre 0,125 e 10  $\mu\text{M}$ , exibiram uma diminuição significativa de sua viabilidade dependente da concentração. Esse resultado provou ser efeito de um aumento de sinais pró-apoptóticos consequentes do acúmulo de EROs nas células. Dados que estão exemplificados no quadro 3.

**Quadro 3 - Atividade de indução à produção de espécies reativas de oxigênio (EROs) pelo vitanolídeo frente à diversas linhagens tumorais *in vitro*.**

Autores	Linhagem celular	Tratamentos	Mecanismo de ação	Concentrações efetivas
(FONG et al., 2012)	A2780.	Vitaferina A	Aumento da produção de EROs	1-5 $\mu\text{M}$
(HAHM et al., 2011)	MDA-MB-231; MCF-7.	Vitaferina A	Aumento da produção de EROs e inibição da fosforilação oxidativa	1-5 $\mu\text{M}$
(YANG et al., 2011)	Caki; SK-Hep-1; MDA-231; HeLa.	Vitaferina A	Aumento da produção de EROs pelo contato com radiação ionizante	0,5 e 1 $\mu\text{M}$
(MAYOLA et al., 2011)	M14; Mel501; SK28; Lu1205.	Vitaferina A	Aumento da produção de EROs	3 $\mu\text{M}$
(XIA et al., 2019)	U87; U251	Vitaferina A	Aumento da produção de EROs	0,125-10 $\mu\text{M}$

## Ciclo celular

O ciclo celular refere-se ao processo de duplicação e crescimento celular, transmitindo informação genética de uma célula para outra e renovando as células do organismo. Esse processo pode ser dividido em etapas ou fases, denominadas fase G1 ou “gap 1”, momento no qual a célula é estimulada por diversos fatores extracelulares como proteínas do ciclo celular para passar para a próxima fase denominada de S (síntese), onde o DNA celular é duplicado para que, na divisão celular, a célula filha tenha o mesmo DNA que a original. A próxima etapa, G2 ou “gap 2” é o intervalo entre o final da fase S e o início da próxima fase, denominada de M (mitose), onde ocorre de fato a duplicação celular. Quando a célula

está quiescente, isto é, fora do ciclo celular, estagnada, ela está na fase G0. Como cada etapa deve ser completa antes da próxima começar, ao fim da fase G1 e entre a fase G2 e M estão localizados pontos de checagem, necessários para que não haja propagação e de células mutantes ou danificadas. Caso esses pontos de checagem sejam danificados, a duplicação de células danificadas ou mutantes irá ocorrer, gerando tumores (ISRAELS; ISRAELS, 2000). Portanto, substâncias que consigam impedir a duplicação de células cancerígenas, isto é, impossibilitar a conclusão da fase M, possuem efeito terapêutico para o tratamento de câncer.

Kim e colaboradores (2017) utilizaram células de adenocarcinoma gástrico humano (AGS) como modelo para estudar os efeitos de VA sobre o ciclo celular. O tratamento das células de AGS com 1, 2,5 e 5  $\mu\text{M}$  do biativo teve como efeito uma diminuição significativa na viabilidade celular e inibição do crescimento das mesmas, indicando que o vitanolídeo tem ação contra a proliferação celular desse modelo. Os autores descobriram que parte da diminuição na proliferação dessas células pelo tratamento por VA se deve ao fato que o composto induz uma parada no ciclo celular em G2/M, o ponto de checagem anterior à mitose, fazendo com que as células não se multipliquem, o que foi corroborado com um resultado que indicou uma diminuição da ciclina B1, importante proteína regulatória da mitose, sugerindo o motivo da interrupção do ciclo celular.

Outro estudo realizado por Roy e colaboradores (2013) mostrou a eficácia da VA como indutora da parada do ciclo celular em células de câncer de próstata (PC-3 e DU-145). Os autores apontaram que o tratamento com 1  $\mu\text{M}$  de VA leva as linhagens celulares a pararem o desenvolvimento em G2/M, impedindo seu crescimento e proliferação. Por fim, os autores demonstraram que esse resultado é consequência da diminuição dos níveis das ciclinas A2, E2 e B1, assim como um aumento na ativação de p21, moléculas importantes para a progressão no ciclo celular.

Okamoto e colaboradores (2016) descobriram que a VA também causa bloqueio no crescimento de células mielóides e linfóides displásicas. Utilizando as linhagens celulares MDS-L (células blásticas de mielodisplasia), HL-60 e THP-1 (células de leucemia mielóide), Jurkat (células de leucemia linfóide T-aguda) e Ramos (células de linfoma de Burkitt). Os autores determinaram que o tratamento com as concentrações de 0,5 e 1  $\mu\text{M}$  de VA suprimiu a proliferação celular, diminuindo a viabilidade das células tratadas. Posteriormente, concluíram que o vitanolídeo influenciou a parada do ciclo celular em G2/M, impedindo a divisão das cinco linhagens celulares. Finalmente, os autores testaram os efeitos da VA em células saudáveis da medula óssea, chegando a conclusão de que essas são menos suscetíveis ao tratamento do que células de mielodisplasia, ou seja, um tratamento desse tipo de displasia com VA seria eficaz para as células danificadas sem que houvesse demais danos à células saudáveis.

McKenna e colaboradores (2015) demonstraram que as linhagens celulares LY-3, LY-10 e SudHL-6 (todas de linfoma difuso de grandes células B), Raji (de linfoma de Burkitt), MINO (de linfoma de células do manto), BKS-2 (de linfoma murino de células B imaturas) e A20-luc/YFP (de linfoma do centro germinativo) tiveram sua viabilidade diminuída após o tratamento com concentrações entre 0,5 e 5  $\mu\text{M}$  de VA, corroborando com os resultados previamente descritos neste capítulo. Os autores também verificaram um aumento na

quantidade de células no ponto de checagem G2/M do ciclo celular, elucidando a influência que o tratamento com VA tem sobre a parada do desenvolvimento celular nesse ponto, impedindo a proliferação de células danificadas.

A eficácia do tratamento com concentrações de 1, 3 e 10  $\mu\text{M}$  VA também foi testada utilizando como modelo células de glioblastoma multiforme. Tang e colaboradores (2019) relataram um efeito negativo das concentrações VA sobre o ciclo celular das linhagens celulares U87 e U251, ambas de glioblastoma humano, resultante da regulação positiva de p21 e outras substâncias, como a ciclina B, que auxiliaram na parada do ciclo celular em G2/M. O aumento das concentrações de p21 também induziram mecanismos apoptóticos nos modelos celulares.

**Quadro 4 - Atividade de indução à parada do ciclo celular pela VA frente à diversas linhagens tumorais *in vitro*.**

<b>Autores</b>	<b>Linhagem celular</b>	<b>Tratamentos</b>	<b>Mecanismo de ação</b>	<b>Concentrações efetivas</b>
(KIM et al., 2017)	AGS.	Vitaferina A	Parada do ciclo celular em G2/M	1/2,5 e 5 $\mu\text{M}$
(ROY et al., 2013)	PC-3; DU-145.	Vitaferina A	Parada do ciclo celular em G2/M	1 $\mu\text{M}$
(OKAMOTO et al., 2016)	MDS-L; HL-60; THP-1; Jurkat; Ramos.	Vitaferina A	Parada do ciclo celular em G2/M	0,5 e 1 $\mu\text{M}$
(MCKENNA et al., 2015)	LY-3; LY-10; SudHL-6; Raji; MINO; BK-2; A20-luc/YFP..	Vitaferina A	Parada do ciclo celular em G2/M	0,5/1/2/4 e 5 $\mu\text{M}$
(TANG et al., 2019)	U87; U251	Vitaferina A	Parada do ciclo celular em G2/M	1/3 e 10 $\mu\text{M}$

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

Neste trabalho robustos estudos na área do câncer foram descritos, correlacionando o efeito antitumoral da classe dos vitanolídeos, em especial a Valfarina A. Curiosamente, somente nos últimos anos começaram a dar uma maior atenção as moléculas dessa classe. Trouxemos estudos *in vitro* e *in vivo* descrevendo resultados promissores para os efeitos anticancerígenos do composto quando usado sozinho ou em combinação com outras terapias disponíveis. Trabalhos demonstraram inúmeros fenômenos anticancerígenos, como apoptose, formação de ROS, parada do ciclo celular em cânceres de várias origens. Apesar desses resultados, métodos eficazes para dosagem mínima, toxicidade e biodisponibilidade do composto ainda precisam ser totalmente avaliados. Estudos recentes descrevem a baixa biodisponibilidade da VA, o que representa uma barreira na determinação da dose mínima para um efeito terapêutico nas células tumorais. Por fim, o presente capítulo pode trazer interesse de mais grupos de pesquisa para elucidar lacunas que tangem a utilização dos vitanolídeos em ensaios clínicos.

## REFERÊNCIAS

ALAM, N, et al. Recent advances in elucidating the biological properties of *Withania somnifera* and its potential role in health benefits. *Phytochemistry Reviews*, v.11, p.97–112, 2011.

ALNUQAYDAN, A. M., RAH, B., ALMUTARY, A. G., AND CHAUHAN, S. S. (2020). Synergistic antitumor effect of 5-fluorouracil and Withaferin-A induces endoplasmic reticulum stress-mediated autophagy and apoptosis in colorectal cancer cells. *Am. J. Cancer Res.* 10, 799–815.

- BAYR, H. Reactive oxygen species. *Critical Care Medicine*, v. 33, n. Suppl, p. S498–S501, dez. 2005.
- BOURDON, J-C. p53 and its isoforms in cancer. *British Journal of Cancer*, v. 97, n. 3, p. 277–282, 17 jul. 2007.
- CAI, Y. *et al.* Effect of Withaferin A on A549 Cellular Proliferation and Apoptosis in Non-small Cell Lung Cancer. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, v. 15, n. 4, p. 1711–1714, 28 fev. 2014.
- CHAKRABORTY, M. *et al.* Par-4 drives trafficking and activation of Fas and FasL to induce prostate cancer cell apoptosis and tumor regression. *Cancer Research*, v.61, p.7255–7263, 2001.
- COHEN, S. M., Mukerji, R., Timmermann, B. N., Samadi, A. K., and Cohen, M. S. (2012). A novel combination of withaferin A and sorafenib shows synergistic efficacy against both papillary and anaplastic thyroid cancers. *Am. J. Surg.* 204, 895–900. doi:10.1016/j.amjsurg.2012.07.027
- CRAGG, G.M., Grothaus, P.G., Newman, D.J. Impact of natural products on developing new anti-cancer agents. *Chem Rev.* 2009, 109:3012-3043. doi: 10.1021/cr900019j.
- FANG, S.T.; LIU, J.K.; LI, B. Ten new withanolides from *Physalis peruviana*. *Steroids*, v.77, p.36-44, 2012.
- FONG, M. Y. *et al.* Withaferin A Synergizes the Therapeutic Effect of Doxorubicin through ROS-Mediated Autophagy in Ovarian Cancer. *PLoS ONE*, v. 7, n. 7, p. e42265, 30 jul. 2012.
- FUSKA J. *et al.* Biotransformation of Withaferin-A by a culture of arthrobacter simplex. *Folia Microbiologica*, v.30, p.427–432, 1985.
- FUSKA, J.; PROKSKA, B.; WILLIAMSON, J. Microbiological and chemical dehydrogenation of Withaferin A. *Folia Microbiologica*, v.32, p.112–115, 1987.
- LA MONICA *et al.* Targeting SARS-CoV-2 Main Protease for Treatment of COVID-19: Covalent Inhibitors Structure–Activity Relationship Insights and Evolution Perspectives. *Journal of Medicinal Chemistry*, v. 65, n. 19, p. 12500–12534, 28 set. 2022.
- HAHM, E.-R. *et al.* Withaferin A-Induced Apoptosis in Human Breast Cancer Cells Is Mediated by Reactive Oxygen Species. *PLoS ONE*, v. 6, n. 8, p. e23354, 10 ago. 2011.
- HAHM, E.R. *et al.* Withaferin-A suppresses estrogen receptor- $\alpha$  expression in human breast cancer cells. *Molecular Carcinogenesis*, v.50, p.614–624, 2011.
- IBRAHIM, I. *et al.* COVID-19 spike-host cell receptor GRP78 binding site prediction. *Journal of Infection*, v. 80, n. 5, p. 554–562, 10 mar. 2020.
- ISRAELS, E. D.; ISRAELS, L. G. The Cell Cycle. *The Oncologist*, v. 5, n. 6, p. 510–513, 1 dez. 2000.
- JAYAPRAKASAM B, ZHANG Y. SEERAM N.P.AND NAIR M.G. Growth inhibition of human tumor cell lines by withanolides from *Withania somnifera* leaves. *Life Sci.* (2003) 74, 125-132.
- KAKAR, S. S., JALA, V. R.,AND FONG, M. Y. (2012). Synergistic cytotoxic action of cisplatin and Withaferin A on ovarian cancer cell lines. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 423, 819–825. doi:10.1016/j.bbrcdoi: 10.1016/j.bbrc.2012.06.047

- KIM, G. *et al.* Withaferin A inhibits the proliferation of gastric cancer cells by inducing G2/M cell cycle arrest and apoptosis. *Oncology Letters*, v. 14, n. 1, p. 416–422, 12 maio 2017.
- KIRAZ, Y., ADAN, A., YANDIM, M.K., BARAN, Y. Major apoptotic mechanisms and genes involved in apoptosis. *Tumor Biol.* 37, 8471-8486, 2016.
- KURUP, P.A. Antibiotic principle of the leaves of *Withania somnifera*. *Current Science*, v. 25, p.57-58, 1956.
- LAN, Y.H. *et al.* New cytotoxic withanolides from *Physalis peruviana*. *Food Chemistry*, v.116, p.462-469, 2009.
- LEE, I.-C., AND CHOI, B. Y. (2016). Withaferin-A—a natural anticancer agent with pleiotropic mechanisms of action. *Int. J. Mol. Sci.* 17, 290. doi:10.3390/
- LIOU, G.-Y.; STORZ, P. Reactive oxygen species in cancer. *Free Radical Research*, v. 44, n. 5, p. 479–496, jan. 2010.
- MAYOLA, E. *et al.* Withaferin A induces apoptosis in human melanoma cells through generation of reactive oxygen species and down-regulation of Bcl-2. *Apoptosis*, v.16, p.1014-1027, 2011.
- MCKENNA, M. *et al.* Anti-cancer activity of withaferin A in B-cell lymphoma. *Cancer Biology & Therapy*, v. 16, n. 7, p. 1088–1098, 28 maio 2015.
- CHOI *et al.* Endoplasmic reticulum stress mediates withaferin A-induced apoptosis in human renal carcinoma cells. *Toxicology in Vitro*, v. 25, n. 3, p. 692–698, 1 abr. 2011.
- MUNAGALA, R. *et al.* Withaferin A induces p53-dependent apoptosis by repression of HPV oncogenes and upregulation of tumor suppressor proteins in human cervical cancer cells. *Carcinogenesis*, v.32, p.1697-1705, 2011.
- NGUYEN, J.; WELLS, J. A. Direct activation of the apoptosis machinery as a mechanism to target cancer cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, v. 100, n. 13, p. 7533–7538, 24 jun. 2003.
- OH, J.-H. *et al.* Induction of apoptosis by withaferin A in human leukemia U937 cells through down-regulation of Akt phosphorylation. *Apoptosis*, v. 13, n. 12, p. 1494–1504, 11 nov. 2008.
- OKAMOTO, S. *et al.* Withaferin A suppresses the growth of myelodysplasia and leukemia cell lines by inhibiting cell cycle progression. *Cancer Science*, v. 107, n. 9, p. 1302–1314, 28 jul. 2016.
- PANJAMURTHY, K. *et al.* Protective role of Withaferin-A on immunoexpression of p53 and bcl-2 in 7,12-dimethylbenz(a)anthracene-induced experimental oral carcinogenesis. *Investigational New Drugs*, v. 27, n. 5, p. 447–452, 14 nov. 2008.
- PATEL, K.; SINGH, R.B.; PATEL, D.K. Pharmacological and analytical aspects of Withaferin A: a concise report of current scientific literature. *Asian Pacific Journal of Reproduction*, v.2, p.238–243, 2013.
- ROY, R. V. *et al.* Withaferin A, a Steroidal Lactone from *Withania somnifera*, Induces Mitotic Catastrophe and Growth Arrest in Prostate Cancer Cells. *Journal of Natural Products*, v. 76, n. 10, p. 1909–1915, 30 set. 2013.

SAMADI, A.K. *et al.* Withaferin A, a cytotoxic steroid from *Vassobia breviflora*, induces apoptosis in human head and neck squamous cell carcinoma. *Journal Natural Products*, v.9, p.1476–1481, 2010.

SELLS, S.F.*et al.* Expression and function of the leucine zipper protein Par-4 in apoptosis. *Molecular and Cellular Biology*, v.17, p.3823–3832, 1997.

SHI, L.-H. *et al.* Withaferin A activates stress signalling proteins in high risk acute lymphoblastic leukemia. *International journal of clinical and experimental pathology*, v. 8, n. 12, p. 15652–60, 2015.

SHOHAT, B. *et al.* Antitumor activity of Withaferin A (NSC-101088). *Cancer Chemotherapy Reports*, v.51, p.1–6, 1967.

SINGH, N. *et al.* An overview on ashwagandha: a rasayana (rejuvenator) of ayurveda. *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines*, v.8, n.5, p.208-213, 2011.

STAN, S. D. *et al.* Withaferin A Causes FOXO3a- and Bim-Dependent Apoptosis and Inhibits Growth of Human Breast Cancer Cells In vivo. *Cancer Research*, v. 68, n. 18, p. 7661–7669, 15 set. 2008.

STAN, S. *et al.* Withaferin A Causes FOXO3a- and Bim-Dependent Apoptosis and Inhibits Growth of Human Breast Cancer Cells In Vivo. *Cancer Research*, v.18, p.7661-7669, 2008

SUDEEP, H. V.; K GOUTHAMCHANDRA; K SHYAMPRASAD. Molecular docking analysis of Withaferin A from *Withania somnifera* with the Glucose regulated protein 78 (GRP78) in comparison with the COVID-19 main protease. *Bioinformation*, v. 16, n. 5, p. 411–417, 30 abr. 2020.

TANG, Q. *et al.* Withaferin A triggers G2/M arrest and intrinsic apoptosis in glioblastoma cells via ATF4-ATF3-CHOP axis. *Cell Proliferation*, v. 53, n. 1, 23 out. 2019.

TIWARI, R. *et al.* Ashwagandha (*Withania somnifera*): role in safeguarding health, immunomodulatory effects, combating infections and therapeutic application: a review. *The Journal of Biological Sciences*, v.2, p.77–94, 2014.

TOMASSINI TCB, BARBI NS, RIBEIRO IM, XAVIER DCD (2000) Genero *Physalis* - Uma Revisao Sobre Vitaesteroides. *Quim Nova* 23: 47

VIANA, AR., BOTTARI, NB., SANTOS, D., SERAFIN, MB., ROSSATO, BG., MORESCO, RN., WOLF, K., OURIQUE, A., HORNER, R., FLORES, EMM., SCHETINGER, MRC., VIZZOTTO, BS., KRAUSE, LMF. (2022). Insights of ethyl acetate fraction from *Vassobia breviflora* in multidrug-resistant bacteria and cancer cells: from biological to therapeutic, *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A*, 85:23, 972-987, DOI: 10.1080/15287394.2022.2130844

VIANA, AR., NORO, BG., SANTOS, D., WOLF, K., NEVES, YS., MORESCO, RN., OURIQUE, AF., FLORES, EMM., RHODEN, CRB., KRAUSE, LMF., VIZZOTTO, BS. (2023) Detection of new phytochemical compounds from *Vassobia breviflora* (Sendtn.) Hunz: antioxidant, cytotoxic antioxidant, cytotoxic, and antibacterial activity of the hexane extract. *ournal of Toxicology and Environmental Health, Part A*, 86:2-3, 51-68, DOI: 10.1080/15287394.2022.2156956

VIEGAS JÚNIOR, C. *et al.* Os Produtos Naturais e a Química Medicinal Moderna. Química Nova, v. 29, n. 2, p. 326-37, 2006.

VYAS, A. R., AND SINGH, S. V. (2014). Molecular targets and mechanisms of cancer prevention and treatment by Withaferin A, a naturally occurring steroidal lactone. The AAPS Journal, v.16, p. 50-60,

XIA, S.; MIAO, Y.; LIU, S. Withaferin A induces apoptosis by ROS-dependent mitochondrial dysfunction in human colorectal cancer cells. Biochemical and Biophysical Research Communications, v. 503, n. 4, p. 2363–2369, set. 2018.

XU, Y.M. *et al.* Unusual withanolides from aeroponically grown *Withania somnifera*. Phytochemistry, v.72, p.518-522, 2011.

YANG, E. S. *et al.* Withaferin A enhances radiation-induced apoptosis in Caki cells through induction of reactive oxygen species, Bcl-2 downregulation and Akt inhibition. Chemico-Biological Interactions, v. 190, n. 1, p. 9–15, mar. 2011.

YU, Y. *et al.* Withaferin A targets heat shock protein 90 in pancreatic cancer cells. Biochemical Pharmacology, v. 79, n. 4, p. 542–551, fev. 2010.

ZHANG, X. *et al.* Down-regulation of estrogen receptor- $\alpha$  and rearranged During transfection tyrosine kinase is associated with withaferina-induced apoptosis in MCF-7 breast cancer cells. BMC Complement. BMC Complementary Alternative Medicine, v.11, p.1-10, 2011.

ZHANG, X. Y. *et al.* Inhibition of cell growth and induction of apoptosis in ovarian carcinoma cell lines CaOV3 and SKOV3 by natural withanolide Withaferin A. Gynecologic Oncology, v. 124, n. 3, p. 606–612, 1 mar. 2013.

# Maior incidência de carcinomas pulmonares em Ratas Wistar induzidos por DMBA

## *Higher incidence of lung carcinomas in DMBA-Induced Wistar Rats*

Graziele Matte Dossena

Thais Andrade Costa Casagrande

### RESUMO

**Objetivo:** Elaborar modelos padronizados de carcinogênese em ratas da linhagem Wistar, induzidos pelo agente químico carcinogênico DMBA, classificando e quantificando as lesões. Além disso, avaliar em que dosagem o DMBA pode ser utilizados para que o modelo seja criado, e avaliar a proliferação e apoptose celular e marcações hormonais por imunohistoquímica. **Método:** Para isso foram utilizados 55 ratos, divididos em grupos de acordo com a dose do agente indutor aplicado. Para indução tumoral foi aplicado DMBA em 45 ratas, sendo divididos em três grupos com diferentes dosagens 3; 6 e 9 mg/kg e para o grupo controle foram utilizados dez animais. **Resultados:** Os tumores coletados foram avaliados histopatologicamente e através de imunohistoquímica com Ki-67, p53, C-erb-B2, receptor de estrógeno e progesterona. Dos grupos em análise apenas os de 6 e 9 mg/kg foram observados desenvolvimento tumoral em mamas, pulmões e traqueia e o segundo grupo ficaram mais evidentes as lesões por toxicidade em fígado e rins. Nas maioria dos animais apresentaram marcações consideradas negativas sendo imunomarcção positiva para C-erb-B2, p53 e Receptor de estrógeno. **Conclusão:** Pode-se concluir que a dosagem de 6m mg/kg de DMBA demonstrou uma incidência inovadora quanto ao surgimento de tumores pulmonares em ratas wistar.

**Palavras-chave:** tumor de mama. tumor pulmonar. receptor de estrógeno. de progesterona e Ki-67.

### INTRODUÇÃO

O câncer é a segunda maior causa de mortalidade no mundo, responsável por 12% de todas as mortes ocorridas. Perde somente para as doenças cardiovasculares. Ele é um conjunto de síndromes de caráter crônico-degenerativo (Guerra *et al.*, 2005; Jemal *et al.*, 2010). Devido ao





crescimento exponencial observado nos últimos anos, há previsão para que em poucos anos o número de mortes por câncer seja mais elevado que o das doenças cardiovasculares (Mathers *et al.*, 2005; INCA, 2012).

Os dados epidemiológicos preocupantes e o melhor entendimento da biologia dos tumores impulsionam os pesquisadores a tentarem entender melhor a evolução dessa doença. Assim, os estudos podem ser direcionados para a descoberta de suas causas e/ou relacioná-la com fatores de risco, com o intuito de desenvolver novos métodos de prevenção e tratamento. Nas fases iniciais destes estudos são utilizados modelos pré-clínicos em roedores elaborados através da inoculação de células tumorais ou da administração de agentes químicos carcinogênicos para indução de tumores (Namasivayam, 2011).

A grande maioria dos estudos utilizam como modelos experimentais os roedores para o trabalho de carcinogênese mamária *in vivo*, pois estes demonstram rapidez e facilidade para desenvolverem esses tumores. (Weinberg e Gould, 1995; Cheng *et al.*, 2003; Hakkak *et al.*, 2005; 2007). Além disso, são utilizados em vários modelos de carcinogênese de órgão-alvo definidos como para mama, pulmão, fígado, cólon, bexiga, rim, próstata, ovário, entre outros, todos com potencial para investigar a etiologia e progressão do câncer e de fatores de risco e proteção (Avanzo, 2008). O composto utilizado para a indução tumoral é o 7,12-dimetilbenzetraceno, que é um carcinógeno amplamente utilizado, pertencente à família dos hidrocarbonetos aromáticos policíclicos (Currier *et al.*, 2005). Esses hidrocarbonetos são considerados altamente poluentes orgânicos exercendo um efeito pré-cancerígenos e mutagênico. Estão presentes na fumaça do cigarro sendo também poluentes ambientais. O DMBA necessita ser metabolizado pelo citocromo P450 para exercer sua ação carcinogênica (Gao *et al.*, 2005; Camargo e Toledo, 2002; Lin *et al.*, 2005; Irigaray; Belpomme, 2010).

Este estudo possui como objetivo estabelecer um modelo de carcinogênese em órgãos alvos, como na mama e nos pulmões, em ratas da linhagem Wistar, induzidos quimicamente pelo composto 7,12-dimetilbenzetraceno, o DMBA. A importância da criação de modelo animal para câncer de mama e pulmão provém da necessidade de estudos de etiologia, prevenção e tratamento para essas doenças crônico-degenerativas, para o benefício de mulheres e outros animais. Desta forma este trabalho procura analisar a capacidade de indução de tumoral pelo DMBA; determinar a concentração mínima de DMBA que é capaz de induzir estes tumores, analisar as alterações de peso durante o desenvolvimento da possível doença, analisar possíveis lesões ocasionadas ao longo do tempo em diversos órgãos, devido a indução dos tumores, realizar análise macroscópica e microscópica de tumores, avaliação de efeitos colaterais, e procura de focos de metástase.

Diversos autores utilizam o composto químico DMBA (7,12-dimetilbenzetraceno), como indutor tumoral em mama. É um carcinógeno pertencente à família dos hidrocarbonetos aromático policíclicos, onde são encontrados a maior parte dos carcinógenos químicos (Currier *et al.*, 2005).

Esses hidrocarbonetos estão presentes na fumaça do cigarro, sendo também poluentes ambientais provenientes da combustão incompleta de madeira, na refinação do petróleo, queima de resíduos domésticos e industriais, produção de energia através de queima de combustíveis fósseis, na formação de benzeno, tolueno e outros solventes

orgânicos, sendo também responsáveis por contaminação de água, solo, ar e alimentos (Gao *et al.*, 2005; Camargo e Toledo, 2002).

Os hidrocarbonetos aromáticos policíclicos são compostos altamente lipofílicos e essa característica lhes confere uma maior facilidade de absorção. Quando ingeridos são capturados por compostos lipofílicos com rápida absorção podendo ser aumentada pela presença de óleos no trato gastrointestinal. Os hidrocarbonetos aromáticos policíclicos se espalham em quase todos os tecidos, prevalecendo principalmente em glândula mamária e tecidos onde ocorra depósito de tecido adiposo (Linnet *al.*, 2005).

A sua característica lipofílica é uma das propriedades fundamentais para o desenvolvimento da carcinogênese possibilitando o acúmulo no tecido adiposo para posterior liberação na corrente sanguínea, alcançando os tecidos alvos. Os hidrocarbonetos aromáticos policíclicos são pró-carcinógenos necessitando ser metabolizados no citocromo P450 que produz metabólitos capazes de formar adutos com o DNA, que são extremamente estáveis e volumosos não podendo ser reparados pelo sistema de reparação das células (Irigaray e Belpomme, 2010).

O efeito tóxico dos hidrocarbonetos aromáticos policíclicos mais evidente é a carcinogênese. O citocromo P450 adiciona oxigênio ao anel o que o torna mais solúvel em água possibilitando a ligação de grupos volumosos. Esses compostos são transformados em óxidos e dihidrodíóis, os quais são oxidados a diolepóxidos que reagem com o DNA. Os óxidos podem formar adutos estáveis com o DNA enquanto os diolepóxidos formam adutos estáveis e depurinadores com o DNA, porém, ambos são formados primeiro com adeninas e guaninas induzindo mutações que estão fortemente agregadas (Irigaray e Belpomme, 2010; Shimada e Fuji-Kuriyama, 2004).

Uma das vias que explica o desenvolvimento do tumor mamário pelo DMBA é a ativação receptor/fator de transcrição AhR (arylhydrocarbon receptor/transcription fator) (Irigaray e Belpomme, 2010).

O AhR é um fator transcricional de genes que codificam enzimas que estão relacionadas com o metabolismo de xenobióticos e de genes envolvidos no crescimento e diferenciação celular, porém, é dependente de um ligante. Encontra-se em células e tecidos, no citoplasma e quando se liga ao ligante, por exemplo um hidrocarboneto aromático policíclico como o DMBA, penetra no núcleo ligando-se a sequências específicas do DNA, ladeando os genes regulados pelo AhR (Marlowe e Puga, 2005; Fuji-Kuriyama e Mimura, 2003).

Os ligantes que se combinam com o AhR desencadeiam a transcrição de genes-alvo que codificam para as três CYP1s ativando de forma independente genes responsáveis por controlar as respostas celulares, como proliferação celular, controle do ciclo celular e apoptose. A ativação do AhR gera amplos efeitos co-carcinogênicos e promotores tumorais. A ativação de gene CYP como CYP1A1 também pode originar radicais livres pela indução do estresse oxidativo (Irigaray e Belpomme, 2010).

O DMBA leva a um aumento da atividade de AhR com consequente expressão das enzimas CYP transformando o hidrocarboneto aromático policíclico em compostos intermediários do tipo mutagênicos que são responsáveis pela formação de adutos com o DNA (Hoffman e Gay, 1981).

As CYP1A1 e CYP1A2 são responsáveis por transformar o DMBA em três compostos epóxidos mutagênicos que são o 7-hidroximetil-12-metilbenzantraceno, 12-hidroximetil-7-benzantraceno e o 7,12-dimetilhidroxibenzantraceno (figura 3). Com o uso do DMBA ocorre a presença dos três metabólitos no fígado, sendo encontrado na mama apenas os monohidróxidos (Hoffman e Gay, 1981).

Segundo Girolamiet al. (2008) a maior parte dos metabólitos ativos do DMBA são formados nos hepatócitos, e, atingem a glândula mamária através da corrente sanguínea. Dessa maneira o fígado desempenha um importante papel na carcinogênese induzida pelo DMBA (Szaferet al., 2011).

## MÉTODO

Trata-se de um estudo experimental no qual foram utilizadas de 55 ratas da linhagem Wistar, divididas em quatro grupos de acordo com a quantidade de DMBA utilizada e o grupo controle. As ratas estavam com aproximadamente 8 semanas de vida. Durante o período experimental os animais ficaram acondicionados em caixas de polipropileno apropriadas recebendo água e ração Presence® (Purina) ad libitum. A sala climatizada foi regulada a uma temperatura de 21°C e expostas a luminosidade controlada com 12 horas de luz, no biotério da Universidade Positivo.

O procarcinógeno utilizado foi o 7,12-dimetilbenzetraceno (DMBA) para indução dos tumores. O carcinógeno foi previamente dissolvido em óleo de milho comercial, livre de aditivos, e posteriormente administrado via oro-gástrica.

O grupo controle recebeu apenas óleo de milho, livre de aditivos e de DMBA, na dosagem de 0,5 mL, por via oro-gástrica, por nove dias consecutivos.

No grupo 1 os animais receberam a dosagem de 1mg/kg de DMBA diluído em óleo de milho por 3 dias consecutivos, totalizando a dosagem de 3mg/kg, por via oro-gástrica.

No grupo 2 os animais, receberam via oro-gástrica, a dosagem de 1mg/kg de DMBA diluído em óleo de milho durante 6 dias consecutivos, totalizando 6mg/kg.

No grupo 3 os animais receberam 1mg/kg de DMBA diluído em óleo de milho durante 9 dias consecutivos, totalizando a dosagem de 9mg/kg por via oro-gástrica.

Os animais foram acompanhados e examinados duas vezes por semana para avaliação das mamas, do sistema respiratório, observação das fezes e do peso dos animais e consumo de ração. Aguardou-se o período de 120 dias após o início da indução para realização da eutanásia nos animais, que foi realizada, após anestesia com isoflurano em câmpnula de vidro, em câmara de CO<sub>2</sub>, para coleta de material para as análises de histopatologia.

Após a eutanásia todos os tumores foram excisados e contados. Os animais foram dissecados, com abertura das cavidades abdominal e torácica para excisão de órgãos como traqueia, esôfago, pulmões, fígado, baço, rins, após abertura da cavidade oral para remoção da língua e craniotomia para remoção do encéfalo. As mamas foram removidas na íntegra, bilateralmente. Os órgãos coletados foram avaliados macroscopicamente e as

lesões contadas em cada um dos grupos. Em seguida o material foi imerso em solução de formaldeído a 10% para fixação, por 24 horas no mínimo e passadas para solução alcóolica a 70% e mantidos em geladeira.

Os exames histopatológicos foram realizados na Universidade Positivo, no laboratório de histologia. O método histológico ocorreu com tecidos processados inseridos em parafina e seccionados em 3 µm de espessura. As lâminas com os tecidos foram coradas com hematoxilina& eosina, utilizando os procedimentos rotineiros de laboratório.

Na análise histológica as possíveis lesões encontradas foram comparadas com imagens demonstradas em publicações e classificadas (Hakkak *et al.*, 2005). Também foi procedida a contagem microscópica do número de tumores desenvolvidos.

Na histologia os tumores foram diferenciados e classificados de acordo com as características morfológicas. Podendo ser benigno ou maligno, proliferação intraductal, papilomas múltiplos ou hiperplasia ductal, carcinoma ductal in situ, carcinoma ductal invasivo ou lobular (Hakkak *et al.*, 2005).

A avaliação histopatológica dos tumores foi feita seguindo os critérios adotados pela International Agency for Research on Cancer (IARC), Organização Mundial de Saúde (WHO) (Turosov; Mohr, 1994).

## RESULTADOS

Nos exames macroscópicos e clínicos do grupo controle, nenhuma anormalidade foi observada. Ou seja, a frequência respiratória e o aspecto das fezes estavam dentro dos padrões de normalidade. Os animais mantiveram alimentação normal durante todo período e tiveram aumento de peso.

Nos resultados microscópicos do grupo controle, os tecidos das amostras de fígado, pulmões, encéfalo, rins, baço, esôfago, traqueia e glândulas mamárias, foram lidas e não foram identificadas nenhuma alteração morfológica ou estrutural dos tecidos analisados.

Em geral, nos exames macroscópicos dos grupos que receberam o agente indutor, os órgãos no qual foi possível observar nodulações foram nas glândulas mamárias e nos pulmões, sendo a observação de um número maior de tumores pulmonares visíveis a macroscopia nos animais do grupo que recebeu 6 mg/kg de DMBA.

Na realização do experimento um total de 22,66% dos animais desenvolveram algum tipo de tumor, dependendo da dosagem de DMBA empregada.

No grupo no qual a dose total foi igual a 3mg/Kg, apenas uma rata apresentou em torno de 10 pontos discretos, circulares, de tamanho pequeno, sem relevo, e de coloração esbranquiçada em um dos pulmões a visibilização macroscópica.

Nesses animais não foi possível observar alterações neoplásicas na maioria dos órgãos e tecidos analisados histopatologicamente, apenas em traqueia, que apresentou carcinoma in situ em um animal. Um animal apresentou inflamação em pulmão.

Na análise macroscópica o grupo com dose de 6 mg/Kg foram analisados os pulmão, nos quais encontrou-se: em quatro ratas aproximadamente 30-40 lesões bem pequenas, circulares com bordas definidas, planares, concentradas em uma ou mais regiões, e de coloração branca; em duas ratas, aproximadamente 20 lesões circulares esbranquiçadas de tamanho médio, umas próximas as outras, planares e de bordas bem definidas; e por fim, outras duas ratas apresentaram no pulmão lesões grandes, de coloração branca, espalhadas por todos os lóbulos, na forma circular com bordas bem definidas e entumecidas, em uma aparência que se assemelha a um cacho de uva.

Na análise histopatológica dos animais do grupo 2 (6 mg/kg de DMBA) quatro ratas apresentaram lesões compatíveis com carcinoma in situ em mamas, cinco com lesões de degeneração gordurosa no tecido adiposo ao redor das mamas, uma apresentou áreas císticas nas mamas e outra apresentou rearranjo de células, acantose, proliferação de células ductais, porém sem observação de transformação neoplásica. A maior quantidade de formações neoplásicas foi observada nos pulmões, de acordo com o observado na macroscopia. Sete animais apresentaram lesões inflamatórias e formação de carcinoma in situ pulmonar, sendo três destes carcinomas com presença de lesões polipoides junto. Um animal apresentou carcinoma epidermóide (ductal) pulmonar e outro apresentou adenocarcinoma. Um dos animais apresentou traqueíte com presença de ulceração e outro carcinoma in situ em células caliciformes de traqueia. No fígado houve presença de processo degenerativo, por provável má conservação de tecido em um animal e um processo de esteatose hepática. Nas mamas e nos rins pode-se diagnosticar um processo de degeneração gordurosa em cada um dos órgãos.

Na análise macroscópica das ratas submetidas a dose de 9mg/Kg foi identificado apenas um animal com uma lesão única no pulmão, de tamanho intermediário, de cor branca, planar, e com bordas definidas.

No grupo 3 (9 mg/kg de DMBA) apenas duas formações neoplásicas foram diagnosticadas na histopatologia e estas ocorreram em traqueia, com a formação de um carcinoma in situ e presença de ulceração em células caliciformes. As demais lesões encontradas foram principalmente de padrão degenerativo compatível com toxicidade de tecido. As lesões foram encontradas principalmente em fígado, em dez dos animais analisados, com padrão de lesão degenerativa e vacuolização dos hepatócitos, sendo três com padrão irreversível. Outro órgão alvo destas lesões foram os rins em seis dos animais, também apresentando células degeneradas e vacuolizadas. As demais lesões encontradas foram de degeneração hepática com padrão não vacuolizado dos hepatócitos em cinco animais. Uma das ratas apresentou mama com padrão degenerativo em tecido adiposo circunjacente às áreas ductais. Encontrou-se ainda processo inflamatório com áreas de edema e cistos em pulmão em dois animais. Um pulmão com padrão de infiltrado inflamatório, sendo suspeito de corpo estranho aspirado. E três pulmões com padrão degenerativo. Um rim foi possível observar padrão de inflamação crônica.

## DISCUSSÃO

O presente estudo teve como objetivo estabelecer um modelo de indução tumoral em ratas da linhagem Wistar, baseado em dados encontrados na literatura. O carcinógeno

escolhido foi o 7,12-dimetilbenzantraceno, DMBA, utilizado em muitos estudos (Medina, 1974; Haslan e Bern, 1977; Kritchevsky *et al.*, 1984; Lane *et al.*, 1985; Medina e Kittrell, 2004; Barros *et al.*, 2004; Currier *et al.*, 2005; Wijnhoven *et al.*, 2005; Lu *et al.*, 2006; Avanzo, 2008; Póvoa, 2008; Thakur *et al.*, 2010; Cavalcante *et al.*, 2011).

O grupo controle não apresentou alterações neoplásicas, o que comprova que o óleo de milho como meio de diluição é confiável e aparentemente não produz interferências para o estudo, como observado também por outros autores (Medina, 1974; Lane *et al.*, 1985; Avanzo, 2008).

A dosagem de 3mg/kg, se mostrou ineficiente, pois, desenvolveu tumor em apenas uma rata, sendo esse de traqueia, o que não condiz com os resultados encontrados em outros trabalhos científicos. Nesses trabalhos que utilizaram a dosagem de 3 mg/kg de DMBA observou-se uma variação também de acordo com a linhagem de ratas utilizadas. Medina (1974), Lane *et al.* (1985) e Avanzo (2008) utilizaram camundongo BALB/cCrgl. Medina (1974) detectou a presença de 18% de tumores de mama. Já Lane *et al.* (1985) teve uma incidência de 26% de tumores de mama e Avanzo relatou uma incidência de 20% de tumor de mama, 13,33% de tumor de pulmão, 6,66% linfoma e 6,66% de tumor em estômago.

O grupo dois (6mg/kg) foi aquele onde ocorreu maior número de tumores, sendo 73,4% dos animais apresentando tumores em mama e/ou pulmões ou traqueia, justificado pela dosagem maior, como relatado em outros estudos. Dos 11 animais que apresentaram tumores, oito foram em pulmão, um em traqueia e três em mamas, ou seja, a incidência de tumores de mama foi de apenas 20% dentre os 15 animais do grupo, sendo todos carcinomas *in situ*. Uma porcentagem semelhante de tumores de mama foi encontrada no trabalho de Póvoa (2008), que utilizaram dosagem de 0,5 mg/ml de DMBA em dose única, tendo o desenvolvimento de 20% de carcinoma ductal infiltrante em 20% das ratas Wistar. Nos trabalhos de Medina (1974) foi relatado 68% de tumores de mama em camundongo BALB/cCrgl, Lane *et al.* (1985), também utilizando a mesma linhagem de camundongos, tiveram uma incidência de 44% de tumores de mama, Currier *et al.* (2005), utilizando a linhagem FVB/N, obtiveram uma incidência de 100% de animais que desenvolveram tumores, dos quais 75% desenvolveram tumores de mama, 15% tumores em pulmão, 10% linfoma e 5% desenvolveram câncer de pele. Wijnhoven *et al.* (2005), utilizando camundongo p53R270H/+, obtiveram uma incidência de 40% de tumores de mama. Lu *et al.* (2006) também com camundongos da linhagem Wild Type detectaram uma incidência de 37,5% de tumores, e camundongos Atm a incidência foi de 64,7% de tumores, prevalecendo os tumores mamários, seguidos de tumor em pulmão, ovário, útero, adenocarcinoma gástrico e linfoma. Avanzo (2008) com a linhagem BALB/c obteve uma incidência de 27,77% de tumores de mama, 16,66% de linfoma e 5,55% de tumor de pele.

A incidência detectada no grupo 2 não está muito aquém da relatada em literatura, devendo também ser observada a via de administração que variou de maneira significativa, porém obteve-se uma maior prevalência de tumores pulmonares em relação aos de mama. Apesar dos outros autores terem relatado a ocorrência de tumores pulmonares, em nenhum dos trabalhos foi maior que a incidência de mama (Currier *et al.*, 2005, Lu *et al.*, 2006). Por ser um dos poluentes derivados da fumaça do cigarro, o DMBA pode ter contribuído para

a alta incidência de tumores pulmonares no presente grupo (Gao *et al.*, 2005; Camargo e Toledo, 2002).

O grupo três (9mg/kg) não desenvolveu tumores de maneira significativa o que pode ser justificado pela presença de toxicidade em órgãos importantes para a transformação do DMBA em metabólito capaz de induzir a carcinogênese. Essa transformação ocorre no fígado, o qual, na maioria das ratas apresentou-se degenerado, o que de maneira geral pode ter contribuído para o não desenvolvimento tumoral. Porém Avanzo (2008) empregando a dosagem de 9 mg/kg de DMBA em camundongo BALB/c relatou uma incidência de 42,10% de tumor de mama, 10,52% de tumor em pele 5,26% de tumor de pulmão e 5,26% de fibrossarcoma. Oliveira (2010) utilizou também a dosagem de 9 mg em camundongos da linhagem BALB/c, e a incidência tumoral foi de 100% de animais que desenvolveram tumores, dentre eles observou-se um número maior de tumor de mama, seguido por linfoma, neoplasias gástricas, pulmonares, de pele e ovário.

Em trabalho realizado por Barros *et al.* (2004) conseguiu uma incidência de 100% de tumores de mama, 13 semanas após a administração do DMBA na dosagem de 20mg em dose única, em ratas da linhagem Sprague Dawley. Avanzo (2008) ressaltou em seu trabalho que o DMBA depende também da espécie de ratas utilizadas para a especificidade de desenvolvimento tumoral. Isso pode ter sido uma das causas do baixo desenvolvimento tumoral.

Medina e Kitrell (2004) e Avanzo (2008) associaram o surgimento de tumores localizados em outros órgãos que não em mama, na fase final do experimento quando o indutor utilizado foi o DMBA, e os principais órgãos acometidos por esses tumores foram pulmão, pele, estômago, linfoma e fibrossarcoma. Esses dados corroboram com os dados obtidos no presente trabalho, tendo sido encontrado tumores em traqueia e pulmões. Não avaliou-se a ocorrência de linfomas.

Destacam-se ainda os trabalhos de Póvoa (2008), Thakur *et al.* (2010) e Cavalcante (2011), por utilizarem a mesma linhagem de ratas utilizadas no presente trabalho, porém com vias de administração e dosagens do DMBA diferentes. Póvoa (2008) utilizou dose única do indutor na dosagem de 1 mg de solução a 5%, obtendo uma incidência de 20% de tumor mamário. Thakur *et al.* (2010) utilizando a dosagem de 20 mg/kg via traqueal constatou a ocorrência de 100% de tumor pulmonar. E Cavalcante *et al.* (2011) utilizando uma solução de 0,5% de DMBA duas vezes por semana durante um período de 20 semanas constatou a presença de alterações morfológicas e citológicas na boca, com presença de displasia moderada.

Quanto ao baixo número de tumores encontrados podem-se seguir três linhas diferentes de justificativas, que são, a linhagem de animal escolhida, a ausência da transformação do pré-carcinógeno em carcinógeno e o tempo de observação para o desenvolvimento dos tumores.

Dias *et al.* (2000) e Guillino *et al.* (1975) destacam o fato de ratas fêmeas da linhagem Sprague-Dawley são os animais que apresentam maior suscetibilidade a desenvolver tumores através da utilização de agentes cancerígenos. As ratas da linhagem Wistar são mais resistentes que as ratas da linhagem Sprague-Dawley para desenvolvimento tumoral

(Barros *et al.*, 2004). O motivo da escolha da linhagem no presente estudo foi a disponibilidade para o desenvolvimento do modelo que seja capaz de atender as solicitações econômicas e também por ser um animal mais resistente a outras enfermidades. Quando comparado com os achados de literatura para a mesma linhagem de animais, os resultados apresentados são semelhantes quanto ao desenvolvimento de tumores de mama e pulmão (Thakur *et al.*, 2010; Cavalcante *et al.*, 2011).

Outra justificativa para a baixa incidência de tumores, relacionada ao grupo 3 que recebeu a dosagem de 9 mg/kg, está relacionada à ausência de transformação do pré-cancerígeno em cancerígeno, que ocorre no citocromo P450, e como o fígado dos animais em estudo apresentaram toxicidade esse órgão não foi capaz de transformar o DMBA em metabólitos ativos para a indução tumoral. Os citocromos P450 são enzimas localizadas nos hepatócitos, sendo responsáveis pela metabolização de drogas, esteroides e carcinógenos. Em consequência disso o fígado é o principal local de biotransformação. Sua função biológica é a de promover a monoxigenação de diversos compostos químicos, dentre eles, o DMBA (Bibi, 2008; Galli e Feijoo, 2002; Nuñez, 1999; Santiago, 2003). E como os animais desse grupo apresentaram toxicidade no fígado, que poderia justificar o não desenvolvimento tumoral.

Outra justificativa para o baixo índice de desenvolvimento tumoral foi o tempo da indução até a eutanásia, comparando com a literatura consultada obteve-se dados diversos, pois o processo pelo qual o câncer se desenvolve geralmente é longo envolvendo um acúmulo de alterações. Medina (1974), utilizando as mesmas doses de DMBA que o presente trabalho relatou necessário um período de aproximadamente 195 dias para o desenvolvimento tumoral, apontando um surgimento de até 68% de tumores. Haslam e Bern (1977) relatou uma incidência de 70% de tumores pulmonares após um período de 365 dias. Outro trabalho que merece atenção é Kritchevsky *et al* (1984) obtendo 95% de adenocarcinomas após um período de 200 dias. Nos trabalhos de Medina e Kittrell (2004), Lu *et al* (2006) e Avanzo (2008) o tempo de espera da indução até a eutanásia foi em média de 300 dias para um desenvolvimento tumoral significativo.

Dentre os grupos avaliados, apenas o grupo 2, que recebeu 6 mg/kg de DMBA demonstrou-se capaz de induzir câncer de mama nas ratas da linhagem Wistar, não se recomendando a utilização de doses de 3 e 9 mg/kg. Mesmo tendo ocorrido o desenvolvimento, não se considerou um indutor ideal neste trabalho para estabelecimento de modelo animal para esta linhagem de ratas, sem surgimento de tumores palpáveis em mamas e baixa incidência de neoplasias.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

A incidência dos tumores no presente estudo foi inovadora quando comparada a literatura consultada para a linhagem de ratas, na dosagem de 6 mg/kg do agente químico DMBA, pelo surgimento de tumores pulmonares. Porém não é um bom modelo para a indução de câncer de mama.



## REFERÊNCIAS

- Armitage P, Doll R. The age distribution of cancer and a multi-stage theory of carcinogenesis. *Breast Journal of Cancer* 1954, 8, 1: 1-12.
- Barros ACSD, *et al.* Induction of experimental mammary carcinogenesis in rats with 7,12-dimethylbenz[a]anthracene. *Revista Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de São Paulo* 2004; 59: 257-261.
- Bibi Z. Role of cytochrome P450 in drug interactions. *Nutrition & Metabolism* published 2008
- Camargo MCR, *et al.* Chá-mate e café como fontes de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAS) na dieta da população de Campinas. *Ciência e Tecnologia de Alimentos* 2002; 22(1): 49-53.
- Cavalcante DR, *et al.* Effect of green propolis on oral epithelial dysplasia in rats. *Brazilian journal of otorhinolaryngology* 2011; 77: 278-284.
- Currier N, Solomon S, Demicco EG, *et al.* Oncogenic signaling pathways activated in DMBA induced mouse mammary tumors. *Toxicology Pathology* 2005; 33: 726-737.
- Desta Z, Flockhart D. Germline Pharmacogenetics os Tamoxifen Response: Have We Learned Enough? *Journal of Clinical Oncology* 2007; 25: 5147-5149.
- Devita LT, Rosenberg S. *Cancer Principles E Practice of Oncology*. Lippincott Williams e Wilkins 2008; 8th.
- Dias MF, *et al.* Chemoprevention on DMBA-Induced Mammary Tumors in Rats by a Combined Regimen of Alpha-Tocopherol, Selenium and Ascorbic Acid. *Breast J.* 2000; 6(1): 14-19.
- Fuji-Kuriyama Y, Mimura J. Transcriptional roles of AhR in expression of biological effects induced by endocrine disruptors. *Pure Appl. Chem.* 2003; 75: 1819-1826.
- Galli E, Feijoo L. Citocromo p-450 y su importancia clínica revisión actualizada, *Revista de Neuro-Psiquiatria*, 2002.
- Gao J, Lauer FT, Dunaway S, Bruchiel SW. Cytochrome P450 1B1 is riquered for 7, 12 Dimethylbez(a)-anthracene (DMBA) Induced bSpleen Cell Imunotoxicity. *Toxicological Science* 2005; 86: 68-74.
- Girolami F, *et al.* Time-dependent acetylsalicylic acid effects on liver CYP1 and antioxidant enzymes in rat models of 7,12-dimethylbenzantracene (DMBA)-induced mammary carcinogenesis. *Toxicol. Lett.* 2008; 181: 87-92.
- Guillino PM, *et al.* N-nitrosomethylurea as mammary gland carcinogen in rats. *J Natl Cancer Inst* 1975; 54(2): 401-414.
- Hakkak R, Holley AW, Macleod SL, *et al.* Obesity promotes 7, 12- Dimethylbez(a)-anthracene-induced mammary tumor development in female Zucker rats. *Breast Cancer Research.*2005; 7: 627-633.
- Hanahan D, Weinberg RA. The hallmarks of cancer. *Cell* 2000; 100, 1: 57-70.

Haslam SZ, Bern HA. Histopathogenesis of 7,12-dimethylbenz[a]anthracene-induced rat mammary tumors. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 1977; 74: 9: 4020-4024.

Hoffman A, Gay ML. Embryotoxic effects of benzo[a]pyrene, chrysene and 7,12 dimethylbenz[a]-anthracene in petroleum hydrocarbon mixtures in mallard ducks. J Toxicol Environ Health A 1981; 7(5): 775-787.

INCA. Estimativa 2012: Incidência de Câncer no Brasil. Rio de Janeiro: Instituto Nacional do Câncer. Coordenação de Prevenção e Vigilância 2012.

Irigaray P, Belpomme D. Basic properties and molecular mechanisms of exogenous chemical carcinogens. Carcinogenesis 2010; 31(2): 135-148.

Kritchevsky D, Weber MM, Klurfeld DM. Dietary fat versus caloric content in initiation and promotion of 7, 12- Dimethylbenz(a)-anthracene induced mammary tumorigenesis in rats. Cancer Research 1984; 44: 3174-3177.

Lane HW, Medina D. Model of action of selenium inhibition of 7, 12- Dimethylbenz(a)-anthracene-induced mouse mammary tumorigenesis. Journal of National Cancer Institute 1985; 75: 675-679.

Lin D, *et al.* Concentration and health risk of polycyclic aromatic hydrocarbons. Food and Chemical Toxicology 2005; 43: 41-48.

Lu S, *et al.* Atm-haploinsufficiency enhances susceptibility to carcinogen-induced mammary tumors. Carcinogenesis 2006; 4: 848-855.

Marlowe JL, Puga A. Aryl hydrocarbon receptor, cell cycle regulation, toxicity and tumorigenesis. J Cell Biochem 2005;96: 1174-1184.

Medina D. Mammary tumorigenesis in chemical carcinogen-treated mice. Incidence in BALB/c and C57BL mice. Journal of the National Cancer Institute. 1974; 53: 213-221.

Medina D, Kittrell F. Stroma is not a major target in DMBA-mediated tumorigenesis of mouse mammary preneoplasia. Journal of Cell Sciences 2004; 118: 123-127.

Núñez HC. El citocromo p450 y su rol en la hepatotoxicidad inducida por las drogas. Clínica Vitarte 1999; 2.

Oliveira LR, *et al.* Stem cells in human breast cancer. Histology and histopathology 2010; 25: 371-385.

Póvoa HCC. Efeito da talidomida e da pentoxifilina na produção de fator de necrose tumoral (tnf- $\alpha$ ) e gama interferon (inf- $\gamma$ ) na carcinogênese mamária em ratas wistar. Tese de Doutorado (Patologia Investigativa – Programa de Pós-Graduação em Patologia) - Universidade Federal Fluminense 2008.

Robbins, Cotran. Robbins and Cotran Pathologic Basis of Disease. Saunders Elsevier 2009; 8th.

Santiago LM. A metabolização no sistema do citocromo P450 e a sua importância em clínica geral. Ver Port Clin Geral 2003.

Shimada T, Fuji-Kuriyama Y. Metabolic activation of polycyclic aromatic hydrocarbons to carcinogens by cytochromes P450 1A1 and 1B1. *Cancer Sci* 2004; 95(1).

Soares RMM. Análise Imuno-histológica de tumores de mama, induzidos quimicamente com N-metil-N-nitrosureia, em ratos Sprague-Dawley. Dissertação de Mestrado em Oncologia. Universidade do Porto 2012.

Szaferet H, *et al.* Chokeberry (*Aronia melanocarpa*) juice modulates 7,12-dimethylbenz[a]anthracene induced hepatic but not mammary gland phase I and II enzymes in female rats. *Environmental Toxicology and Pharmacology* 2011; 31: 339-346.

Thakur P, Sanyal SN. Induction of pulmonary carcinogenesis in Wistar rats by single dose of 9, 10 Dimethylbenz(a)anthracene (DMBA) and the chemopreventive role of Diclofenac. *Experimental and Molecular Pathology* 2010; 88: 394-400.

Turosov, V.S.; Mohr, U. Pathology of tumors in laboratory animals. Tumors of the mouse, 2 ed. Lyon France – IARC Scientific Publication, v. 2, n. 111 (WHO), 776p. 1994.

Vicelli JT, *et al.* Histologia mamária após uso de esteroides sexuais – estudo em ratas. *Rev Assoc Med Bras* 2006; 52(5): 369-374.

Wijnhoven SWP, *et al* Mice Expressing a mammary gland—specific R270H Mutations in p53 tumor suppressor gene mimic human breast cancer development. *Cancer Research* 2005; 65: 8166-8173.

Willis RA. *The Spread of Tumors in the Human Body*. ed.: London, Butterworth & Co, 1952.

Yager J, Davidson N. Estrogen Carcinogenesis in Breast Cancer. *New England Journal of Medicine* 2006; 354(3): 270-282.

Yamasaki H, Mironov N. Genomic instability in multistage carcinogenesis. *Toxicology Letters* 2000; 112-113: 251-256.

## Papel dos neutrófilos na tuberculose

### *Role of neutrophils in tuberculosis*

**Luiz Henrique Agra Cavalcante-Silva**

*Laboratório de Imunologia das Doenças Infecciosas, Departamento de Biologia Celular e Molecular, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, PB, Brasil*

**Arthur Gomes de Andrade**

*Laboratório de Imunologia das Doenças Infecciosas, Departamento de Biologia Celular e Molecular, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, PB, Brasil*

**Fernando César Comberlang**

*Laboratório de Imunologia das Doenças Infecciosas, Departamento de Biologia Celular e Molecular, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, PB, Brasil*

**Fernanda Silva Almeida**

*Laboratório de Imunologia das Doenças Infecciosas, Departamento de Biologia Celular e Molecular, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, PB, Brasil*

**Tatjana Souza Lima Keesen**

*Laboratório de Imunologia das Doenças Infecciosas, Departamento de Biologia Celular e Molecular, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, PB, Brasil*

### RESUMO

Os neutrófilos, que são o tipo de leucócito mais prevalente na circulação sanguínea humana desempenham um papel crucial na resposta imunológica do organismo. Eles são os primeiros a serem recrutados para os locais inflamados, onde executam diversas funções, incluindo fagocitose, liberação de espécies reativas de oxigênio, degranulação e formação de armadilhas extracelulares de neutrófilos (NETs). Essas células também são responsáveis pela produção de peptídeos antimicrobianos, citocinas pró-inflamatórias e quimiocinas, que modulam a resposta inflamatória e atraem outras células imunológicas, como monócitos e macrófagos. Apesar de sua principal função ser a eliminação de patógenos, especialmente bactérias e fungos, os neutrófilos são versáteis e desempenham papéis importantes em outras respostas imunológicas e doenças, como o câncer, doenças autoimunes, cicatrização de feridas e revascularização de tecidos após transplantes. Na tuberculose, uma doença infecciosa causada pela bactéria *Mycobacterium tuberculosis*, os neutrófilos têm um papel complexo. São rapidamente recrutados para os pulmões em resposta à infecção e desempenham atividades antimicrobianas, mas um recrutamento excessivo pode levar a inflamação prejudicial e piorar a doença. A compreensão completa das funções dos neutrófilos na tuberculose é essencial para desenvolver estratégias terapêuticas mais direcionadas e eficazes contra essa grave doença infecciosa. Assim, o objetivo dessa revisão narrativa foi analisar o papel dos neutrófilos na tuberculose.

**Palavras-chave:** imunidade inata. infecção bacteriana. trato respiratório.



## ABSTRACT

Neutrophils, the most prevalent type of leukocyte in the human bloodstream, play a crucial role in the organism's immune response. They are the first to be recruited to inflamed sites, where they perform various functions, including phagocytosis, release of reactive oxygen species, degranulation, and formation of neutrophil extracellular traps (NETs). These cells also produce antimicrobial peptides, pro-inflammatory cytokines, and chemokines, which modulate the inflammatory response and attract other immune cells, such as monocytes and macrophages. Despite their primary function being pathogen elimination, especially bacteria, and fungi, neutrophils are versatile and play important roles in other immune responses and diseases, such as cancer, autoimmune diseases, wound healing, and tissue revascularization after transplants. In tuberculosis, an infectious disease caused by the bacterium *Mycobacterium tuberculosis*, neutrophils have a complex role. They are rapidly recruited to the lungs in response to infection and perform antimicrobial activities, but excessive recruitment can lead to detrimental inflammation and worsen the disease. A comprehensive understanding of neutrophil functions in tuberculosis is essential to develop more targeted and effective therapeutic strategies against this serious infectious disease. Thus, this narrative review aimed to analyze the role of neutrophils in tuberculosis.

**Keywords:** innate immunity. bacterial infection. respiratory tract.

## INTRODUÇÃO

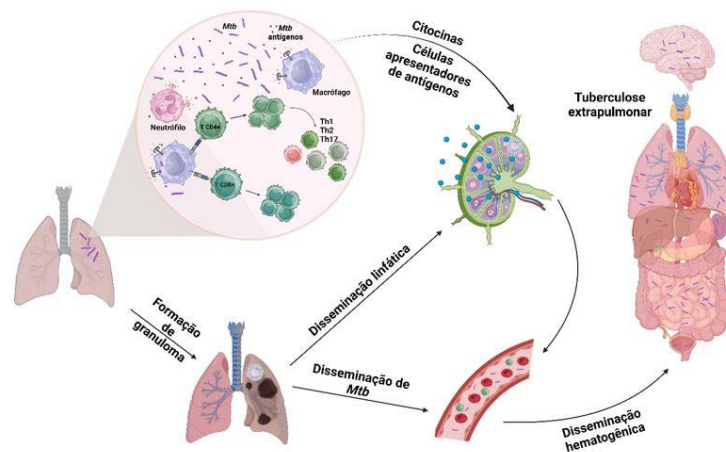
Os neutrófilos são as células polimorfonucleares que constituem o tipo de leucócito mais abundante na circulação em humanos, representando de 50 a 70% do número total de células sanguíneas (HIDALGO *et al.*, 2019). Essas células constituem a primeira linha de defesa do organismo, sendo as primeiras a serem recrutadas aos sítios inflamatórios, onde exercem suas funções de fagocitose, liberação de espécies reativas de oxigênio (ROS), degranulação e formação de armadilhas extracelulares de neutrófilos (NETs) (CHRISTOFFERSSON; PHILLIPSON, 2018; KOVTUN *et al.*, 2018). Além disso, os neutrófilos produzem diferentes peptídeos antimicrobianos, citocinas pró-inflamatórias, tais como IL-1 $\beta$ , IL-6 e TNF- $\alpha$  e quimiocinas, como a proteína quimiotática 1 de monócitos (MCP-1), capaz de atrair monócitos e macrófagos, modulando a resposta inflamatória (GREENLEE-WACKER, 2016; JONES *et al.*, 2016; TECCHIO; CASSATELLA, 2016).

Os neutrófilos são produzidos e maturados constantemente na medula óssea, a partir de células tronco hematopoiéticas, onde o principal regulador desse processo é o fator estimulante de colônia de granulócitos (G-CSF) (RAMAKRISHNA; CANTIN, 2018). Fora da medula, a produção dessas células é influenciada por vários fatores, dentre eles as citocinas IL-23, produzida por fagócitos, e IL-17, produzida por linfócitos T. Ao deixarem a medula e migrarem na circulação, os neutrófilos adquirem diferentes fenótipos, o que resulta em células com propriedades distintas (ADROVER *et al.*, 2016). Além disso, diferentes microambientes em diferentes tecidos podem induzir essas células a adquirirem funções especializadas (ROSALES, 2018). De forma geral, o tempo de meia-vida dos neutrófilos é curto, mas pode ser estendido em situações de inflamação aguda e crônica, proporcionando assim, maior oportunidade destas células produzirem suas moléculas efetoras e reguladoras para controlar o processo inflamatório instalado (LIEW; KUBES, 2019).

Apesar de serem células conhecidas por eliminar patógenos, principalmente bactérias e fungos, os neutrófilos são células versáteis que também participam da resposta imunológica antitumoral (COFFELT; WELLENSTEIN; DE VISSER, 2016; MISHALIAN; GRANOT; FRIDLENDER, 2017; OCANA *et al.*, 2017), da fisiopatologia de doenças como o câncer (COFFELT *et al.*, 2016; SHAUL; FRIDLENDER, 2019; MISHALIAN *et al.*, 2017), doenças autoimunes (LEE *et al.*, 2019; GUPTA; KAPLAN, 2016), do processo de cicatrização de feridas (PHILLIPSON; KUBES, 2019) e também atua ajudando no processo de revascularização de tecidos após transplantes (SEIGNEZ; PHILLIPSON, 2017).

A tuberculose (TB) é uma doença infecciosa de transmissão aérea provocada por bactérias do complexo *Mycobacterium tuberculosis*. Embora predominantemente pulmonar, o *Mycobacterium tuberculosis* pode desencadear enfermidades em praticamente qualquer órgão do corpo (Figura 1). A infecção por *M. tuberculosis* pode evoluir a partir da contenção no hospedeiro, com as bactérias isoladas em granulomas (latência da tuberculose), até um estágio contagioso, em que o paciente manifesta sintomas como tosse, febre, sudorese noturna e perda de peso.

**Figura 1 - Esquema da imunopatogênese da tuberculose.**



Legenda: A tuberculose pulmonar tem início quando o *Mycobacterium tuberculosis* (Mtb) é inalado e atinge os alvéolos dos pulmões. A resposta inicial inata é mediada por neutrófilos e macrófagos, que tentam controlar a infecção. As células do sistema imune respondem à infecção secretando citocinas e atraindo diversas células imunes para o local da infecção. No entanto, o Mtb consegue escapar da resposta imune ao sobreviver dentro dos macrófagos, o que leva à formação de granulomas. As células T desempenham um papel fundamental na resposta imune contra o Mtb, mas a bactéria pode inibir o sistema imunológico e causar a forma ativa da tuberculose pulmonar caso não seja controlada. Nessa condição ativa, ocorre a necrose dos macrófagos infectados, resultando na formação de cavidades nos pulmões e facilitando a disseminação bacteriana. Já a tuberculose extrapulmonar ocorre quando o Mtb se espalha dos pulmões para outros órgãos através do sistema linfático ou da corrente sanguínea. As manifestações extrapulmonares da tuberculose podem variar dependendo do órgão ou tecido afetado.

Na imunopatogênese da tuberculose (TB), os neutrófilos desempenham um papel complexo (BORKUTE *et al.*, 2021). Evidencia-se a presença elevada dessas células em pacientes com TB ativa, tanto na corrente sanguínea quanto no líquido broncoalveolar

(LOWE *et al.*, 2013; PANTELEEV *et al.*, 2017). Adicionalmente, há uma implicação direta dos neutrófilos no desenvolvimento da tuberculose no sistema nervoso central (POH *et al.*, 2022).

Além de participarem da fagocitose de micobactérias, os neutrófilos também apresentam atividades antimicobacterianas devido à sua maquinaria antimicrobiana (PARKER *et al.*, 2021). Estudos também revelaram que a mucosa alveolar aumenta a capacidade dessas células de identificar e eliminar o *Mycobacterium tuberculosis* (ARCOS *et al.*, 2015).

Apesar de sua importância, um influxo granulocítico desregulado está associado à progressão da doença (GOPAL *et al.*, 2013), sendo observada uma infiltração neutrofílica maciça em modelos de TB em camundongos (LOVEWELL *et al.*, 2020). Conseqüentemente, os neutrófilos também são implicados na exacerbação do dano ao tecido pulmonar. Nesse contexto, o objetivo dessa revisão narrativa foi analisar o papel dos neutrófilos na tuberculose.

## METODOLOGIA

Para realização deste trabalho foram realizadas buscas nas bases de dados: Portal de Periódicos da CAPES e PubMed no período 01-21 de julho de 2023. Foram utilizados os seguintes descritores: “neutrófilos”, “tuberculose” e “*Mycobacterium tuberculosis*”. Os filtros aplicados nas bases de dados foram: artigos publicados nos últimos 20 anos, disponíveis na íntegra, nos idiomas português e inglês. Os critérios de inclusão envolveram estudos com dados e estudos de revisão. Foram utilizados critérios de exclusão para remover estudos não disponíveis na íntegra e estudos duplicados. Após a aplicação desses critérios, procedeu-se com a leitura dos trabalhos selecionados, seguida pela elaboração da revisão narrativa.

## NEUTRÓFILOS NA TUBERCULOSE

Os neutrófilos são células que desempenham um papel fundamental na resposta imunológica inata contra infecções bacterianas, incluindo *M. tuberculosis* (PARKER *et al.*, 2021)Essas células imunológicas de vida curta são altamente abundantes nos estágios iniciais de infecções bacterianas e possuem um potente arsenal antimicrobiano que lhes permite combater uma ampla gama de patógenos de forma eficaz (BURN *et al.*, 2021)

Durante a infecção por *M. tuberculosis*, os neutrófilos são rapidamente recrutados para os pulmões em resposta a sinais quimiotáticos, como interleucina-17 (IL-17), CXCL5, KC e eicosanoides produzidos pela 12/15-lipoxigenase (GOPAL *et al.*, 2013; NOUAILLES *et al.*, 2014; MISHRA *et al.*, 2017)Esse recrutamento é uma linha inicial essencial de defesa contra a invasão micobacteriana. Os neutrófilos são capazes de fagocitar o *M. tuberculosis* (BORKUTE *et al.*, 2021)Além disso, essas células têm a capacidade de matar o *M. tuberculosis* internalizado por meio de vários mecanismos, incluindo a explosão respiratória e a liberação de peptídeos antimicrobianos, como peptídeos de neutrófilos humanos (HNPs) 1-3, LL-37 e lipocalina 2 (MARTINEAU *et al.*, 2007).

Os neutrófilos também podem formar armadilhas extracelulares de neutrófilos (NETs), que são compostas de DNA, histonas e componentes antimicrobianos. Essas NETs são capazes de aprisionar micobactérias e foram observados no plasma de pacientes com tuberculose pulmonar ativa. A formação de NETs parece estar associada à gravidade da doença e diminui com a antibioticoterapia (CAVALCANTE-SILVA *et al.*, 2023).

No entanto, o papel dos neutrófilos na tuberculose é complexo e multifacetado. Embora contribuam para a contenção e morte precoce do patógeno, também podem promover inflamação e destruição pulmonar durante a doença ativa. Na tuberculose humana, os neutrófilos estão frequentemente associados a necrose caseosa e patogênese exacerbada (HUNTER, 2011). Estudos em animais mostraram que o acúmulo excessivo de neutrófilos nos pulmões pode levar ao aumento da suscetibilidade à infecção por *M. tuberculosis* (RAVESLOOT-CHAVEZ; VAN DIS; STANLEY, 2021).

É essencial entender que a função dos neutrófilos durante a tuberculose pode variar dependendo do contexto, incluindo a genética do hospedeiro, a via de infecção e o momento e duração da atividade dos neutrófilos (SIA; RENGARAJAN, 2019). Estudos comparando diferentes cepas de camundongos demonstraram respostas diferenciais de neutrófilos à infecção por *M. tuberculosis*, com algumas cepas mostrando papéis benéficos para os neutrófilos na defesa do hospedeiro, enquanto outras mostram efeitos patogênicos (ERUSLANOV *et al.*, 2005; KELLER *et al.*, 2006).

Além disso, os neutrófilos podem desempenhar um papel importante na ativação da imunidade adaptativa durante a tuberculose. A depleção de neutrófilos em certas cepas de camundongos mostrou resultados variados, com alguns estudos sugerindo defesa do hospedeiro comprometida e outros mostrando nenhum impacto significativo (BLOMGRAN; ERNST, 2011).

A heterogeneidade das funções dos neutrófilos durante a tuberculose destaca a necessidade de mais pesquisas para entender suas contribuições tanto para a imunidade protetora quanto para a patologia da doença. Além disso, traduzir as descobertas de modelos de camundongos para humanos continua sendo um desafio devido a possíveis diferenças específicas entre as espécies (SCRIBA; COUSSENS; FLETCHER, 2016; RAVESLOOT-CHAVEZ; VAN DIS; STANLEY, 2021).

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

Em conclusão, os neutrófilos são células do sistema imunológico que contribuem para aspectos protetores e patogênicos da resposta imunológica durante a infecção por *M. tuberculosis*. Seu recrutamento precoce e atividades antimicrobianas são essenciais para conter a infecção, mas respostas excessivas ou desreguladas dos neutrófilos podem levar a inflamação destrutiva e aumento da suscetibilidade à tuberculose. Desvendar os mecanismos precisos subjacentes às funções dos neutrófilos na tuberculose fornecerá informações importantes para o desenvolvimento de terapias e intervenções direcionadas contra esta doença infecciosa.



## REFERÊNCIAS

- ADROVER, J. M.; NICOLÁS-ÁVILA, J. A.; HIDALGO, A. Aging: a temporal dimension for neutrophils. *Trends Immunol.* v. 37, p. 334-345, 2016.
- ARCOS, J. *et al.* Lung Mucosa Lining Fluid Modification of Mycobacterium tuberculosis to Reprogram Human Neutrophil Killing Mechanisms. *The Journal of infectious diseases*, v. 212, n. 6, p. 948–958, 15 set. 2015.
- BLOMGRAN, R.; ERNST, J. D. Lung neutrophils facilitate activation of naive antigen-specific CD4+ T cells during Mycobacterium tuberculosis infection. *Journal of immunology (Baltimore, Md.: 1950)*, v. 186, n. 12, p. 7110–7119, 15 jun. 2011.
- BORKUTE, R. R. *et al.* Neutrophils in Tuberculosis: Cell Biology, Cellular Networking and Multitasking in Host Defense. *International journal of molecular sciences*, v. 22, n. 9, 1 maio 2021.
- BURN, G. L. *et al.* The Neutrophil. *Immunity*, v. 54, n. 7, p. 1377–1391, 13 jul. 2021.
- CAVALCANTE-SILVA, L. H. A. *et al.* Mycobacterium tuberculosis in a Trap: The Role of Neutrophil Extracellular Traps in Tuberculosis. *International Journal of Molecular Sciences* 2023, Vol. 24, Page 11385, v. 24, n. 14, p. 11385, 13 jul. 2023.
- CHRISTOFFERSSON, G.; PFILLIPSON, M. The neutrophil: one cell on many missions or many cells with diferente agendas? *Cell Tissue Res.* v. 371, n. 3, p. 415-423, 2018.
- COFFELT, S. B.; WELLENSTEIN, M. D.; DE VISSER, K. E. Neutrophils in cancer: neutral no more. *Nature Reviews Cancer*, v. 16, n. 7, p. 431–446, 10 jul. 2016.
- ERUSLANOV, E. B. *et al.* Neutrophil responses to Mycobacterium tuberculosis infection in genetically susceptible and resistant mice. *Infection and Immunity*, v. 73, n. 3, p. 1744–1753, mar. 2005.
- GOPAL, R. *et al.* S100A8/A9 proteins mediate neutrophilic inflammation and lung pathology during tuberculosis. *American journal of respiratory and critical care medicine*, v. 188, n. 9, p. 1137–1146, 1 nov. 2013.
- GREENLEE-WACKER, M. C. Clearance of apoptotic neutrophils and resolution of inflammation. *Immunol Ver.* v. 273, p. 357-370, 2016.
- GUPTA, S.; KAPLAN, M. J. The role of neutrophils and NETosis in autoimmune and renal diseases. *Nat. Rev, Nephrol.* v. 12, n. 7, p. 402-13, 2016.
- HIDALGO, A.; CHILVERS, E. R.; SUMMERS, C.; KOENDERMAN, L. The neutrophil life cycle. *Trends Immunol.* v. 40, n. 7, p. 584-597, 2019.
- HUNTER, R. L. Pathology of post primary tuberculosis of the lung: an illustrated critical review. *Tuberculosis (Edinburgh, Scotland)*, v. 91, n. 6, p. 497–509, nov. 2011.
- JONES, H. R.; ROBB, C. T.; PERRETTI, M.; ROSSI, A. G. The role of neutrophils in inflammation resolution. *Semin. Immunol.* v. 28, n. 2, p. 137-45, 2016.

- KELLER, C. *et al.* Genetically determined susceptibility to tuberculosis in mice causally involves accelerated and enhanced recruitment of granulocytes. *Infection and Immunity*, v. 74, n. 7, p. 4295–4309, jul. 2006.
- KOVTUN, A.; MESSERER, D. A. C.; SCHARFFETTER-KOCHANNEK, K.; HUBER-LANG, M.; IGNATIUS, A. Neutrophils in tissue trauma of the skin, bone, and lung: two sides of the same coin. *Journal of Immunology Research*. v. 2018, p. 8173983, 2018.
- LEE, K. H.; KRONBICHLER, A.; PARK, D. D. *et al.* Neutrophil extracellular traps (NETs) in autoimmune diseases: A comprehensive review. *Autoimmun. Rev.* v. 16, n. 11, p. 1160-1173, 2019.
- LOVEWELL, R. R. *et al.* Granulocytes act as a niche for *Mycobacterium tuberculosis* growth. *Mucosal Immunology* 2020 14:1, v. 14, n. 1, p. 229–241, 1 jun. 2020.
- LOWE, D. M. *et al.* Neutrophilia independently predicts death in tuberculosis. *European Respiratory Journal*, v. 42, n. 6, p. 1752–1757, 1 dez. 2013.
- MARTINEAU, A. R. *et al.* Neutrophil-mediated innate immune resistance to mycobacteria. *The Journal of Clinical Investigation*, v. 117, n. 7, p. 1988–1994, 2 jul. 2007.
- MISHALIAN, I.; GRANOT, Z.; FRIDLENDER, Z. G. The diversity of circulating neutrophils in cancer. *Immunobiology*, v. 222, n. 1, p. 82–88, jan. 2017.
- MISHRA, B. B. *et al.* Nitric oxide prevents a pathogen-permissive granulocytic inflammation during tuberculosis. *Nature microbiology*, v. 2, 15 maio 2017.
- NOUAILLES, G. *et al.* CXCL5-secreting pulmonary epithelial cells drive destructive neutrophilic inflammation in tuberculosis. *The Journal of clinical investigation*, v. 124, n. 3, p. 1268–1282, 3 mar. 2014.
- OCANA, A. *et al.* Neutrophils in cancer: prognostic role and therapeutic strategies. *Molecular Cancer*, v. 16, n. 1, p. 137, 15 dez. 2017.
- PANTELEEV, A. V. *et al.* severe tuberculosis in human's correlates best with neutrophil abundance and lymphocyte deficiency and does not correlate with antigen-specific CD4 T-cell response. *Frontiers in Immunology*, v. 8, n. AUG, p. 963, 21 ago. 2017.
- PARKER, H. A. *et al.* Antimicrobial Activity of Neutrophils Against *Mycobacteria*. *Frontiers in immunology*, v. 12, 23 dez. 2021.
- PHILLIPSON, M.; KUBES, P. The Healing Power of Neutrophils. *Trends in immunology*, v. 40, n. 7, p. 635–647, jul. 2019.
- POH, X. Y. *et al.* Neutrophil-Mediated Immunopathology and Matrix Metalloproteinases in Central Nervous System - Tuberculosis. *Frontiers in immunology*, v. 12, 12 jan. 2022.
- RAMAKRISHNA, C.; CANTIN, E. M. IFN- $\gamma$  inhibits G-CSF induced neutrophil expansion and invasion of the CNS to prevent viral encephalitis. *PLoS Pathog.* v. 14, n. 1, p. e1006822, 2018.
- RAVESLOOT-CHAVEZ, M. M.; VAN DIS, E.; STANLEY, S. A. The Innate Immune Response to *Mycobacterium Tuberculosis* Infection. *Annual review of immunology*, v. 39, p. 611–637, 26 abr. 2021.

ROSALES, C. Neutrophil: a cell with many roles in inflammation or several cell types? *Frontiers in Physiology*. v. 9, p. 113, 2018.

SCRIBA, T. J.; COUSSENS, A. K.; FLETCHER, H. A. Human Immunology of Tuberculosis. *Microbiology spectrum*, v. 4, n. 4, 24 ago. 2016.

SEIGNEZ, C.; PHILLIPSON, M. The multitasking neutrophils and their involvement in angiogenesis. *Curr Opin Hematol*. v. 24, p. 3-8, 2017.

SHAUL, M. E.; FRIDLENDER, Z. G. Tumor-associated neutrophils in patients with cancer. *Nat. Rev. Clin. Oncol*. v. 16, n. 10, p. 601-620, 2019.

SIA, J. K.; RENGARAJAN, J. Immunology of Mycobacterium tuberculosis Infections. *Microbiology spectrum*, v. 7, n. 4, 19 jul. 2019.

TECCHIO, C.; CASSATELLA, M. A. Neutrophil-derived chemokines on the road to immunity. *Semin. Immunol*. v. 28, p. 119-128, 2016.

# COVID-19: papel de células T na doença e na proteção

## COVID-19: role of T cells in disease and protection

**Arthur Gomes de Andrade**

*1Laboratório de Imunologia das Doenças Infecciosas, Departamento de Biologia Celular e Molecular, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, PB, Brasil*

**Luiz Henrique Agra Cavalcante-Silva**

*1Laboratório de Imunologia das Doenças Infecciosas, Departamento de Biologia Celular e Molecular, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, PB, Brasil*

**Fernando César Comberlang**

*1Laboratório de Imunologia das Doenças Infecciosas, Departamento de Biologia Celular e Molecular, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, PB, Brasil*

**Tatjana Souza Lima Keesen**

*1Laboratório de Imunologia das Doenças Infecciosas, Departamento de Biologia Celular e Molecular, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, PB, Brasil*

### RESUMO

Os linfócitos T desempenham um papel fundamental na resposta imune contra a infecção pelo SARS-CoV-2, o vírus responsável pela COVID-19. Tanto na infecção natural quanto após a vacinação, essas células são essenciais para o controle da replicação viral, a eliminação das células infectadas e a modulação da resposta imune adaptativa. As células T CD8+ citotóxicas têm a capacidade de reconhecer e destruir as células infectadas pelo vírus, enquanto as células T CD4+ desempenham um papel na coordenação da resposta imune e na indução de respostas de anticorpos. Além disso, os diferentes fenótipos das células T de memória geradas após a infecção ou vacinação são cruciais para fornecer proteção de longo prazo contra futuras exposições ao vírus. As vacinas contra a COVID-19, incluindo aquelas baseadas na tecnologia do mRNA e em vetores virais, têm sido eficazes na indução de respostas robustas de células T específicas para o SARS-CoV-2. Essas respostas incluem tanto as células T CD8+ como as CD4+, e são importantes para uma proteção efetiva contra a infecção e o desenvolvimento de doença grave. A compreensão do papel dos linfócitos T na infecção e vacinação contra a COVID-19 é, portanto, essencial para o desenvolvimento contínuo de estratégias de imunização eficazes. Nesse sentido, o presente estudo de revisão narrativa objetiva analisar os avanços na compreensão celular mediada por células T no contexto da doença e na proteção contra a COVID-19.

**Palavras-chave:** células T. COVID-19. vacinas.



## ABSTRACT

T lymphocytes play a crucial role in the immune response against SARS-CoV-2, the virus responsible for COVID-19. Both in natural infection and after vaccination, these cells are essential for controlling viral replication, eliminating infected cells, and modulating the adaptive immune response. Cytotoxic CD8<sup>+</sup> T cells can recognize and destroy virus-infected cells, while CD4<sup>+</sup> T cells coordinate the immune response and induce antibody responses. The different phenotypes of memory T cells generated after infection or vaccination are crucial for long-term protection against future virus exposures. COVID-19 vaccines, including those based on mRNA technology and viral vectors, have effectively induced robust T cell responses specific to SARS-CoV-2. These responses include CD8<sup>+</sup> and CD4<sup>+</sup> T cells and are important for effective protection against infection and severe disease. Therefore, understanding the role of T lymphocytes in COVID-19 infection and vaccination is essential for the continuous development of effective immunization strategies. In this sense, the present narrative review aims to analyze the advances in understanding cell-mediated T cell responses in the context of disease and protection against COVID-19.

**Keywords:** T cell. COVID-19. vaccines.

## INTRODUÇÃO

O SARS-CoV-2 é um vírus altamente contagioso que causa a COVID-19 e possui uma estrutura complexa, incluindo uma camada externa de proteína chamada spike, que se liga a receptores ACE2 e TMPRSS2 nas células humanas, permitindo a entrada do vírus. Sua estrutura também é envolta por uma camada lipídica e possui material genético composto por RNA (M.-Y. Wang *et al.*, 2020).

As respostas imunes adaptativas são fundamentais para controlar e eliminar a infecção pelo SARS-CoV-2, com interesse crescente no papel da imunidade celular nesse processo (Vardhana *et al.*, 2022). Evidências de outras doenças como SARS-CoV-1 e MERS indicam que as células T desempenham um papel crucial no controle da doença (L. Liu *et al.*, 2019), enquanto níveis elevados de anticorpos na infecção por SARS-CoV-1 têm sido associados a inflamação aumentada e desfechos clínicos comprometidos (L. Liu *et al.*, 2019).

A carga viral inicial e a eficácia da resposta imunológica inata, especialmente mediada por interferons tipo I, são fatores críticos na determinação do sucesso da resposta adaptativa subsequente e do desfecho clínico. Tanto fatores genéticos quanto adquiridos demonstram a importância da sinalização eficaz dos interferons na infecção aguda (Zhang *et al.*, 2020). Desfechos graves são caracterizados por uma diminuição lenta da carga viral e inflamação precoce e persistente, com níveis elevados de interferon (IFN)- $\alpha$ , TNF e IFN- $\gamma$  (Lucas *et al.*, 2020).

Apesar da importância das respostas inatas, a coordenação da imunidade celular adaptativa também é fundamental no controle da doença (Rydyznski Moderbacher *et al.*, 2020). A resposta precoce das células T CD8<sup>+</sup> citotóxicas, geralmente observada em até 7 dias após o aparecimento dos sintomas e atingindo o ápice aos 14 dias, está associada

à eliminação eficaz do vírus (Notarbartolo *et al.*, 2021) e à manifestação mais branda da doença, com uma cinética semelhante às respostas humorais (Bergamaschi *et al.*, 2021). É relevante mencionar que parte dessa resposta pode ser atribuída às células T CD8+ *bystander*, que não são especificamente direcionadas ao vírus, mas expressam um fenótipo NKG2D+IL-7R+ e contribuem para o controle da doença em outros contextos (Maurice *et al.*, 2021). Apesar da aparente robustez da resposta celular na maioria das pessoas, até 20% dos indivíduos com COVID-19 apresentam uma imunidade adaptativa deficiente.

As vacinas atuais utilizam a proteína *spike* do vírus como alvo, gerando uma resposta celular específica para a *spike* (Tregoning *et al.*, 2021). É notável que um efeito protetor seja observado já 11 dias após a primeira dose da vacina, com uma resposta vigorosa das células T CD8+, sugerindo seu papel nessa proteção (Oberhardt *et al.*, 2021). As respostas das células T também auxiliam na produção e manutenção de anticorpos de alta afinidade, e a administração de duas doses da vacina BNT162b2 induz respostas confiáveis das células T CD4+ específicas para o vírus (Sahin *et al.*, 2021). Essas respostas das células CD4+ apresentam perfil TH1 e são detectáveis em cerca de 8 dias após a primeira dose, alcançando o pico logo após o reforço da vacina e, posteriormente, diminuindo após 4 meses (Skelly *et al.*, 2021).

É relevante destacar que as respostas das células T após a vacinação dupla são de magnitude similar àquelas observadas após a infecção natural, embora possam ser um pouco mais diferenciadas. Isso é promissor, mas a longevidade dessas respostas é uma questão chave a ser abordada. Após a vacinação, há uma diminuição dos níveis plasmáticos de anticorpos, porém a indução de fenótipos de células tronco T de memória após a vacinação traz evidências de que a imunidade celular permaneça mais robusta (Jung *et al.*, 2022).

Compreender os aspectos imunológicos envolvidos na COVID-19 é fundamental para o desenvolvimento de estratégias preventivas e terapêuticas mais eficazes. Portanto, o presente estudo de revisão narrativa objetiva analisar os avanços na compreensão celular mediada por células T no contexto da doença e na proteção contra a COVID-19.

## METODOLOGIA

Para realização deste trabalho, foram realizadas buscas nas bases de dados: Portal de Periódicos da CAPES e PubMed no período 22-27 de junho de 2023. Foram utilizados os seguintes descritores: “*T cells*”, “COVID-19”, “SARS-CoV-2”; e “*Immune Memory*”. Os filtros aplicados nas bases de dados foram: artigos publicados nos últimos 13 anos, disponíveis na íntegra, nos idiomas português e inglês. Os critérios de inclusão envolveram estudos com dados e estudos de revisão. Os critérios de exclusão foram estudos não disponíveis na íntegra e estudos duplicados. Por fim, após a aplicação dos critérios acima mencionados, foi realizada a leitura dos trabalhos e, em seguida, foi construída a revisão narrativa.

## IMUNIDADE CELULAR NA DOENÇA E NA PROTEÇÃO

As células T desempenham um papel crucial na resposta imune adaptativa contra

o SARS-CoV-2. A imunidade mediada pelas células T é central no controle do vírus, não apenas na proteção subsequente à vacinação (Moss, 2022) (figura 1). As respostas imunológicas adaptativas direcionadas ao SARS-CoV-2 são coordenadas pelas células T CD4+ e CD8+. Ambas as subclasses de células T desempenham um papel crucial na garantia de uma proteção efetiva contra o vírus e estão associadas a casos mais leves da doença, mesmo na ausência de uma resposta humoral, devido a memória imunológica causada por infecção prévias, por vacinação, ou pela combinação de ambos os estímulos (Loyal *et al.*, 2021).

Os linfócitos T CD4+, também conhecidos como linfócitos T auxiliares, são células da imunidade adaptativa que desempenham um papel central na regulação e coordenação da resposta imunológica (J. Zhao *et al.*, 2016). Na COVID-19, essas células representam o primeiro contato da resposta imune específica, ao interagir com antígenos apresentados por outras células do sistema imunológico. Sua alta plasticidade celular permite que se especializem em diferentes fenótipos, como Th1, Th2, Th9, TH17 e Tregs, cada um com papel importante na ativação, diferenciação e regulação de outras células imunológicas. Por outro lado, os linfócitos T CD8+ apresentam uma atividade primária citotóxica. Embora os linfócitos T CD4+ também apresentem atividade citotóxica, essa população é menos predominante no geral (Knudson *et al.*, 2021).

Durante infecções virais, como a causada pelo SARS-CoV-2, ocorre uma preferência pela diferenciação para o fenótipo Th1. Esse tipo celular é crucial para o controle de infecções por parasitas intracelulares, como vírus, mediado principalmente pela secreção de citocinas como o IFN- $\gamma$  e TNF- $\alpha$  (X. Wang *et al.*, 2023). O IFN- $\gamma$  é uma citocina pleiotrópica que modula tanto a imunidade inata quanto a adaptativa, coordenando a atração de leucócitos, crescimento, maturação e diferenciação de várias células imunológicas. Além disso, aumenta a atividade das células natural killer (NK) e regula funções das células B, como produção de imunoglobulinas (Ig) e troca de isotipo para IgG. Em macrófagos, o IFN- $\gamma$  induz a polarização para o fenótipo M1, aumentando a ativação e capacidade fagocítica dessas células, o que é crucial para a fagocitose de células infectadas.

Por sua vez, a ativação dos linfócitos T CD8+ é essencial para o controle da carga viral, pois possuem atividade citotóxica direta contra células infectadas (Bergamaschi *et al.*, 2021). Assim como as células NK, os linfócitos T CD8+ possuem grânulos citotóxicos contendo granzima B e perforina. A perforina cria poros na membrana celular da célula infectada, permitindo a entrada das granzimas no citoplasma. A granzima B, por sua vez, ativa caspases, iniciando o processo de apoptose e eliminando as células infectadas, controlando a disseminação do vírus no corpo e prevenindo danos aos órgãos e tecidos. Essa resposta específica e direcionada permite a eliminação das células infectadas pelo vírus, limitando a propagação do vírus no corpo e prevenindo danos aos órgãos e tecidos.

No curso da doença, é observado que tanto as células T CD4+ quanto as células T CD8+ passam por uma proliferação intensa em pacientes infectados com o SARS-CoV-2, e ambas as populações de células T em multiplicação exibem níveis elevados de marcadores de citotoxicidade (Peng *et al.*, 2022). Muitos pacientes com COVID-19 apresentam uma resposta robusta das células T CD4+ e CD8+ contra várias proteínas virais do SARS-CoV-2, incluindo S, M, N, NSPs e quadros de leitura ORFs. Essas respostas são detectáveis por

várias semanas após o início dos sintomas (Bertoletti *et al.*, 2022). Além disso, células T específicas para regiões alvo foram observadas tanto em pacientes recuperados quanto em indivíduos convalescentes da COVID-19 (Sekine *et al.*, 2020).

Nos casos graves da COVID-19, considerando a hospitalização dos pacientes, a linfocitopenia é um dos sintomas mais amplamente conhecidos e registrados (Huang *et al.* 2020). Em comparação com indivíduos saudáveis, todos os pacientes estudados apresentaram uma diminuição no número absoluto de células T CD4+ e CD8+. Essa redução foi particularmente significativa nos casos mais graves (Chen *et al.*, 2020; R. Liu *et al.*, 2020; Sekine *et al.*, 2020a). Notavelmente, nos pacientes com COVID-19 que responderam positivamente ao tratamento, observou-se um aumento principalmente nas células T CD8+ e, em alguns estudos, também nas células T CD4+. Por outro lado, os tratamentos que não obtiveram sucesso não apresentaram um aumento significativo no número de células T (Rezaei *et al.*, 2021; J. Wang *et al.*, 2020). Essas descobertas sugerem uma forte associação entre a concentração de células T circulantes e o resultado no tratamento da doença.

Esse quadro de baixos níveis de linfócitos circulantes na COVID-19 grave é comumente acompanhado da tempestade de citocinas, caracterizada por uma resposta imunológica hiperativa e desregulada que leva a uma liberação excessiva de citocinas pró-inflamatórias. Nesse cenário, os linfócitos T desempenham um papel central, especialmente o subtipo Th17, aumentando os níveis de IL-17 e IL-22, que junto a outras citocinas pró-inflamatórias, podem levar a danos nos diferentes tecidos e agravamento da inflamação (Wu & Yang, 2020).

Vários estudos têm apontado um aumento de linfócitos T ativados (CD38+ HLA-DR+) em pacientes com COVID-19 em estado grave (Du *et al.* 2021; Georg *et al.* 2022; Mathew *et al.* 2020). Essa subpopulação pode englobar três grupos distintos de linfócitos T: aquelas que estão hiperativadas com uma resposta exacerbada, as que apresentam um fenótipo de energia celular ou células sensíveis à apoptose (Du *et al.*, 2021a). Além disso, outros marcadores expressos por essas células (como PD-1, Tim-3 e CD94/NKG2A) também estão associados à progressão da doença (Diao *et al.*, 2020)

Em pacientes com influenza, a maioria das células CD38+HLA-DR+CD8+ expressa PD-1 (Z. Wang *et al.*, 2018). Após a recuperação, todas as células T CD8+ ativadas apresentam níveis intermediários de expressão de PD-1, enquanto pacientes gravemente enfermos têm células com expressão intermediária e alta de PD-1. Considerando que a influenza causa uma infecção similar em humanos ao SAR-CoV-2, é provável que a presença de marcadores de PD-1 observados em pacientes com COVID-19 ocorra devido a uma hiperativação das células T, possivelmente em resposta a altas cargas virais. É importante notar que essas células T CD8+ que expressam PD-1 demonstraram manter sua funcionalidade em pacientes com COVID-19 (Rha *et al.*, 2021).

A constante elevação das células T CD8+ hiperativadas em pacientes com quadros clínicos graves sugere que essas células podem estar desempenhando um papel importante na progressão da doença. De fato, as células T CD8+CD38<sup>high</sup> hiperativadas têm sido associadas à tempestade de citocinas e ao surgimento de lesões no coração, rins e fígado em pacientes graves com COVID-19 (Du *et al.*, 2021b). Além disso, observou-se a presença de células T altamente citotóxicas nos órgãos danificados de pacientes que



faleceram, indicando uma possível relação entre maior citotoxicidade, danos teciduais e resultados fatais da doença (Gauchotte *et al.*, 2021; Szabo *et al.*, 2021)

Nienhold *et al.* (2020) identificaram dois padrões distintos em pacientes que faleceram devido à COVID-19. Pacientes que morreram logo após a hospitalização exibiram um padrão com alta carga viral, pouco dano tecidual nos pulmões e alta expressão local de genes estimulados por interferon (ISGs) e citocinas (padrão I). Já os pacientes que faleceram após um período mais prolongado de hospitalização apresentaram carga viral mais baixa, mas mostraram lesão pulmonar, baixa expressão de ISGs e uma grande infiltração de células T CD8+ ativadas (padrão II). Com o passar do tempo, o número de células T CD8+ no tecido pulmonar aumentou, o que sugere que elas podem contribuir para o dano dos tecidos alveolares e os sintomas de pneumonia (Nienhold *et al.*, 2020)

Apesar disso, diversos estudos destacam que a infiltração de células do sistema imunológico inato é considerada a principal causa dos danos teciduais graves provocados pelo SARS-CoV-2. Mais pesquisas são necessárias para compreender completamente o papel das células T CD8+ hiperativadas e seu envolvimento no desfecho fatal da doença.

No Brasil, um conjunto de vacinas para a proteção contra a COVID-19 tem sido disponibilizado como parte dos esforços para combater repercussões de saúde pública geradas pela pandemia. Desde o início da campanha de vacinação, diversos imunizantes foram aprovados para uso emergencial e aplicados em diferentes grupos da população. Atualmente, as plataformas vacinais utilizadas incluem mRNA, vetores adenovirais e vírus inativado. Apesar das distintas plataformas de entrega dos antígenos, já foram demonstradas que todas as plataformas conseguem induzir uma forte proteção mediada por células T e produção de anticorpos neutralizantes específicos para vírus SARS-CoV-2.

A imunidade protetora pode ser induzida pela infecção ou vacinação e é mediada por dois braços do sistema imunológico adaptativo: a imunidade humoral, composta por anticorpos e células B de memória, e a imunidade celular, que inclui os linfócitos T CD4+ e T CD8+. Os anticorpos bloqueiam a infecção ao se ligarem ao vírus e impedirem sua entrada nas células hospedeiras, sendo indicadores de proteção para muitas vacinas. No caso do SARS-CoV-2, os anticorpos podem prevenir a aquisição da infecção se estiverem presentes em concentrações suficientemente altas, como demonstrado por estudos de transferência de imunoglobulina G (IgG) (Khoury *et al.*, 2021)

A existência de células T de memória específicas do SARS-CoV-2 após infecções foi estudada estimulando essas células em amostras de sangue de indivíduos recuperados com antígenos virais. Diversas pesquisas constataram que a maioria dos pacientes tinha uma resposta de memória T CD4+ e CD8+ contrapelo menos um dos peptídeos das proteínas S, M, N, E ORF1ab do SARS-CoV-2, sendo esse efeito observado cerca de 40 a 86 dias após o início da doença (Peng *et al.*, 2020; Tavukcuoglu *et al.*, 2021; Wang *et al.*, 2021). Além disso, a imunidade híbrida, caracterizada pela combinação da infecção e da vacina, também confere uma resposta robusta e duradoura de linfócitos T de memória com amplo espectro de reconhecimento viral, garantindo proteção às variantes de preocupação (Sun *et al.*, 2022)

As células T de memória exibem respostas mais rápidas a infecções subsequentes causadas por patógenos semelhantes ou relacionados (Wherry & Ahmed, 2004). Foram relatadas respostas específicas de células T de memória para o SARS-CoV-2 na fase inicial de recuperação (Sekine *et al.*, 2020). Em casos graves de COVID-19, observou-se um aumento na proporção de células T CD4+ naive e uma diminuição na proporção de células T CD4+ de memória, em comparação com casos leves da doença (Qin *et al.*, 2020). Além disso, frequências reduzidas de células T de memória efetoras e centrais, tanto CD4+ quanto CD8+, foram observadas em casos graves em comparação com casos leves. A proporção entre células T CD4+ naives e efetoras, que reflete a diferenciação de células T de memória, é reduzida nos casos graves, indicando uma supressão da imunidade adaptativa nesses pacientes (Zuin *et al.*, 2022)

As células T de memória residentes em tecidos desempenham um papel importante na resposta imunológica. Elas liberam citocinas e quimiocinas, o que leva à ativação de células da imunidade inata e ao recrutamento de mais linfócitos T de memória da periferia para o local da infecção (Schenkel *et al.*, 2013). Embora as células T de memória residentes (TRM) nas vias respiratórias tenham sido associadas a respostas protetoras contra outros coronavírus respiratórios (J. Zhao *et al.*, 2016), seu papel específico na imunopatogênese da infecção por SARS-CoV-2 ainda requer investigação mais aprofundada. Em estudos envolvendo pacientes com COVID-19 que necessitaram de tratamento em unidades de terapia intensiva, foi constatada uma menor frequência de células T de memória residentes em tecidos em comparação com células TRM (Oja *et al.*, 2020). Além disso, foram identificadas células semelhantes a células T de memória residentes em tecidos, conhecidas como células TRM17, com um perfil de citocinas anormal, nos pulmões de pacientes recuperados (Y. Zhao *et al.*, 2021). Embora essas descobertas sejam relevantes, ainda é necessário um maior entendimento do papel dessas células na imunidade e na patogênese do SARS-CoV-2.

Os estudos conduzidos por Sekine *et al.* (2020) e Wang *et al.* (2021) mostraram que as respostas das células T específicas para o SARS-CoV-2 não se limitaram apenas a pacientes sintomáticos. Pacientes assintomáticos e indivíduos expostos, mesmo sem sorologia positiva, também apresentaram uma resposta significativamente mais alta de células T quando comparados a controles saudáveis. Tavukcuoglu *et al.* (2021), aprofundaram o estudo da resposta de memória T em pacientes sintomáticos, revelando que tanto as células T de memória central (TCM) quanto as células T de memória efetora (TEM) apresentavam maior capacidade de proliferação e uma resposta funcional na maioria dos pacientes com COVID-19 sintomáticos. Embora as células TCM CD4+ tenham apresentado a maior capacidade de proliferação, os resultados variaram consideravelmente entre os pacientes (Tavukcuoglu *et al.*, 2021). Peng *et al.*, 2020, também encontraram que a maior porcentagem de resposta de células T CD8+ foi observada nas células TEM CD8+ quando peptídeos de todas as proteínas do SARS-CoV-2, exceto ORF1, foram considerados.

Rodda *et al.* (2021), realizaram uma pesquisa semelhante, constatando que as células TCM CD4+ e, em menor extensão, as células TEM CD4+ apresentaram considerável proliferação após serem estimuladas com peptídeos da proteína spike. Esses achados indicam que as células TCM e TEM circulantes são desenvolvidas em indivíduos infectados naturalmente e retêm a capacidade de proliferação após estimulação. Assim, uma resposta

de memória pode ser ativada em futuras reinfecções, permitindo uma eliminação mais rápida do vírus e um curso da doença com melhor prognóstico.

As respostas imunes adaptativas específicas ao SARS-CoV-2 são coordenadas pelas células T CD4+ e CD8+, e ambas as subclasses de células T são importantes para uma proteção efetiva e associadas a casos mais leves da doença, mesmo na ausência de resposta humoral (Kingstad-Bakke *et al.*, 2022). Tanto as células T CD4+ quanto as células T CD8+ apresentam uma proliferação intensa em pacientes infectados com o SARS-CoV-2, e ambas as populações de células T replicantes expressam níveis elevados de marcadores de citotoxicidade. No entanto, parece que a função efetora das células T falha em pacientes graves.

Em pacientes com COVID-19, os linfócitos T passam por mudanças significativas em termos de quantidade e fenótipo (Bertoletti *et al.*, 2022). As células T de memória específicas para o SARS-CoV-2 atingem o nível máximo no primeiro mês de infecção e, em seguida, diminuem gradualmente nos 6 a 7 meses seguintes (Tavukcuoglu *et al.*, 2021). Durante a infecção inicial e o período de recuperação, os linfócitos TCM CD4+ Th1 apresentam maior prevalência. Em comparação com indivíduos saudáveis, as células Th1 encontradas em pacientes com COVID-19 expressam características distintas e também transcritos que codificam citocinas e quimiocinas antivirais (Nelson *et al.*, 2022). Os linfócitos T CD4+ citotóxicos, podem eliminar diretamente células infectadas expressando o MHC de classe II e recrutar células imunes inatas para melhorar as respostas das células T CD8+ (Knudson *et al.*, 2021). A proporção de células Treg reativas ao SARS-CoV-2 é reduzida em pacientes hospitalizados, e aqueles com uma resposta reguladora prejudicada ao vírus, mostram respostas mais fortes de células T CD4+ citotóxicas (Nam *et al.*, 2023). A maioria dos vacinados exibe respostas robustas de células T CD4+ até 6 meses após a vacinação, e essas respostas iniciais têm correlação com a sustentação de respostas humorais, principalmente com linfócitos secretores de baixos níveis de TNF- $\alpha$  (van der Ploeg *et al.*, 2022). Mesmo com níveis diminuídos de respostas dependentes de linfócitos T circulatórios, já foi demonstrado que a memória imunológica se mantém robusta com capacidade de rápida expansão clonal em resposta à proteína spike (Taus *et al.*, 2023).

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

Células T CD4+ de memória reconhecem as proteínas estruturais e acessórias do vírus SARS-CoV-2, enquanto as células T de memória CD8+ têm preferência pela proteína nucleocapsídeo (Bertoletti *et al.*, 2022), embora todas as proteínas virais forneçam antígenos que consigam desencadear uma resposta protetora mediada por ambas os tipos celulares. Essas evidências sugerem que as respostas robustas das células T, com especificidade, características e funções apropriadas, induzidas pelas vacinas e infecção, são capazes de controlar a infecção e o curso da doença, além de contribuir para a otimização da imunidade humoral, embora o foco principal da maioria das vacinas atuais seja induzir a produção de anticorpos neutralizantes.

Nesse sentido, propõe-se que uma vacina ideal contra a COVID-19 deva estimular tanto a produção de anticorpos neutralizantes quanto respostas robustas do sistema

imunológico mediadas pelas células T. Além disso, é sugerido que, para o desenvolvimento de vacinas futuras, outras proteínas, além da proteína *spike*, sejam consideradas para induzir uma ampla cobertura de epítomos, de maneira semelhante ao que ocorre durante a infecção natural pelo vírus.

## REFERÊNCIAS

Bergamaschi, L., Mescia, F., Turner, L., Hanson, A. L., Kotagiri, P., Dunmore, B. J., Ruffieux, H., De Sa, A., Huhn, O., Morgan, M. D., Gerber, P. P., Wills, M. R., Baker, S., Calero-Nieto, F. J., Doffinger, R., Dougan, G., Elmer, A., Goodfellow, I. G., Gupta, R. K., ... Smith, K. G. C. (2021). Longitudinal analysis reveals that delayed bystander CD8+ T cell activation and early immune pathology distinguish severe COVID-19 from mild disease. *Immunity*, 54(6), 1257-1275.e8. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2021.05.010>

Bertoletti, A., Le Bert, N., & Tan, A. T. (2022). SARS-CoV-2-specific T cells in the changing landscape of the COVID-19 pandemic. *Immunity*, 55(10), 1764–1778. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2022.08.008>

Chen, G., Wu, D., Guo, W., Cao, Y., Huang, D., Wang, H., Wang, T., Zhang, X., Chen, H., Yu, H., Zhang, X., Zhang, M., Wu, S., Song, J., Chen, T., Han, M., Li, S., Luo, X., Zhao, J., & Ning, Q. (2020). Clinical and immunological features of severe and moderate coronavirus disease 2019. *Journal of Clinical Investigation*, 130(5), 2620–2629. <https://doi.org/10.1172/JCI137244>

Diao, B., Wang, C., Tan, Y., Chen, X., Liu, Y., Ning, L., Chen, L., Li, M., Liu, Y., Wang, G., Yuan, Z., Feng, Z., Zhang, Y., Wu, Y., & Chen, Y. (2020). Reduction and Functional Exhaustion of T Cells in Patients with Coronavirus Disease 2019 (COVID-19). *Frontiers in Immunology*, 11. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.00827>

Du, J., Wei, L., Li, G., Hua, M., Sun, Y., Wang, D., Han, K., Yan, Y., Song, C., Song, R., Zhang, H., Han, J., Liu, J., & Kong, Y. (2021a). Persistent High Percentage of HLA-DR+CD38high CD8+ T Cells Associated with Immune Disorder and Disease Severity of COVID-19. *Frontiers in Immunology*, 12. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.735125>

Du, J., Wei, L., Li, G., Hua, M., Sun, Y., Wang, D., Han, K., Yan, Y., Song, C., Song, R., Zhang, H., Han, J., Liu, J., & Kong, Y. (2021b). Persistent High Percentage of HLA-DR+CD38high CD8+ T Cells Associated with Immune Disorder and Disease Severity of COVID-19. *Frontiers in Immunology*, 12. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.735125>

Gauchotte, G., Venard, V., Segondy, M., Cadoz, C., Esposito-Fava, A., Barraud, D., & Louis, G. (2021). SARS-Cov-2 fulminant myocarditis: an autopsy and histopathological case study. *International Journal of Legal Medicine*, 135(2), 577–581. <https://doi.org/10.1007/s00414-020-02500-z>

Jung, S., Jung, J. H., Noh, J. Y., Kim, W.-J., Yoon, S.-Y., Jung, J., Kim, E. S., Kim, H. Bin, Cheong, H. J., Kim, W. J., Park, S.-H., Song, K.-H., Song, J. Y., & Shin, E.-C. (2022). The generation of stem cell-like memory cells early after BNT162b2 vaccination is associated with durability of memory CD8+ T cell responses. *Cell Reports*, 40(4), 111138. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2022.111138>

- Khoury, D. S., Cromer, D., Reynaldi, A., Schlub, T. E., Wheatley, A. K., Juno, J. A., Subbarao, K., Kent, S. J., Triccas, J. A., & Davenport, M. P. (2021). Neutralizing antibody levels are highly predictive of immune protection from symptomatic SARS-CoV-2 infection. *Nature Medicine*, 27(7), 1205–1211. <https://doi.org/10.1038/s41591-021-01377-8>
- Kingstad-Bakke, B., Lee, W., Chandrasekar, S. S., Gasper, D. J., Salas-Quinchucua, C., Clevlen, T., Sullivan, J. A., Talaat, A., Osorio, J. E., & Suresh, M. (2022). Vaccine-induced systemic and mucosal T cell immunity to SARS-CoV-2 viral variants. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 119(20). <https://doi.org/10.1073/pnas.2118312119>
- Knudson, C. J., Férrez, M., Alves-Peixoto, P., Erkes, D. A., Melo-Silva, C. R., Tang, L., Snyder, C. M., & Sigal, L. J. (2021). Mechanisms of Antiviral Cytotoxic CD4 T Cell Differentiation. *Journal of Virology*, 95(19). <https://doi.org/10.1128/jvi.00566-21>
- Liu, L., Wei, Q., Lin, Q., Fang, J., Wang, H., Kwok, H., Tang, H., Nishiura, K., Peng, J., Tan, Z., Wu, T., Cheung, K.-W., Chan, K.-H., Alvarez, X., Qin, C., Lackner, A., Perlman, S., Yuen, K.-Y., & Chen, Z. (2019). Anti-spike IgG causes severe acute lung injury by skewing macrophage responses during acute SARS-CoV infection. *JCI Insight*, 4(4). <https://doi.org/10.1172/jci.insight.123158>
- Liu, R., Wang, Y., Li, J., Han, H., Xia, Z., Liu, F., Wu, K., Yang, L., Liu, X., & Zhu, C. (2020). Decreased T cell populations contribute to the increased severity of COVID-19. *Clinica Chimica Acta*, 508, 110–114. <https://doi.org/10.1016/j.cca.2020.05.019>
- Loyal, L., Braun, J., Henze, L., Kruse, B., Dingeldey, M., Reimer, U., Kern, F., Schwarz, T., Mangold, M., Unger, C., Dörfler, F., Kadler, S., Rosowski, J., Gürcan, K., Uyar-Aydin, Z., Frentsch, M., Kurth, F., Schnatbaum, K., Eckey, M., ... Giesecke-Thiel, C. (2021). Cross-reactive CD4+ T cells enhance SARS-CoV-2 immune responses upon infection and vaccination. *Science*, 374(6564). <https://doi.org/10.1126/science.abh1823>
- Lucas, C., Wong, P., Klein, J., Castro, T. B. R., Silva, J., Sundaram, M., Ellingson, M. K., Mao, T., Oh, J. E., Israelow, B., Takahashi, T., Tokuyama, M., Lu, P., Venkataraman, A., Park, A., Mohanty, S., Wang, H., Wyllie, A. L., Vogels, C. B. F., ... Iwasaki, A. (2020). Longitudinal analyses reveal immunological misfiring in severe COVID-19. *Nature*, 584(7821), 463–469. <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2588-y>
- Maurice, N. J., Taber, A. K., & Prlc, M. (2021). The Ugly Duckling Turned to Swan: A Change in Perception of Bystander-Activated Memory CD8 T Cells. *The Journal of Immunology*, 206(3), 455–462. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.2000937>
- Moss, P. (2022). The T cell immune response against SARS-CoV-2. In *Nature Immunology* (Vol. 23, Issue 2, pp. 186–193). Nature Research. <https://doi.org/10.1038/s41590-021-01122-w>
- Nam, H., Koh, J.-Y., Jung, J. H., Jeong, H., Jeong, H. W., Cheon, S., Park, S.-H., Kim, Y.-S., & Shin, E.-C. (2023). Distinctive Dynamics and Functions of the CD4+CD25+FOXP3+ Regulatory T Cell Population in Patients with Severe and Mild COVID-19. *The Journal of Immunology*, 210(11), 1687–1699. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.2200290>
- Nelson, R. W., Chen, Y., Venezia, O. L., Majerus, R. M., Shin, D. S., Carrington, M. N., Yu, X. G., Wesemann, D. R., Moon, J. J., & Luster, A. D. (2022). SARS-CoV-2 epitope-specific CD4 + memory T cell responses across COVID-19 disease severity and antibody durability. *Science Immunology*, 7(73). <https://doi.org/10.1126/sciimmunol.abl9464>

- Nienhold, R., Ciani, Y., Koelzer, V. H., Tzankov, A., Haslbauer, J. D., Menter, T., Schwab, N., Henkel, M., Frank, A., Zsikla, V., Willi, N., Kempf, W., Hoyler, T., Barbareschi, M., Moch, H., Tolnay, M., Cathomas, G., Demichelis, F., Junt, T., & Mertz, K. D. (2020). Two distinct immunopathological profiles in autopsy lungs of COVID-19. *Nature Communications*, 11(1), 5086. <https://doi.org/10.1038/s41467-020-18854-2>
- Notarbartolo, S., Ranzani, V., Bandera, A., Gruarin, P., Bevilacqua, V., Putignano, A. R., Gobbin, A., Galeota, E., Manara, C., Bombaci, M., Pesce, E., Zagato, E., Favalli, A., Sarnicola, M. L., Curti, S., Crosti, M., Martinovic, M., Fabbris, T., Marini, F., ... Abrignani, S. (2021). Integrated longitudinal immunophenotypic, transcriptional, and repertoire analyses delineate immune responses in patients with COVID-19. *Science Immunology*, 6(62). <https://doi.org/10.1126/sciimmunol.abg5021>
- Oberhardt, V., Luxenburger, H., Kemming, J., Schulien, I., Ciminski, K., Giese, S., Csernalabics, B., Lang-Meli, J., Janowska, I., Staniek, J., Wild, K., Basha, K., Marinescu, M. S., Fuchs, J., Topfstedt, F., Janda, A., Sogukpinar, O., Hilger, H., Stete, K., ... Hofmann, M. (2021). Rapid and stable mobilization of CD8+ T cells by SARS-CoV-2 mRNA vaccine. *Nature*, 597(7875), 268–273. <https://doi.org/10.1038/s41586-021-03841-4>
- Oja, A. E., Saris, A., Ghandour, C. A., Kragten, N. A. M., Hogema, B. M., Nossent, E. J., Heunks, L. M. A., Cuvalay, S., Slot, E., Linty, F., Swaneveld, F. H., Vrieling, H., Vidarsson, G., Rispen, T., Schoot, E., Lier, R. A. W., Ten Brinke, A., & Hombrink, P. (2020). Divergent SARS-CoV-2-specific T- and B-cell responses in severe but not mild COVID-19 patients. *European Journal of Immunology*, 50(12), 1998–2012. <https://doi.org/10.1002/eji.202048908>
- Peng, Y., Felce, S. L., Dong, D., Penkava, F., Mentzer, A. J., Yao, X., Liu, G., Yin, Z., Chen, J.-L., Lu, Y., Wellington, D., Wing, P. A. C., Dominey-Foy, D. C. C., Jin, C., Wang, W., Hamid, M. A., Fernandes, R. A., Wang, B., Fries, A., ... Dong, T. (2022). An immunodominant NP105–113-B\*07:02 cytotoxic T cell response controls viral replication and is associated with less severe COVID-19 disease. *Nature Immunology*, 23(1), 50–61. <https://doi.org/10.1038/s41590-021-01084-z>
- Peng, Y., Mentzer, A. J., Liu, G., Yao, X., Yin, Z., Dong, D., Dejnirattisai, W., Rostron, T., Supasa, P., Liu, C., López-Camacho, C., Slon-Campos, J., Zhao, Y., Stuart, D. I., Paesen, G. C., Grimes, J. M., Antson, A. A., Bayfield, O. W., Hawkins, D. E. D. P., ... Dong, T. (2020). Broad and strong memory CD4+ and CD8+ T cells induced by SARS-CoV-2 in UK convalescent individuals following COVID-19. *Nature Immunology*, 21(11), 1336–1345. <https://doi.org/10.1038/s41590-020-0782-6>
- Qin, C., Zhou, L., Hu, Z., Zhang, S., Yang, S., Tao, Y., Xie, C., Ma, K., Shang, K., Wang, W., & Tian, D.-S. (2020). Dysregulation of Immune Response in Patients With Coronavirus 2019 (COVID-19) in Wuhan, China. *Clinical Infectious Diseases*, 71(15), 762–768. <https://doi.org/10.1093/cid/ciaa248>
- Rezaei, M., Marjani, M., Mahmoudi, S., Mortaz, E., & Mansouri, D. (2021). Dynamic Changes of Lymphocyte Subsets in the Course of COVID-19. *International Archives of Allergy and Immunology*, 182(3), 254–262. <https://doi.org/10.1159/000514202>
- Rha, M.-S., Jeong, H. W., Ko, J.-H., Choi, S. J., Seo, I.-H., Lee, J. S., Sa, M., Kim, A. R., Joo, E.-J., Ahn, J. Y., Kim, J. H., Song, K.-H., Kim, E. S., Oh, D. H., Ahn, M. Y., Choi, H. K., Jeon, J. H., Choi, J.-P., Kim, H. Bin, ... Shin, E.-C. (2021). PD-1-Expressing SARS-CoV-2-Specific CD8+ T Cells Are Not Exhausted, but Functional in Patients with COVID-19. *Immunity*, 54(1), 44–52.e3. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2020.12.002>

Rodda, L. B., Netland, J., Shehata, L., Pruner, K. B., Morawski, P. A., Thouvenel, C. D., Takehara, K. K., Eggenberger, J., Hemann, E. A., Waterman, H. R., Fahning, M. L., Chen, Y., Hale, M., Rathe, J., Stokes, C., Wrenn, S., Fiala, B., Carter, L., Hamerman, J. A., ... Pepper, M. (2021). Functional SARS-CoV-2-Specific Immune Memory Persists after Mild COVID-19. *Cell*, 184(1), 169-183.e17. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.11.029>

Rydzynski Moderbacher, C., Ramirez, S. I., Dan, J. M., Grifoni, A., Hastie, K. M., Weiskopf, D., Belanger, S., Abbott, R. K., Kim, C., Choi, J., Kato, Y., Crotty, E. G., Kim, C., Rawlings, S. A., Mateus, J., Tse, L. P. V., Frazier, A., Baric, R., Peters, B., ... Crotty, S. (2020). Antigen-Specific Adaptive Immunity to SARS-CoV-2 in Acute COVID-19 and Associations with Age and Disease Severity. *Cell*, 183(4), 996-1012.e19. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.09.038>

Sahin, U., Muik, A., Vogler, I., Derhovanessian, E., Kranz, L. M., Vormehr, M., Quandt, J., Bidmon, N., Ulges, A., Baum, A., Pascal, K. E., Maurus, D., Brachtendorf, S., Lörks, V., Sikorski, J., Koch, P., Hilker, R., Becker, D., Eller, A.-K., ... Türeci, Ö. (2021). BNT162b2 vaccine induces neutralizing antibodies and poly-specific T cells in humans. *Nature*, 595(7868), 572–577. <https://doi.org/10.1038/s41586-021-03653-6>

Schenkel, J. M., Fraser, K. A., Vezys, V., & Masopust, D. (2013). Sensing and alarm function of resident memory CD8+ T cells. *Nature Immunology*, 14(5), 509–513. <https://doi.org/10.1038/ni.2568>

Sekine, T., Perez-Potti, A., Rivera-Ballesteros, O., Strålin, K., Gorin, J.-B., Olsson, A., Llewellyn-Lacey, S., Kamal, H., Bogdanovic, G., Muschiol, S., Wullimann, D. J., Kammann, T., Emgård, J., Parrot, T., Folkesson, E., Rooyackers, O., Eriksson, L. I., Henter, J.-I., Sönnnerborg, A., ... Unge, C. (2020a). Robust T Cell Immunity in Convalescent Individuals with Asymptomatic or Mild COVID-19. *Cell*, 183(1), 158-168.e14. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.08.017>

Sekine, T., Perez-Potti, A., Rivera-Ballesteros, O., Strålin, K., Gorin, J.-B., Olsson, A., Llewellyn-Lacey, S., Kamal, H., Bogdanovic, G., Muschiol, S., Wullimann, D. J., Kammann, T., Emgård, J., Parrot, T., Folkesson, E., Rooyackers, O., Eriksson, L. I., Henter, J.-I., Sönnnerborg, A., ... Unge, C. (2020b). Robust T Cell Immunity in Convalescent Individuals with Asymptomatic or Mild COVID-19. *Cell*, 183(1), 158-168.e14. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.08.017>

Skelly, D. T., Harding, A. C., Gilbert-Jaramillo, J., Knight, M. L., Longet, S., Brown, A., Adele, S., Adland, E., Brown, H., Chinnakannan, S., Donnison, T., Ali, M., Rongkard, P., Pace, M., Zacharopoulou, P., Robinson, N., Csala, A., De Lara, C., Hutchings, C. L., ... James, W. S. (2021). Two doses of SARS-CoV-2 vaccination induce robust immune responses to emerging SARS-CoV-2 variants of concern. *Nature Communications*, 12(1), 5061. <https://doi.org/10.1038/s41467-021-25167-5>

Sun, P., Ramos, I., Coelho, C. H., Grifoni, A., Balinsky, C. A., Vangeti, S., Tarke, A., Bloom, N. I., Jani, V., Jakubski, S. J., Boulifard, D. A., Cooper, E., Goforth, C. W., Marayag, J., Marrone, A., Nunez, E., White, L., Porter, C. K., Sugiharto, V. A., ... Letizia, A. G. (2022). Asymptomatic or symptomatic SARS-CoV-2 infection plus vaccination confers increased adaptive immunity to variants of concern. *IScience*, 25(10), 105202. <https://doi.org/10.1016/j.isci.2022.105202>

Szabo, P. A., Dogra, P., Gray, J. I., Wells, S. B., Connors, T. J., Weisberg, S. P., Krupska, I., Matsumoto, R., Poon, M. M. L., Idzikowski, E., Morris, S. E., Pasin, C., Yates, A. J., Ku, A., Chait, M., Davis-Porada, J., Guo, X. V., Zhou, J., Steinle, M., ... Farber, D. L. (2021). Longitudinal profiling of respiratory and systemic immune responses reveals myeloid cell-driven lung inflammation in severe COVID-19. *Immunity*, 54(4), 797-814.e6. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2021.03.005>

- Taus, E., Hofmann, C., Ibarondo, F. J., Gong, L. S., Hausner, M. A., Fulcher, J. A., Krogstad, P., Kitchen, S. G., Ferbas, K. G., Tobin, N. H., Rimoim, A. W., Aldrovandi, G. M., & Yang, O. O. (2023). Persistent memory despite rapid contraction of circulating T Cell responses to SARS-CoV-2 mRNA vaccination. *Frontiers in Immunology*, 14. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2023.1100594>.
- Tavukcuoglu, E., Horzum, U., Cagkan Inkaya, A., Unal, S., & Esendagli, G. (2021). Functional responsiveness of memory T cells from COVID-19 patients. *Cellular Immunology*, 365, 104363. <https://doi.org/10.1016/j.cellimm.2021.104363>.
- Tregoning, J. S., Flight, K. E., Higham, S. L., Wang, Z., & Pierce, B. F. (2021). Progress of the COVID-19 vaccine effort: viruses, vaccines and variants versus efficacy, effectiveness and escape. *Nature Reviews Immunology*, 21(10), 626–636. <https://doi.org/10.1038/s41577-021-00592-1>
- Van der Ploeg, K., Kiroosingh, A. S., Mori, D. A. M., Chakraborty, S., Hu, Z., Sievers, B. L., Jacobson, K. B., Bonilla, H., Parsonnet, J., Andrews, J. R., Press, K. D., Ty, M. C., Ruiz-Betancourt, D. R., de la Parte, L., Tan, G. S., Blish, C. A., Takahashi, S., Rodriguez-Barraquer, I., Greenhouse, B., ... Jagannathan, P. (2022). TNF- $\alpha$  CD4+ T cells dominate the SARS-CoV-2 specific T cell response in COVID-19 outpatients and are associated with durable antibodies. *Cell Reports Medicine*, 3(6). <https://doi.org/10.1016/j.xcrm.2022.100640>
- Vardhana, S., Baldo, L., Morice, W. G., & Wherry, E. J. (2022). Understanding T cell responses to COVID-19 is essential for informing public health strategies. *Science Immunology*, 7(71). <https://doi.org/10.1126/sciimmunol.abo1303>
- Wang, J., Jiang, M., Chen, X., & Montaner, L. J. (2020). Cytokine storm and leukocyte changes in mild versus severe SARS-CoV-2 infection: Review of 3939 COVID-19 patients in China and emerging pathogenesis and therapy concepts. *Journal of Leukocyte Biology*, 108(1), 17–41. <https://doi.org/10.1002/JLB.3COVR0520-272R>
- Wang, M.-Y., Zhao, R., Gao, L.-J., Gao, X.-F., Wang, D.-P., & Cao, J.-M. (2020). SARS-CoV-2: Structure, Biology, and Structure-Based Therapeutics Development. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 10. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2020.587269>
- Wang, X., Yuen, T. T.-T., Dou, Y., Hu, J., Li, R., Zeng, Z., Lin, X., Gong, H., Chan, C. H.-C., Yoon, C., Shuai, H., Ho, D. T.-Y., Hung, I. F.-N., Zhang, B.-Z., Chu, H., & Huang, J.-D. (2023). Vaccine-induced protection against SARS-CoV-2 requires IFN- $\gamma$ -driven cellular immune response. *Nature Communications*, 14(1), 3440. <https://doi.org/10.1038/s41467-023-39096-y>
- Wang, Z., Yang, X., Zhong, J., Zhou, Y., Tang, Z., Zhou, H., He, J., Mei, X., Tang, Y., Lin, B., Chen, Z., McCluskey, J., Yang, J., Corbett, A. J., & Ran, P. (2021). Exposure to SARS-CoV-2 generates T-cell memory in the absence of a detectable viral infection. *Nature Communications*, 12(1), 1724. <https://doi.org/10.1038/s41467-021-22036-z>
- Wang, Z., Zhu, L., Nguyen, T. H. O., Wan, Y., Sant, S., Quiñones-Parra, S. M., Crawford, J. C., Eltahla, A. A., Rizzetto, S., Bull, R. A., Qiu, C., Koutsakos, M., Clemens, E. B., Loh, L., Chen, T., Liu, L., Cao, P., Ren, Y., Kedzierski, L., ... Kedzierska, K. (2018). Clonally diverse CD38+HLA-DR+CD8+ T cells persist during fatal H7N9 disease. *Nature Communications*, 9(1), 824. <https://doi.org/10.1038/s41467-018-03243-7>
- Wherry, E. J., & Ahmed, R. (2004). Memory CD8 T-Cell Differentiation during Viral Infection. *Journal of Virology*, 78(11), 5535–5545. <https://doi.org/10.1128/JVI.78.11.5535-5545.2004>



Wu, D., & Yang, X. O. (2020). TH17 responses in cytokine storm of COVID-19: An emerging target of JAK2 inhibitor Fedratinib. *Journal of Microbiology, Immunology and Infection*, 53(3), 368–370. <https://doi.org/10.1016/j.jmii.2020.03.005>

Zhang, Q., Bastard, P., Liu, Z., Le Pen, J., Moncada-Velez, M., Chen, J., Ogishi, M., Sabli, I. K. D., Hodeib, S., Korol, C., Rosain, J., Bilguvar, K., Ye, J., Bolze, A., Bigio, B., Yang, R., Arias, A. A., Zhou, Q., Zhang, Y., ... Zhang, X. (2020). Inborn errors of type I IFN immunity in patients with life-threatening COVID-19. *Science*, 370(6515). <https://doi.org/10.1126/science.abd4570>

Zhao, J., Zhao, J., Mangalam, A. K., Channappanavar, R., Fett, C., Meyerholz, D. K., Agnihothram, S., Baric, R. S., David, C. S., & Perlman, S. (2016). Airway Memory CD4 + T Cells Mediate Protective Immunity against Emerging Respiratory Coronaviruses. *Immunity*, 44(6), 1379–1391. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2016.05.006>

Zhao, Y., Kilian, C., Turner, J.-E., Bosurgi, L., Roedl, K., Bartsch, P., Gnirck, A.-C., Cortesi, F., Schultheiß, C., Hellmig, M., Enk, L. U. B., Hausmann, F., Borchers, A., Wong, M. N., Paust, H.-J., Siracusa, F., Scheibel, N., Herrmann, M., Rosati, E., ... Krebs, C. F. (2021). Clonal expansion and activation of tissue-resident memory-like T H 17 cells expressing GM-CSF in the lungs of patients with severe COVID-19. *Science Immunology*, 6(56). <https://doi.org/10.1126/sciimmunol.abf6692>

Zuin, J., Fogar, P., Musso, G., Padoan, A., Piva, E., Pelloso, M., Tosato, F., Cattelan, A., Basso, D., & Plebani, M. (2022). T Cell Senescence by Extensive Phenotyping: An Emerging Feature of COVID-19 Severity. *Laboratory Medicine*, 53(6), 609–613. <https://doi.org/10.1093/labmed/lmac048>.

# Vacinação em pessoas vivendo com HIV/AIDS: uma revisão integrativa

## *Vaccination in people living with HIV/AIDS: an integrative review*

Vitória Carneiro Dutra

Deysianne Oliveira Brandão

Arthur Gomes de Andrade

Fernando César Comberlang

Luiz Henrique Agra Cavalcante-Silva

### RESUMO

A infecção pelo HIV é um problema de saúde de pública, pois se trata de uma infecção que deixa o indivíduo imunossuprimido, ou seja, susceptível a outras infecções. A imunização das pessoas vivendo com HIV/AIDS (PVHIV/AIDS) tem sido a maneira mais eficaz para prevenir as diferentes doenças infecciosas. As PVHIV/AIDS tem riscos e benefícios ao aderir as vacinas, sendo os benefícios superiores aos riscos, que são mínimos diante da alta taxa de morbimortalidade nas doenças infecciosas preveníveis por vacinas. Nesse contexto, o presente trabalho trata-se de uma revisão integrativa acerca da resposta vacinal de pessoas adultas PVHIV/AIDS, a fim de trazer mais evidências de eficácia e segurança sobre a imunização desses pacientes. Após a busca nas diferentes bases de dados, obteve-se um total de 1144 artigos através da base PubMed, 6 artigos através da base LILACS e 1108 na BVS. Após aplicação dos critérios de inclusão e exclusão, chegou-se ao total de 24 artigos. Essa revisão integrativa apresentou dados sobre imunoprevenção contra seis infecções importantes em PVHIV, são elas: febre amarela, herpes zoster, influenza, infecção pelo HPV, hepatite B e infecção por pneumococo. Baseado nos achados dessa revisão integrativa, pode-se observar que a uma boa resposta vacinal dos pacientes adultos vivendo com HIV/AIDS, para as doenças imunopreveníveis abordadas, está frequentemente associada ao controle da carga viral e ao número de células T CD4+. Além disso, em geral, os estudos não apresentaram risco aumentado de efeitos adversos para as vacinas utilizadas, garantindo segurança ao paciente.

**Palavras-chave:** vacinas. imunização. imunossuprimidos.



## ABSTRACT

HIV infection is a public health problem, as it is an infection that leaves the individual immunosuppressed, that is, susceptible to other infections. The immunization of people living with HIV/AIDS (PLHIV/AIDS) has been the most effective way to prevent different infectious diseases. PLHIV/AIDS have risks and benefits when adhering to vaccines, the benefits being greater than the risks, which are minimal given the high morbidity and mortality rate in vaccine-preventable infectious diseases. In this context, the present work is an integrative review about the vaccine response of adults with PLHIV/AIDS, to bring more evidence of efficacy and safety on the immunization of these patients. After searching the different databases, a total of 1144 articles were obtained through the PubMed base, 6 articles through the LILACS base and 1108 through the VHL. After applying the inclusion and exclusion criteria, a total of 24 articles was reached. This integrative review presented data on immunoprevention against six major infections in PLHIV, namely: yellow fever, herpes zoster, influenza, HPV infection, hepatitis B, and pneumococcus infection. Based on the findings of this integrative review, it can be observed that a good vaccine response of adult patients living with HIV/AIDS, for the vaccine-preventable diseases addressed, is often associated with the control of viral load and the number of CD4+ T cells. Furthermore, in general, the studies did not show an increased risk of adverse effects for the vaccines used, ensuring patient safety.

**Keywords:** vaccines. immunization. immunosuppressed.

## INTRODUÇÃO

O HIV é um retrovírus que causa imunodeficiência nos hospedeiros, levando à síndrome da imunodeficiência adquirida (AIDS). O vírus infecta células CD4+, incluindo os linfócitos T auxiliares CD4+, que desempenham um papel importante no sistema imunológico. Pacientes com HIV que progridem para AIDS podem desenvolver infecções oportunistas e neoplasias. A terapia antirretroviral é usada para tratar a infecção e evitar a progressão grave da doença (DOMINGUEZ FILHO *et al.*, 2021).

No Brasil, a transmissão sexual é a principal via de infecção por HIV, seguida pela via sanguínea e de transmissão vertical. O Sudeste é a região com maior quantidade de casos notificados, mas a região Norte apresenta o maior percentual de transmissão sexual entre homens. Entre as mulheres, as regiões Centro-Oeste e Norte têm a maior prevalência de transmissão sexual (BRASIL, 2020).

A meta da ONU é a 90-90-90, que visa identificar 90% das pessoas vivendo com HIV, proporcionar tratamento para 90% desses indivíduos e alcançar a supressão viral em 90% deles. Globalmente, parte da meta foi alcançada, mas no Brasil, essas metas ainda estão abaixo da média global (CELUM; BARNABAS, 2019; UNAIDS, 2021).

A imunização de pessoas vivendo com HIV/AIDS (PVHIV/AINDA) é crucial para prevenir doenças infecciosas oportunistas. A baixa adesão à vacinação entre esses pacientes está associada à falta de orientação e à distância dos locais de distribuição das vacinas. No entanto, a vacinação é considerada segura e benéfica, proporcionando proteção contra infecções preveníveis (CUNHA *et al.*, 2016). Assim, o presente trabalho teve como objetivo analisar os dados mais recentes sobre a vacinação de PVHIV/AIDS, buscando evidências da eficácia e segurança das vacinas para esses pacientes.

## METODOLOGIA

### Tipo de estudo

Trata-se de uma revisão integrativa acerca da resposta vacinal de pessoas adultas PVHIV/AIDS.

### Procedimentos para realização da revisão

Inicialmente, foi definido a pergunta orientadora a ser respondida: qual a resposta vacinal de pacientes adultos vivendo com HIV/AIDS aos diferentes tipos de vacinas? Após a definição da pergunta, foi realizada uma busca em diferentes bases de dados.

As buscas foram realizadas na base de dados Biblioteca Virtual em Saúde (BVS) (período da busca: 16-20 de agosto de 2021), Literatura Latino-Americana e do Caribe em Ciências da Saúde (LILACS) (período da busca: 16 de agosto) e PubMed (período da busca: 19-25 de agosto de 2021). Foram utilizados os seguintes descritores: “vacinação” and “HIV/AIDS”; “vaccination” and “HIV/AIDS”; “people living with HIV/AIDS”; “PLWH”; “HIV-infected”.

Os filtros aplicados nas bases de dados foram: artigos publicados nos últimos 5 anos, disponíveis na íntegra, nos idiomas português, inglês e espanhol. No PubMed, utilizou-se o filtro humanos.

Após a obtenção dos artigos, foram aplicados os critérios de inclusão e exclusão, descritos a seguir:

- Critérios de inclusão: estudos com indivíduos adultos acima de 18 anos; estudos com dados; estudos que respondessem à pergunta norteadora.
- Critérios de exclusão: estudos não disponíveis na íntegra; estudos com indivíduos adultos abaixo de 18 anos; artigos de revisão, comentários ou recomendações; estudos duplicados.

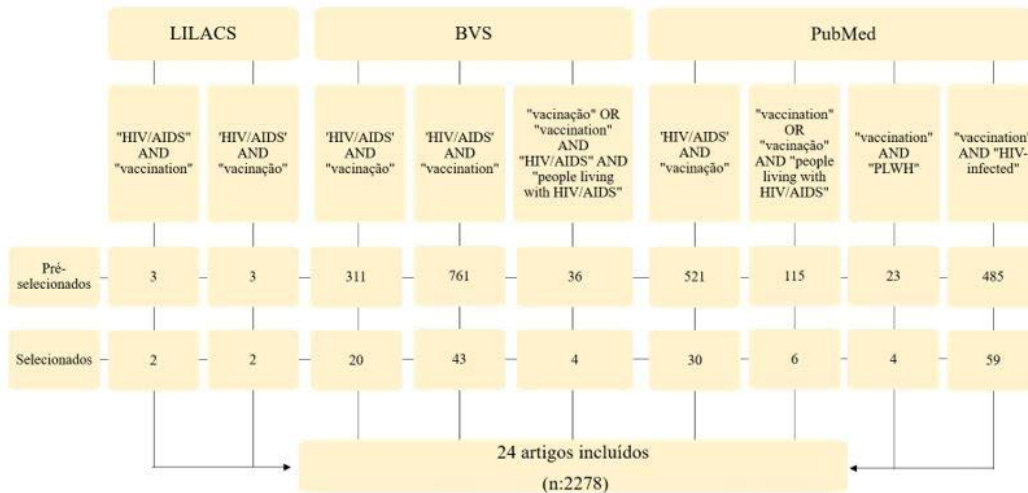
Em seguida, após a aplicação dos critérios acima mencionados, foi realizada a leitura dos trabalhos com a finalidade de registrar os principais resultados que respondem à pergunta norteadora da revisão. Os dados foram compilados em tabelas de acordo com cada doença imunoprevenível.

## RESULTADOS E DISCUSSÕES

A vacinação é uma ferramenta importante na saúde pública para controle/eliminação/erradicação de doenças imunopreveníveis. Sabe-se que fatores individuais, como idade, gestação e amamentação, podem influenciar a resposta imunológica dos pacientes aos diferentes tipos de vacinas. Dentre essas variações individuais, encontram-se as imunodeficiências – congênitas ou adquiridas. Pessoas desse grupo podem apresentar diferentes respostas de efetividade e de reações adversas às vacinas, sendo passíveis para cada imunodeficiência substituições, indicações, contraindicações ou adiamento da indicação de algum imunobiológico (BRASIL, 2014). Nesse sentido, o presente trabalho revisou a resposta vacinal dos pacientes adultos vivendo com HIV/AIDS (PVHIV/AIDS).

Após a busca nas diferentes bases de dados, obteve-se um total de 1144 artigos através da base PubMed, 6 artigos através da base LILACS e 1108 na BVS, totalizando uma amostra de 2278 artigos. Foi realizada uma pré-seleção em seguida. Com aplicação dos critérios de inclusão e exclusão, chegou-se ao total de 24 artigos, como mostra o Fluxograma 1. Os resultados foram separados por grupos de doenças imunopreveníveis e são abordados a seguir.

**Fluxograma 1 - Seleção dos artigos de acordo com as bases de dados utilizadas.**



## Febre amarela

A febre amarela é uma doença viral transmitida através do *Aedes aegypti*, o mesmo vetor da dengue. A doença caracteriza-se por febre alta, mal-estar, vômitos, diarreias, cansaço e outros sintomas. Os países com maiores taxas de endemias são os do continente Africano e os países da América do Sul, com sazonalidade predominante nos meses de janeiro a abril (SANTOS; ROMANOS; WIGG, 2015). A vacina para a febre amarela é composta por vírus atenuados derivados de uma linhagem 17 DD. Em PVHIV/AIDS, estudos indicam que essa vacina pode ser utilizada em pacientes assintomáticos com idade inferior a 60 anos, com contagem de células T CD4+ acima de 350 células/mm<sup>3</sup> apenas em casos de exposição iminente e urgente. Em casos de viagens para regiões endêmicas, a vacina deverá ser administrada com a antecedência de 2 semanas (PIÑERA *et al.*, 2021).

O Quadro 1 apresenta o resultado obtido nesta revisão para vacinação contra febre amarela em PVHIV, tendo restado apenas um artigo após a seleção descrita na metodologia. Como se pode observar, o estudo aponta uma redução da imunogenicidade após um ano da vacinação, sem apresentar efeitos adversos mais aparentes. Essa redução da imunogenicidade pode estar associada à disfunção das células do sistema imunológico, como linfócitos T e B, além de um maior estado inflamatório nesses pacientes (KLATT *et al.*, 2013).

**Quadro 1 - Artigo referente à vacinação contra a febre amarela.**

ARTIGO	AUTORES	CONSIDERAÇÕES
CD4/CD8 Ratio and KT Ratio Predict Yellow Fever Vaccine Immunogenicity in HIV-Infected Patients	Avelino-silva et al., 2016	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Participantes: pacientes infectados pelo HIV com uma contagem de células TCD4+ acima de 350/mm<sup>3</sup> com níveis detectáveis e indetectáveis de carga viral em uso de TARV.</li> <li>- Os pacientes foram acompanhados nos dias 3, 5, 7, 14, 28, 56, 84 e 365 após a vacinação</li> <li>- A relação quinurenina / triptofano (KT) plasmática mais alta indica um quadro de baixos títulos de anticorpos neutralizantes (Nab) para a vacina de febre amarela; também está relacionado com a baixa razão CD4/CD8 em indivíduos com supressão de TARV;</li> <li>- Após um ano da vacinação da febre amarela (FA), foi visto que em pacientes vivendo com HIV houve uma diminuição dos Nab, ou seja, menor imunogenicidade para paciente com HIV, CV detectável, relação KT elevada e razão CD4/CD8 baixa;</li> <li>- Houve uma associação entre os pacientes com carga viral detectável e indetectável: menos 60% de anticorpos neutralizantes nos pacientes com carga viral detectável.</li> <li>- Uma dose de reforço poderia ser benéfica para os pacientes com HIV em risco permanente ou recorrente</li> </ul>

## Herpes zóster

A varicela e o herpes zóster, conhecidos como catapora e cobreiro, respectivamente, são causados pela varicela-zóster vírus (VZV). A varicela geralmente acontece na primeira infância como catapora, enquanto o herpes zóster se apresenta como uma reativação do vírus que estava em estado latente (AYOADE; KUMAR, 2021). A idade avançada e a imunossupressão são fatores para reativar o vírus. Por isso, após a introdução da terapia antirretroviral e consequente melhora na função imunológica do paciente, houve um declínio na incidência de herpes em pacientes com HIV. A necessidade da vacina (vírus atenuado) se dá pela gravidade dos sintomas que prevalecem no indivíduo imunossuprimido, como neuralgia pós-herpética, superinfecção bacteriana, envolvimento ocular e meningoencefalite (HAWKINS *et al.*, 2018; POMERANTZ *et al.*, 2018). O Quadro 2 apresenta o único artigo incluído neste estudo.

No Quadro 2, observa-se o estudo de Hawkins e colaboradores (2018) sobre os efeitos da vacinação contra herpes zóster. Os efeitos positivos dessa vacina em PVHIV reforça a importância da proteção contra essa doença, podendo-se sugerir também pesquisas com vacinas de vírus inativado ou outra plataforma tecnológica com maior segurança para pacientes imunossuprimidos.

**Quadro 2 - Artigos referentes à vacinação contra a herpes zoster.**

ARTIGO	AUTORES	CONSIDERAÇÕES
Herpes Zoster and Herpes Zoster Vaccine Rates Among Adults Living With and Without HIV in the Veterans Aging Cohort Study	Hawkins <i>et al.</i> , 2018	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Participantes: pacientes infectados pelo HIV com <math>\geq 50</math> anos acompanhados de 2002 a 2015. Apenas 49,9% das PVHA estavam em uso de TARV;</li> <li>- Ao longo do estudo houve um aumento na contagem média de células CD4+ nos indivíduos e aumento da porcentagem de PVHIV em uso da TARV.</li> <li>- As taxas de herpes zóster diminuíram entre PVHIV, porém continuaram mais altas em comparação com adultos não infectados.</li> <li>- Houve uma maior taxa de herpes zóster em PVHIV que tiveram o número de células CD4+ <math>&lt; 200</math> células/<math>\mu</math>L e RNA não suprimido do que em PVHIV com células CD4+ <math>&gt; 500</math> células/<math>\mu</math>L e RNA suprimido, indicando que houve uma melhor resposta imunológica no segundo grupo.</li> <li>- PVHIV com supressão virológica, contagem de CD4+ <math>&gt; 350</math> células/<math>\mu</math>L e com idade <math>&lt; 60</math> e <math>\geq 60</math> em 2015 tiveram taxas de herpes zóster semelhantes.</li> </ul>

## Influenza

O vírus da influenza tem alta prevalência em pacientes com HIV e os riscos de complicações e mortes são altos. A transmissão do vírus influenza acontece por meio de aerossóis advindos, pelo contato com fômites e por contato com superfícies contaminadas, sendo esse vírus responsável por várias pandemias, como a gripe espanhola em 1918. Apesar de a introdução do TARV promover uma restauração das células TCD4+ e prolongar a expectativa de vida, o risco de infecções por influenza permanece maior no paciente com HIV do que no paciente saudável (SANTOS; ROMANOS; WIGG, 2015; MA *et al.*, 2020). O Quadro 3 traz os trabalhos relacionados à vacinação contra influenza em PVHIV encontrados nesta revisão.

**Quadro 3 - Artigos referentes à vacinação contra o vírus da influenza.**

ARTIGO	AUTORES	CONSIDERAÇÕES
Timing Matters - Influenza Vaccination to HIV-Infected Patients	Glinka; Smith, Johns, (2016).	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Participantes: PVHIV vacinados no período anterior a 1 de setembro e 15 de novembro e posteriormente a esta data nos anos de 2005 a 2013. Logo, foram avaliadas oito temporadas de gripe por influenza.</li> <li>- Na região do estudo, em San Diego, Califórnia, a temporada de gripe tende a durar de setembro a maio com picos em novembro e janeiro.</li> <li>- O termo de vacinação precoce foi atribuído para pacientes que receberam a vacina entre 1° de setembro e 15 de novembro, já o termo de vacinação tardia foi destinado aos que receberam a vacina após o 15 de novembro.</li> <li>- Para os pacientes da vacinação precoce obtiveram uma incidência de influenza ou doença semelhante à influenza de 1,1%, enquanto entre os pacientes da vacinação tardia a incidência foi 0,4%.</li> <li>- Notou-se que quase metade (33 de 70) dos pacientes que adquiriram a gripe ou a doença semelhante à influenza não estavam vacinados.</li> <li>- Concluiu-se que os pacientes vacinados precocemente à temporada de gripe eram mais propensos à influenza ou doenças semelhantes do que os pacientes que se vacinaram tardiamente, tendo em vista que a imunidade protetora diminui com o tempo.</li> <li>- O fato se explica por causa da vacina padrão utilizada que contém uma dose de 15 mcg de antígeno. A vacina produz anticorpos consistentes com soroproteção em 45% dos pacientes com HIV em 4 semanas, mas apenas 16% deles mantêm a soroproteção 20 semanas após a vacinação.</li> <li>- É proposto pelos autores que em novembro, antes do fim da temporada de influenza, haja uma dose de reforço, ou que haja uma vacinação com altas doses ou que se identifique o momento ideal para a vacinação local.</li> </ul>
Impact of aging and HIV infection on serologic response to seasonal influenza vaccination	Pallikkuth <i>et al.</i> (2018).	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Participantes: pacientes HIV+ e HIV- divididos em três grupos por faixa etária como jovens (&lt;40 anos), meia-idade (40-59 anos) e idosos (≥ 60 anos) e em supressão virológica por pelo menos um ano anterior ao estudo</li> <li>- Analisou-se a resposta imunológica em quatro pontos de tempo: T0 (antes da vacinação), T1 (no 7° dia), T2 (nos dias 21-28) e T3 (no mês 5-7) após a única dose da vacina trivalente contra influenza.</li> <li>- No T0, os títulos para todos os antígenos eram de 1:40 em 90-98% dos participantes. Provavelmente, devido a vacinações anteriores ou infecção.</li> <li>- Observou-se que em todos os grupos aconteceu uma ascensão na resposta imunológica desde T0 até o T2 e em seguida ocorreu um declínio em T3.</li> <li>- No geral, os anticorpos para os antígenos B e H1N1 predominaram em toda a resposta à vacina. Enquanto o H3N2 desencadeou uma resposta fraca em todos os pontos de tempo, sendo o responsável por a maioria de casos de influenza em idosos e HIV+ nos últimos anos.</li> <li>- No grupo de jovens, houve uma resposta melhor entre os HIV+ ao anticorpo contra H1N1 do que em HIV-;</li> <li>- Na meia-idade, o antígeno para H1N1 obteve maiores títulos seguido do antígeno B.</li> <li>- Nos idosos HIV+, obtiveram anticorpos para todas as cepas em menor quantidade que o jovem e a meia-idade HIV+.</li> <li>- A vacinação contra influenza de alta potência pode ser considerada para um envelhecimento saudável em PVHIV de todas as idades.</li> <li>- O tempo de uso de TARV em HIV+ e o status sorológico para citomegalovírus não influenciou na resposta de anticorpos.</li> </ul>

ARTIGO	AUTORES	CONSIDERAÇÕES
Increased influenza-specific antibody avidity in HIV-infected women compared with HIV-infected men on antiretroviral therapy	Luo <i>et al.</i> (2019).	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Participantes: homens e mulheres infectados com HIV em TARV e com supressão virológica.</li> <li>-Através do exame de microneutralização (MN) foi medido os títulos de anticorpos neutralizantes, então, notou-se que houve diferenças estatisticamente relevantes desde os níveis basais gerando uma resposta protetora. Quanto aos sexos, não houve diferença significativa.</li> <li>-Mulheres infectadas com HIV tiveram um aumento da avididade de IgG, aumento das células B de memória e no ciclo de células Tfh (Células auxiliares foliculares T periféricas) em comparação com os homens infectados pelo HIV, mas essa diferença não foi observada em relação ao grupo controle.</li> <li>- Não houve diferença entre a frequência de vacinações recebidas anteriormente entre os dois sexos.</li> <li>-Os níveis de lipopolissacarídeos (LPS) no plasma na linha de base estão relacionados positivamente com a avididade do anticorpo, mas essa relação não foi observada entre os indivíduos saudáveis.</li> <li>-Não houve correlações significativas do 17<math>\beta</math>-estrogênio com a avididade do anticorpo para nenhum dos grupos. No entanto, a progesterona correlacionou-se inversamente com a avididade dos anticorpos, porém, não foi observado o mesmo no grupo de controle saudáveis.</li> <li>-O aumento dos níveis da avididade não representa maior grau de proteção contra a influenza, mas pode representar uma resposta mais forte à vacina em mulheres infectadas pelo HIV do que em homens infectados pelo HIV. Por conseguinte, pode haver eventos adversos pós vacinação entre as mulheres.</li> </ul>
Serological response to trivalent inactivated influenza vaccine in HIV-infected adults in Singapore.	Lau <i>et al.</i> (2017).	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Participantes: homens e mulheres infectados com HIV dividido em grupos de respondedores (RV) e não respondedores à vacina (NRV).</li> <li>-74% dos participantes estavam em TARV com uma contagem média de células T CD4 + de 328 células/<math>\mu</math>l.</li> <li>-Apenas 3 (3,7%) participantes apresentaram títulos soroprotetor contra as três cepas.</li> <li>-30% dos participantes não apresentaram aumento significativo nos testes de avaliação da resposta imunológica.</li> <li>-Os autores sugerem o uso de imunomoduladores para uma ativação mais eficaz na taxa de soroconversão da vacina, como ligantes do receptor Toll-like e citocinas inflamatórias.</li> <li>-A estimulação da imunidade através do LPS como adjuvante atingiu níveis comparáveis para ambos os grupos</li> <li>-Foi analisado que no grupo dos não respondedores ocorreu uma diminuição na contagem de células TCD4+ quando comparado com os respondedores à vacina.</li> <li>-O grupo NRV à vacina apresentou maior expressão de mRNA de IL-10 e menor contagem de TCD4+ que o RV.</li> <li>-Os RV tiveram uma expressão aumentada de TNF-<math>\alpha</math>, IFN-<math>\gamma</math>, baixa expressão de IL-19 e uma alta quantidade de células CD4+ indicando uma ligação com a soroconversão após a vacina.</li> </ul>
Neutralization and hemagglutination-inhibition antibodies following influenza vaccination of HIV-infected and HIV-uninfected pregnant women	Nunes <i>et al.</i> (2018).	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Participantes: mulheres grávidas HIV+ e HIV- no segundo e terceiro trimestre.</li> <li>-As mulheres infectadas pelo HIV tiveram uma resposta imunológica menor que as mulheres não infectadas.</li> <li>-O status sorológico das mulheres com HIV era de carga viral mediana de 1679 cópias/mL e contagem média de células CD4+ de 412 células/mm<sup>3</sup>. Apenas 19,3% estavam com carga viral indetectável e 80% estavam em TARV no momento da vacinação.</li> <li>- Para avaliar a imunogenicidade foram feitos testes de títulos médios geométricos hemaglutinação (HAI) e anticorpos microneutralização (MN) antes e após a vacina.</li> <li>- O teste de MN foi mais sensível que o ensaio de HAI para avaliar a soroconversão de anticorpos contra influenza após a vacina apresentando níveis mais elevados em ambos os grupos.</li> <li>-No grupo das HIV+, houve uma taxa de soro conversão de 49% ,45% e 36% respectivamente para H1N1, H3N2 e antígeno B analisados em títulos de MN.</li> <li>-Houve correlações positivas entre mulheres grávidas com HIV e os títulos de anticorpo para a cepa H1N1 e H3N2, mas não para a cepa B no pré-vacinação.</li> </ul>



ARTIGO	AUTORES	CONSIDERAÇÕES
Decreased ratio of influenza-s-specific IgG versus IgM in response to influenza vaccination in antiretroviral-treated HIV-infected African Americans compared to Caucasians, and its direct correlation with the percentages of peripheral Tfh cells	Ma <i>et al.</i> (2020)	-Participantes: Pacientes afro-americanos e caucasianos divididos em dois grupos: HIV positivo em uso de TARV e HIV negativo com idades de 29-58 anos. -Descobriu-se que os indivíduos infectados pelo HIV tinham nível elevado de sCD14 (marcador de inflamação crônica) no plasma em comparação com os indivíduos HIV negativos. - A relação de anticorpos IgG versus IgM específicas para influenza está diminuída após a vacinação em indivíduos afro-americanos HIV+. Esse parâmetro está diretamente ligado a diminuição da porcentagem de células pTfh (Células auxiliares foliculares T periféricas). - Entre os pacientes HIV+, não houve diferença na resposta à vacinação contra a influenza nos pacientes de diferentes etnias.

Em conformidade com os dados apresentados no Quadro 3, Williams (2018) confirma a necessidade da vacinação nas PVHIV/AIDS, visto que quase metade dos pacientes que adquirem a gripe ou a doença semelhante à influenza não foram vacinados. Esse imunizante apresenta um bom grau de segurança por se tratar de uma vacina inativada (BRASIL, 2014).

Várias análises para vacinação contra influenza incluem o teste de microneutralização (MN), que é um parâmetro que mede a capacidade funcional dos anticorpos neutralizantes contra a influenza, enquanto a hemaglutinação (HAI) mede apenas os anticorpos que bloqueiam a ligação do receptor do vírus às células hospedeiras. Então, é definida a soroconversão como o aumento de título  $\geq 4$  vezes de pré-vacinação para pós-vacinação com títulos pós-vacinação  $\geq 1: 40$  adotados pela maioria dos autores (LUO *et al.*, 2019).

### Papiloma Vírus Humano (HPV)

O papilomavírus humano (HPV) compartilha da mesma via de transmissão do HIV (via sexual). Logo, a incidência pode aumentar, como também aumenta a persistência da infecção por HPV. Além disso, aumenta o risco de progressão para pré-câncer e câncer. Os riscos aumentam para quem não tem uma viremia de HIV controlada e está com baixa contagem de células T CD4+. O HPV-16 é o mais oncogênico entre as mulheres HIV+ e elas têm uma distribuição de tipos de HPV diferentes das mulheres HIV-, inclusive havendo maior prevalência do HPV anal que o cervical (ORLANDO *et al.*, 2018; KOJIC *et al.*, 2018). O Quadro 4 sumariza os estudos sobre vacinação contra HPV em PVHIV.

Quadro 4 - Artigos referentes à vacinação contra o HPV.

ARTIGO	AUTORES	CONSIDERAÇÕES
Safety and immunogenicity of the quadrivalent human papillomavirus (qHPV) vaccine in HIV-positive Spanish men who have sex with men (MSM)	Hidalgo-tenorio <i>et al.</i> (2017)	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Participantes: homens que fazem sexo com homens (HSH) com HIV de idade igual ou superior a 18 anos, que não estivessem infectados simultaneamente com os 4 genótipos do HPV que tem na vacina.</li> <li>-A vacina quadrivalente (HPV 11/06/16/18) contra o HPV e o placebo foram administrados em 0, 2 e 6 meses. A genotipagem HPV PCR e anuscoopia de alta resolução foram realizadas na primeira visita no mês 0 e os títulos de anticorpos vacinaram no mês 7.</li> <li>-A vacina teve uma imunogenicidade de 76% em 7 meses.</li> <li>-A idade avançada, o tempo de uso de TARV e os meses desde o diagnóstico de HIV obtiveram números menores da infecção por HPV, considerando-se fatores de proteção.</li> <li>-A carga viral (CV) de HIV &gt;200 cópias/ <math>\mu</math>L e o início precoce da vida sexual foram tidos como fator de risco.</li> <li>-Não houve diferença significativa nos níveis de CD4+.</li> <li>-Os eventos adversos visto em ambos os grupos foi dor no local da aplicação, predominando no placebo.</li> <li>-Entre os pacientes analisados, 50% tinham o HPV16 e 37% tinham o HPV18.</li> </ul>
High specific immune response to a bivalent anti-HPV vaccine in HIV-1-infected men in São Paulo, Brazil	Fontes <i>et al.</i> (2016).	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Participantes: homens infectados pelo HIV-1.</li> <li>-Os pacientes receberam a vacina bivalente (16 e 18) por via intramuscular em 0, 4 e 24 semanas.</li> <li>-Os participantes foram divididos de acordo com a contagem de células TCD4+. O grupo A com CD4+ &gt;500 e o grupo B CD4+ &lt; 500.</li> <li>-A taxa de soroconversão foi de 92%.</li> <li>-A carga viral (CV) de HIV e a contagem de células TCD4+ não interferiram na resposta imunológica.</li> </ul>
Anogenital human papillomavirus virus DNA and sustained response to the quadrivalent HPV vaccine in women living with HIV-1	Cespedes <i>et al.</i> (2018).	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Participantes: mulheres vivendo com HIV-1</li> <li>-Dividido em três grupos de acordo com a contagem de células TCD4+.</li> <li>A: acima de 350 células/ <math>\text{mm}^3</math></li> <li>B: 201-250 células/ <math>\text{mm}^3</math></li> <li>C: menor ou igual a 200 células/ <math>\text{mm}^3</math></li> <li>-A vacina quadrivalente foi aplicada por via intramuscular em 0, 8 e 24 semanas. Em seguida, os pacientes foram acompanhados nas semanas 28, 52 e 72.</li> <li>-Em todos os grupos houve uma diminuição dos títulos médios geométricos (GMT) da resposta de anticorpos específicos entre a semana 28 até a semana 72, com evidência no HPV-16;</li> <li>-Na semana 72, a soropositividade sustentada entre os grupos A B e C foi de 95%, 88% e 86%, respectivamente.</li> <li>-Não houve diferença significativa para a sustentação da soropositividade entre os participantes com CV de HIV indetectável e indetectável no grupo A e B, mas no grupo C a diferença foi de 100%.</li> <li>-O DNA do HPV foi detectado com mais frequência na região anal que na região cervicovaginal, sendo o HPV16 mais frequente.</li> <li>-Dentre os pacientes que não foi detectado o DNA do HPV anogenital de HPV-16, 6% testaram positivo ao fim do estudo.</li> <li>-A vacina induz resposta anamnésica (um rápido aumento dos títulos de anticorpos após a reexposição do antígeno)</li> </ul>

ARTIGO	AUTORES	CONSIDERAÇÕES
Effective-ness of the Quadrivalent HPV Vaccine in Preventing Anal $\geq$ HSILs in a Spanish Population of HIV+ MSM Aged $>$ 26 Years	Hidalgo-tenorio <i>et al.</i> (2021).	<p>-Participantes: homens que fazem sexo com homens (HSH) com HIV de idade igual ou superior a 18 anos, que não estivessem infectados simultaneamente com os 4 genótipos do HPV que tem na vacina ou ambos os genótipos 16 e 18.</p> <p>-A vacina contra o HPV quadrivalente (genótipos 6, 11, 16 e 18) foi aplicada no dia 1, mês 2 e mês 6 (0-1-6).</p> <p>As análises foram feitas nos meses 7, 12, 24, 36 e 48.</p> <p>-A incidência e a prevalência de HSIL (lesão intra-escamosa de alto grau) e de ASCC (carcinoma de células escamosas anal) diminuíram exponencialmente desde o mês 12 até o mês 48.</p> <p>-Não houve diferença na prevenção de EAGLs (lesões ano-genitais externas) /condilomas nem na taxa de prevenção de <math>\geq</math>HSILs.</p> <p>-A níveis de anticorpos da vacina quadrivalente contra o HPV foram detectados em 76,9% dos pacientes no mês 7 e 87,2% no mês 48. Logo, houve uma boa estabilidade dos anticorpos no decorrer do estudo.</p> <p>-No mês 7, foi visto que 80% dos pacientes tinham anticorpos contra os genótipos da vacina.</p> <p>-Notou-se uma resposta levemente retardada nos pacientes mais velhos, tendo um aumento dos anticorpos no mês 12 permanecendo em 90% até o final da análise no mês 48.</p>
Antibody responses to quadrivalent HPV vaccination in HIV-infected young women as measured by total IgG and competitive luminex immunoassay.	Kahn <i>et al.</i> (2017)	<p>-Participantes: mulheres infectadas com HIV de 18 a 23 anos de idade. 76,3% eram negro/afro-americanos, 30% estavam em uso de TARV, 98,7% tinham contagem de células TCD4+ igual ou superior a 350 células/mm<sup>3</sup> e 38,2% tinham carga viral do HIV abaixo de 400 cópias/ mL.</p> <p>-Foi analisado apenas as mulheres que completaram o esquema vacinal da vacina quadrivalente de 3 doses dentro do prazo recomendado, ou seja, 0, 4, 24 semanas. Analisou-se os pontos de tempo da semana 28 e 48.</p> <p>-Na semana 48, as taxas de soropositividade do HPV18 analisadas através do IgG LIA (Imunoglobulina total G imunoensaios Luminex) permaneceram altas em 98%, já a análise através do cLIA (Imunoensaio Luminex Competitivo) o resultado foi de 73%. O HPV6, 11 e 16 também obtiveram uma sustentação da soropositividade com níveis entre 93,5%- 100% nos dois testes.</p> <p>-Os dois tipos de ensaios utilizados, IgG LIA e cLIA, não puderam ser comparados por se tratar de medições distintas para os anticorpos de HPV. Sendo o IgG LIA mais sensível e o cLIA mais específico.</p> <p>-Os títulos médios geométricos (GMTs) dos dois testes foram mais altos para quem fazia uso de TARV.</p>

Segundo Orlando *et al.* (2018), a fração evitável pelas vacinas bivalente, quadrivalente e nonavalente (todas vacinas inativadas) contra o HPV em mulheres com HIV seria de 11,3%, 16,7% e 35,2% respectivamente, confirmando, assim, a necessidade da administração da vacina. Adicionalmente, Frésard *et al.* (2016) relatam que a vacina quadrivalente pode ser aplicada em pacientes com contagem de células TCD4+ acima de 350 células/mm<sup>3</sup>, com carga viral controlada. O esquema utilizado é o de 3 doses em 0-2-6 meses. A imunogenicidade foi menor em mulheres com contagem de células TCD4+ acima de 200 células/mm<sup>3</sup> ou carga viral do HIV abaixo de 10.000 cópias/mL (FRÉSARD *et al.*, 2016).

## Hepatite B

O vírus da hepatite B (HBV em inglês) e o HIV compartilham as mesmas vias de transmissão e, por isso, há números elevados de coinfeção. Paralelamente, existe o vírus da hepatite A (HAV), que tem transmissão via fecal-oral, transfusões sanguíneas, compartilhamento de seringas contaminadas e por sexo oral-anal. Tendo em vista que os pacientes com HIV são susceptíveis a outros agravos com o HAV, HBV e suas consequências (como carcinoma hepatocelular, progressão acelerada para cirrose, com mais infecções crônicas), faz-se necessário aumentar cobertura vacinal contra o HBV em pacientes HIV+. Para buscar a melhor estratégia, é preciso analisar o número de doses, a

dosagem dessas vacinas (inativadas), a via de administração e realizar uma boa análise do estado imunoviológico dos pacientes (VARGAS *et al.*, 2016; CATHERINE; PIROTH, 2017; LIN *et al.*, 2017). O Quadro 5 apresenta os estudos relativos à vacinação contra o HBV em PVHIV.

**Quadro 5 - Artigos referentes à vacinação contra o HBV.**

ARTIGO	AUTORES	CONSIDERAÇÕES
Seroconverting nonresponder of high-dose intramuscular HBV vaccine with intradermal HBV vaccine	Das <i>et al.</i> (2017).	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Um relato de caso de um homem, caucasiano, com 46 anos, em uso de TARV e com Carga Viral (CV) indetectável. O paciente recebeu as 3 doses de 20µg da Vacina da Hepatite B (VHB) e 1 dose de 20µg de reforço, mas as sorologias não apresentaram resposta alguma à vacina, apesar da sua contagem de células TCD4+ estarem normalizada.</li> <li>- Então, foi adotado como conduta a aplicação de duas doses de 40µg da vacina sobre cada deltoide pela via intradérmica. As aplicações tiveram um intervalo de 1 mês. Após 3 meses, os títulos de anticorpos séricos foram indicativos de soroconversão.</li> </ul>
Evaluation of response to hepatitis B virus vaccine in adults with human immunodeficiency virus	Rech-me-deiros <i>et al.</i> (2019).	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Participantes: Pacientes com HIV com contagem de células TCD4+ acima de 200 por µL, a maioria estava em uso de TARV e eram homens brancos.</li> <li>-As doses de 20 µg do antígeno foram aplicadas por via intramuscular de acordo com o esquema vacinal padrão: 0, 1, 2 e 6 meses.</li> <li>-A contagem de LTCD4+ não influenciou na resposta à vacina.</li> <li>- A Carga Viral (CV) também não influenciou na resposta à vacina, apesar dos pacientes com CV menor ou igual a 1000 cópias/ mL tivessem uma tendência à melhor resposta.</li> <li>-Não houve diferença significativa entre as idades, maior que 60 ou menor, com a resposta vacinal.</li> <li>-A soroconversão foi de 80,10%. Os autores atribuem o resultado positivo ao esquema utilizado e ao status virológico dos pacientes.</li> </ul>
Hepatitis B Vaccination Induced TNF-α- and IL-2 Producing T Cell Responses in HIV- Healthy Individuals Higher than in HIV+ Individuals Who Received the Same Vaccination Regimen	Chawan-suntati <i>et al.</i> (2018).	<ul style="list-style-type: none"> <li>- O estudo foi conduzido em três esquemas de vacinação. Os pacientes tinham contagem de células TCD4+ acima de 200/ mm<sup>3</sup> com Carga Viral (CV) abaixo de 50 cópias/ mL e todos faziam uso de TARV.</li> <li>3 doses de 20 µg</li> <li>4 doses de 20 µg</li> <li>4 doses de 40 µg</li> <li>- O grupo de indivíduos saudáveis recebeu o esquema padrão (1).</li> <li>-Foram avaliados os seguintes pontos de tempo: dia 0, dia 7, dia 28, mês 2 (apenas grupo 2 e 3), mês 6, mês 7 e mês 12.</li> <li>- Não foi obtido um resultado promissor quanto ao resultado da expressão do marcador de degranulação CD107a das células TCD4+ ou CD8+ totais ou de memórias nos 12 meses estudados entre os três grupos de HIV+. Também não foi observado aumento nas células T produtoras de citocinas ou de memória.</li> <li>-Porém o grupo controle saudável apresentou um aumento nessas células, tanto nas células TCD4+ produtoras de IL-2 quanto nas células TCD4+ totais e de memória, que receberam o mesmo esquema de vacinação.</li> <li>-Não houve diferença entre o grupo controle saudável e o grupo HIV+ quanto à frequência de células T polifuncionais em resposta ao antígeno HBs recombinante.</li> <li>- O esquema de vacinação confere alta taxa de soroconversão, então os autores justificam o resultado devido os participantes estarem com bons níveis de CV e de contagem absolutas de células TCD4+ e em uso de TARV.</li> <li>-No mês 7 ocorreu o pico das porcentagens dos marcadores analisados entre os pacientes saudáveis.</li> <li>-Nos pacientes com HIV, não houve mudanças significativas entre os pontos de tempo e entre os grupos de estudo.</li> </ul>

ARTIGO	AUTORES	CONSIDERAÇÕES
<p>Hepatitis B Virus Vaccination in HIV: Immunogenicity and Persistence of Seroprotection up to 7 Years Following a Primary Immunization Course</p>	<p>Nicolini <i>et al.</i> (2018).</p>	<p>-Participantes: pacientes com HIV, tinham contagem de células TCD4+ acima de 200/ mm<sup>3</sup> com CV menor ou igual a 50 cópias/mL. Eles receberam a vacina monovalente de hepatite viral B ou a vacina bivalente de hepatite viral A e B (HAV/HBV). Ambas foram por via intramuscular com 20 µg de antígeno nos meses 0, 1 e 6.</p> <p>-Foram analisados os seguintes pontos de tempo em meses: 12, 24, 36 e 84. Ou seja, 7 anos de avaliação da soroproteção contra HBV.</p> <p>-Os respondedores à vacina tenderam a ser os mais jovens, com menos CV, e níveis de CD4 elevados (média de 536 células/ mm<sup>3</sup>).</p> <p>-A taxa de resposta sorológica foi de 68%.</p> <p>-A soroproteção foi de 85,9%, 76,9%, 69,3% e 26,9%, respectivamente, aos 12, 24, 36 e 84 meses após a terceira dose da vacina. Por causa dos níveis decrescentes, os autores orientam que se realize o teste de HBsAg pelo menos 5 anos após concluir o esquema de vacinação.</p> <p>-Os títulos que permaneceram elevados prevaleceram entre mulheres e a contagem de células TCD4+.</p> <p>-A resposta sorológica à vacinação poderá ser prejudicada pela alta CV e poderá ser eficaz apesar da baixa contagem de células TCD4+.</p>
<p>Higher rate of long-term serologic response of four double doses vs. Standard doses of hepatitis B vaccination in HIV-infected adults: 4-year follow-up of a randomised controlled trial</p>	<p>Chaiwarith <i>et al.</i> (2019).</p>	<p>-Participantes: adultos com HIV com contagem de células T CD4+ acima de 200 células/mm<sup>3</sup> e Carga Viral (CV) indetectável. Eles foram divididos em:</p> <p>3 doses de 20 µg nos meses 0,1 e 6. (Padrão)</p> <p>4 doses de 40 µg nos meses 0, 1, 2 e 6.</p> <p>4 doses duplas de 40 µg nos meses 0, 1, 2 e 6.</p> <p>-O percentual de respondedores à vacina (anti-HBs ≥ 10 mIU / mL) foi de 57,1% para o grupo padrão, 76,7% para o grupo de 4 doses e 80,5% para o grupo de 4 doses duplas.</p> <p>-A porcentagem de respondedores de alto título (anti-HBs ≥ 100 mIU / mL) foi de 28,6% para o grupo padrão, 41,9% para o grupo de 4 doses e 46,3% para o grupo de 4 doses duplas. Notoriamente, houve uma diferença significativa entre o grupo padrão e o grupo de 4 doses duplas.</p> <p>-Os títulos médios geométricos (GMT) de anti-HBs foram de 19,8 mUI/mL para o grupo padrão, 51,6 mUI/mL para o grupo de 4 doses e 57,5 mUI/mL para o grupo de 4 doses duplas.</p> <p>-Associaram-se aos pacientes respondedores os fatores como a idade mais jovem e o tipo de esquema adotado, sendo o grupo de 4 doses duplas o que obteve o maior percentual de pacientes respondedores.</p> <p>-Ao fim do estudo, após um tempo médio de 49,6 meses, as taxas de soroproteção foram de 57,1% para o grupo de doses padrão e 80,5% para o de 4 doses duplas.</p>
<p>Immune response to hepatitis B vaccination in HIV-positive individuals with isolated antibodies against hepatitis B core antigen: Results of a prospective Italian study</p>	<p>Morsica <i>et al.</i> (2017).</p>	<p>-Participantes: pacientes adultos infectados com HIV que testaram positivo para o marcador anti-HBc isolado. Eles receberam 3 doses de 10 µg da vacina no início do estudo definido como baseline (BL), na semana 5 (S5) e na semana 24 (S24).</p> <p>Os anticorpos dos antígenos foram avaliados em: BL, S4 e S24, e após a vacinação na Semana 4 pós vacinação (S4-PV) e S24-PV.</p> <p>Todos os pacientes estavam em TARV, com Carga viral indetectável do HIV e boa resposta imunológica.</p> <p>-Na S4, os participantes que após a primeira dose da vacina contra o HBV se mantiveram com níveis de anti-HBs &lt;10 U/L ou os hiporresponsivos (anti-HBs&gt;10, mas &lt;100 U/L) continuaram no estudo e receberam um ciclo completo de vacinações.</p> <p>-Desses que continuaram, 52,6% obtiveram resposta primária (anti HBs &gt;10 U/L) ao final do ciclo de vacinação.</p> <p>-Na S24-PV, 85% e na S48-PV, 41,6% dos pacientes ainda apresentavam títulos de anti-HBs &gt;10 de U/L.</p> <p>-Foi detectado infecção oculta por HBV em 37,5% dos pacientes e esses obtiveram uma resposta de anti-HBs &gt;10 U/L.</p> <p>- 56% dos pacientes tinham anticorpos contra a Hepatite Viral C (anti-HCV) podendo ser considerado uma associação positiva pois há a probabilidade de gerar resposta primária.</p> <p>-Os autores concluem que a vacina é imunogênica nos pacientes com o anti-HBc isolado e infecção oculta por HBV recebendo pelo menos uma dose da vacina.</p>

ARTIGO	AUTORES	CONSIDERAÇÕES
Immunogenicity and safety of 4 vs. 3 standards doses of HBV vaccination in HIV-infected adults with isolated anti-HBc antibody	Laksananun <i>et al.</i> (2019).	<p>-Participantes: pacientes adultos com HIV com a contagem de células T CD4+ maior ou igual a 200/ mm<sup>3</sup>, CV menor a 20 cópias/ mL e anti-HBs isolado.</p> <p>Eles receberam:</p> <p>3 doses de 20 µg nos meses 0, 1 e 6. 4 doses de 20 µg nos meses 0, 1, 2 e 6.</p> <p>-Ambas foram por via intramuscular e foram avaliadas na semana 4 e na semana 28 com relação a resposta anamnésica.</p> <p>-A resposta anamnésica (semana 4) ocorreu em 25,9% no grupo 1, e 33,3% no grupo 2. Essa resposta teve maior prevalência nos mais jovens, naqueles com menor duração de TARV, menor tempo de diagnóstico de HIV e maior nadir de contagem de células TCD4+. Conclui-se, pois, que apenas uma dose não é adequada.</p> <p>-Na semana 28, as taxas de resposta à vacina foram de 85,2% no grupo 1 e 88,9% no grupo 2. Os GMT anti-HBs foram de 63,8 e 209,8 mUI/mL respectivamente para grupo 1 e 2.</p> <p>-Nenhum evento adverso foi relatado.</p>

Em suma, os pacientes que fazem uso de TARV, com carga viral do HIV baixa ou indetectável e com alta contagem de células TCD4+, obtêm resultados satisfatórios na vacinação. Além disso, há uma predisposição de resultados positivos na resposta à vacinação em pacientes do sexo feminino e de idade mais jovem. Por outro lado, há uma predisposição de resposta insatisfatória naqueles que têm hábitos como o consumo de álcool e tabagismo, nos pacientes de etnia afro-americana, na presença de coinfeção por HCV e HBV oculta. Também há uma interferência na resposta à vacina HAV/HBV em pacientes com níveis plasmáticos pré-vacinais de marcadores da inflamação – como IP10, IL-6, sCD14 e sCD163 (SHIVE *et al.*, 2018).

## Doença Pneumocócica

A doença pneumocócica é causada principalmente pelo *Streptococcus pneumoniae*, uma bactéria que coloniza o trato respiratório superior. A infecção acontece quando os microrganismos patogênicos chegam ao trato respiratório inferior, seja por gotículas de ar expelidas por alguém contaminado ou por conversão de colonização para infecção em casos de frio, imunossupressão, fumo e outros fatores (GARMPI *et al.*, 2019.; ASSUNÇÃO; PEREIRA; ABREU, 2018). Considerando a imunossupressão um fator de risco, as PVHIV precisam de uma atenção priorizada para a prevenção de pneumonia. O Quadro 6 apresenta os resultados relativos a vacinas pneumocócicas em PVHIV.

**Quadro 6 - Artigos referentes à vacinação contra a pneumonia.**

ARTIGO	AUTORES	CONSIDERAÇÕES
<p>Immunological efficacy of pneumococcal vaccine strategies in HIV-infected adults: a randomized clinical trial</p>	<p>Sadlier. <i>et al.</i> (2016)</p>	<p>-Participantes: adultos infectados pelo HIV divididos em duas estratégias: 1) imunização primer-boost combinando a vacina pneumocócica conjugada 13-valente (PCV13) com a vacina pneumocócica polissacarídica 23-valente (PPSV23) e 2) PPSV23 sozinho para serem comparados através da concentração média geométrica (CMG) de IgG e da atividade opsonofagocítica (OPA). Os participantes tinham contagem de células TCD4+ <math>\leq 200</math> células/ mm<sup>3</sup>.                      -O grupo primer-boost recebeu a PCV13 na semana 0 e a PPSV23 na semana 4.                      -O grupo PPSV23 sozinho recebeu somente a PPSV23 na semana 4.                      -Para as repostas de CMG: na semana 8, o grupo primer-boost obteve uma resposta maior em CMG que o PPSV23 sozinho para todos os sorotipos, menos com o sorotipo 14, mas a única diferença significativa foi no sorotipo 23F. E na semana 28, a resposta em CMG do primer-boost foi maior para 5 sorotipos: 1, 3, 4, 19F e 23F                      -Na resposta específica de sorotipo IgG com um aumento de duas vezes, tanto na semana 8 quanto na semana 28, foi vista uma maior frequência no grupo primer-boost que no PPSV23 sozinho.                      -Analisando criteriosamente com o aumento de duas vezes nos níveis de IgG e concentração de IgG &gt; 1 µg/ ml, ainda houve uma maior frequência no primer-boost que no PPSV23 sozinho.                      -Apenas na semana 28 houve uma diferença significativa nos Títulos médios geométricos (GMT, em inglês) de OPA para o grupo primer-boost que o PPSV23 sozinho, nos sorotipos 14 e 23F.                      -Houve uma maior durabilidade dos anticorpos à PVC-13 e o status sorológico do paciente.                      -Ou seja, o grupo primer-boost (PCV+ PPSV23) obteve uma melhor resposta em todas as análises.                      -A baixa contagem de células TCD4+ pode atrapalhar a resposta à PCV, mas por ser um grupo de risco é necessário que se vacine para conferir alguma proteção mesmo que seja uma resposta fraca.                      -O uso de TARV não apresenta melhores respostas.                      -Não se observou nenhum efeito adverso nesse estudo.</p>
<p>Vaccine strategies to reduce the burden of pneumococcal disease in HIV-infected adults in Africa.</p>	<p>Thindwa <i>et al.</i> (2020)</p>	<p>- Entre pacientes adultos infectados com HIV, a estratégia proposta foi a de uma dose da Vacina Pneumocócica Conjugada (PCV) com um reforço da Vacina Pneumocócica Polissacarídica (PPV), mesmo a PCV sendo mais imunogênica que a PPV, a PPV tem uma maior cobertura de sorotipos e tem um custo menor. Essa estratégia também pode ser adotada mediante o diagnóstico de HIV positivo e as doses podem ser aplicadas concomitantemente para otimizar os custos locais.                      - Para mulheres grávidas, deve-se dar prioridade tendo em vista a possível proteção indireta para o feto. A PCV demonstrou segurança para mulheres com idade gestacional entre 27 e 38 semanas.</p>
<p>No changes on viral load and CD4+ T-cell counts following immunization with 7-valent pneumococcal conjugate vaccine among HIV-infected adults in Malawi</p>	<p>Ibarz-pavon; french, (2018).</p>	<p>-Participantes: PVHIV que receberam a vacina pneumocócica conjugada-7 (PCV7) em duas doses entre 4 semanas ou o placebo, divididos entre os que usam TARV e os que não usam TARV.                      -Observou-se um número (31%) elevado de mortes entre os HIV+, em sua maioria os pacientes que não usavam TARV.                      -Entre aqueles que usavam TARV, houve uma diminuição na carga viral (CV) desde o início da pesquisa até seis meses após a vacina, e houve um aumento no número de indivíduos com CV indetectável. Também ocorreu um aumento na contagem de células TCD4+ nos pacientes em uso de TARV, tanto entre os que receberam a vacina quanto o placebo.                      -Não foi observado nenhuma mudança entre aqueles que não usavam TARV.</p>

ARTIGO	AUTORES	CONSIDERAÇÕES
Race-related differences in functional antibody response to pneumococcal vaccination in HIV-infected individuals	Happe <i>et al.</i> (2019).	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Participantes: indivíduos caucasianos e afro-americanos (AA) infectados com HIV de 40 a 65 anos de idade e com contagem de células TCD4+ acima de 200/ <math>\mu</math>L em TARV. Todos os participantes estavam imunizados com PPV com 5 anos ou mais, anteriormente.</li> <li>-Foram divididos entre os que receberam a PCV13 e em seguida a PPV23 (PCV/PPV) ou PPV23 sozinho.</li> <li>-Notou-se um aumento, em todos os grupos, nos títulos de IgG e IgM após a vacinação nos sorotipos 14, 23F e 19A, exceto o IgM do sorotipo 19A que não há padrão. Em seguida, analisou-se que não houve diferença significativa entre os AA e caucasianos nos dois grupos.</li> <li>-Os títulos de OPA (ensaio de morte opsonofagocítica, do inglês, Opsonophagocytic killing assay) para o PPS14 foram maiores para os caucasianos que para os AA em todos os regimes. Para o PPS19A, o aumento foi observado no grupo dos caucasianos com o esquema de PPV sozinho.</li> <li>-Para o PPS23F, não houve diferença de títulos OPA em nenhum dos grupos.</li> <li>-Após a vacinação, houve correlação entre os títulos OPA e os anticorpos IgG mostraram uma resposta significativa do grupo AA ao PPS19A.</li> <li>-Dentre os marcadores inflamatórios que foram analisados, não houve nenhuma diferença entre os grupos.</li> <li>-Há uma diferença entre os caucasianos e AA nos subconjuntos de memória IgM isolados, sendo 33 genes mais expressos em AA que em caucasianos. Tal diferença, pode justificar os títulos de OPA reduzidos.</li> </ul>

Existem diferentes formulações para proteção contra a infecção pelo pneumococo. A vacina pneumocócica conjugada (PCV) tem 7 e 13 sorotipos, sendo mais imunogênica que a vacina pneumocócica polissacarídica (PPV) com 23 sorotipos, ambas inativadas. No entanto, a PPV tem uma maior cobertura de sorotipos e é mais eficaz em PVHIV com contagem de células TCD4+ baixas, como mostra o estudo de Sadlier *et al.*, 2016.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

Esta revisão integrativa apresentou dados sobre imunoprevenção contra seis infecções importantes em PVHIV, sendo: febre amarela e herpes zoster, ambas com vacinas de vírus atenuado e a influenza, a infecção pelo HPV, hepatite B e infecção por pneumococo com vacinas de vírus inativado. Outras doenças imunopreveníveis importantes, como meningite por meningococo e hepatite A, não foram alcançadas nesta revisão pelo fato de os trabalhos encontrados não se enquadrarem nos critérios de inclusão/exclusão, o que, no entanto, não tira a relevância de se estudarem essas doenças em pacientes imunossuprimidos.

Baseando-se nesses achados, pode-se observar que uma boa resposta vacinal dos pacientes adultos vivendo com HIV/AIDS (PVHIV/AIDS), para as doenças imunopreveníveis abordadas, está frequentemente associada ao controle da carga viral e ao número de células TCD4+. Além disso, em geral, os estudos não apresentaram risco aumentado de efeitos adversos para as vacinas utilizadas, garantindo segurança ao paciente. Essas informações reiteram a importância de estudos como este, que confirmam a necessidade da assistência em saúde aos pacientes imunossuprimidos, por parte do profissional farmacêutico, juntamente com a equipe multidisciplinar, a fim de que esses pacientes possam controlar a infecção e com isso obter uma maior resposta vacinal.



## REFERÊNCIAS

ASSUNÇÃO, Raíssa Guará; PEREIRA, Wellison Amorim; ABREU, Afonso Gomes. Pneumonia bacteriana: aspectos epidemiológicos, fisiopatologia e avanços no diagnóstico. *Rev Inv Biomédica*, v. 10, n. 1, p. 83-91, 2018. Disponível em: [https://www.researchgate.net/publication/330548733\\_PNEUMONIA\\_BACTERIANA\\_ASPECTOS\\_EPIDEMIOLOGICOS\\_FISIOPATOLOGIA\\_E\\_AVANCOS\\_NO\\_DIAGNOSTICO](https://www.researchgate.net/publication/330548733_PNEUMONIA_BACTERIANA_ASPECTOS_EPIDEMIOLOGICOS_FISIOPATOLOGIA_E_AVANCOS_NO_DIAGNOSTICO). Acesso em: 16 de nov. de 2021.

AVELINO-SILVA, Vivian I. *et al.* CD4/CD8 ratio and KT ratio predict yellow fever vaccine immunogenicity in HIV-infected patients. *PLoS neglected tropical diseases*, v. 10, n. 12, p. e0005219, 2016. Disponível em: <https://journals.plos.org/plosntds/article?id=10.1371/journal.pntd.0005219>. Acesso em: 09 de out de 2021.

AYOADE, Folusakin; KUMAR, Sandeep. Varicella Zoster. *StatPearls* [Internet], 2021. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK448191/#article-30982.s5>. Acesso em: 09 de out de 2021.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância, Prevenção e Controle das Infecções Sexualmente Transmissíveis, do HIV/Aids e das Hepatites Virais. Boletim Epidemiológico HIV/AIDS 2018 [Internet]. Brasília (DF); 2018. Disponível em: <http://www.aids.gov.br/pt-br/pub/2018/boletim-epidemiologico-hiv aids-2018>. Acesso em: 20 abr 2021.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis. Manual de Normas e Procedimentos para Vacinação / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis. – Brasília: Ministério da Saúde, 2014.

CELUM, Connie; BARNABAS, Ruanne. Reaching the 90-90-90 target: lessons from HIV self-testing. *The Lancet HIV*, v. 6, n. 2, p. e68-e69, 2019. Disponível em: [https://www.thelancet.com/journals/lanhiv/article/PIIS2352-3018\(18\)30289-3/fulltext](https://www.thelancet.com/journals/lanhiv/article/PIIS2352-3018(18)30289-3/fulltext). Acesso em: 06 de maio de 2021.

CATHERINE, François-Xavier; PIROTH, Lionel. Hepatitis B virus vaccination in HIV-infected people: a review. *Human vaccines & immunotherapeutics*, v. 13, n. 6, p. 1304-1313, 2017. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/citedby/10.1080/21645515.2016.1277844?scroll=top&needAccess=true>. Acesso em: 18 de outubro de 2021.

CHAWANSUNTATI, Kriangkrai *et al.* Hepatitis B Vaccination Induced TNF- $\alpha$ -and IL-2-Producing T Cell Responses in HIV- Healthy Individuals Higher than in HIV+ Individuals Who Received the Same Vaccination Regimen. *Journal of immunology research*, v. 2018, 2018. Disponível em: 18 de outubro de 2021. Disponível em: <https://www.hindawi.com/journals/jir/2018/8350862/>. Acesso em: 18 de outubro de 2021.

CHAIWARITH, Romanee *et al.* Higher rate of long-term serologic response of four double doses vs. standard doses of hepatitis B vaccination in HIV-infected adults: 4-year follow-up of a randomised controlled trial. *AIDS research and therapy*, v. 16, n. 1, p. 1-7, 2019. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1186/s12981-019-0249-8>. Acesso em: 18 de outubro de 2021.

CUNHA, Gilmara Holanda da *et al.* Vaccination status of people living with HIV/AIDS in outpatient care in Fortaleza, Ceará, Brazil. *Brazilian Journal of Infectious Diseases*, v. 20, p. 487-493, 2016. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1413867016301258?via%3Dihub>. Acesso em: 16 de nov. de 2021.

DAS, Manjusha *et al.* Seroconverting nonresponder of high-dose intramuscular HBV vaccine with intradermal HBV vaccine: a case report. *Medicine*, v. 96, n. 46, 2017. Disponível em: [https://journals.lww.com/md-journal/Fulltext/2017/11170/Seroconverting\\_nonresponder\\_of\\_high\\_dose.32.aspx](https://journals.lww.com/md-journal/Fulltext/2017/11170/Seroconverting_nonresponder_of_high_dose.32.aspx). Acesso em: 18 de outubro de 2021.

DOMINGUEZ FILHO, Orlando de Jesus Londono *et al.* Manifestações orais em pacientes imunodeprimidos pelo Vírus da Imunodeficiência Humana (HIV): revisão da literatura. *Revista Eletrônica Acervo Saúde*, v. 13, n. 2, p. e6034-e6034, 2021. Disponível em: <https://acervomais.com.br/index.php/saude/article/view/6034>. Acesso em: 25 de mar de 2021.

FONTES, Adriele *et al.* High specific immune response to a bivalent anti-HPV vaccine in HIV-1-infected men in São Paulo, Brazil. *Papillomavirus Research*, v. 2, p. 17-20, 2016. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2405852115300161>. Acesso em: 20 de outubro de 2021.

FRÉSARD, Anne *et al.* Immunization of HIV-infected adult patients—French recommendations. *Human vaccines & immunotherapeutics*, v. 12, n. 11, p. 2729-2741, 2016. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/21645515.2016.1207013>. Acesso em: 10 de nov. de 2021.

GARMPI, Anna *et al.* Pneumococcal Vaccination Strategies Among HIV-infected Adult Patients: A Review of the Literature. *in vivo*, v. 33, n. 5, p. 1425-1430, 2019. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6754996/>. Acesso em: 16 de nov. de 2021.

GLINKA, E. R.; SMITH, D. M.; JOHNS, S. T. Timing Matters-Influenza Vaccination to HIV-Infected Patients. *HIV medicine*, v. 17, n. 8, p. 601-604, 2016. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4960000/>. Acesso em: 03 de nov. de 2021.

HAPPE, Myroslawa *et al.* Race-related differences in functional antibody response to pneumococcal vaccination in HIV-infected individuals. *Vaccine*, v. 37, n. 12, p. 1622-1629, 2019. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6428581/>. Acesso em: 07 de nov. de 2021.

HAWKINS, Kellie L. *et al.* Herpes zoster and herpes zoster vaccine rates among adults living with and without HIV in the Veterans Aging Cohort Study. *Journal of acquired immune deficiency syndromes (1999)*, v. 79, n. 4, p. 527, 2018. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6203599/>. Acesso em: 10 de nov. de 2021.

HIDALGO-TENORIO, Carmen *et al.* Safety and immunogenicity of the quadrivalent human papillomavirus (qHPV) vaccine in HIV-positive Spanish men who have sex with men (MSM). *AIDS research and therapy*, v. 14, n. 1, p. 1-12, 2017. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1186/s12981-017-0160-0>. Acesso em: 20 de outubro de 2021.

HIDALGO-TENORIO, Carmen *et al.* Effectiveness of the Quadrivalent HPV Vaccine in Preventing Anal  $\geq$  HSILs in a Spanish Population of HIV+ MSM Aged  $>$  26 Years. *Viruses*, v. 13, n. 2, p. 144, 2021. Disponível em: <https://www.mdpi.com/1999-4915/13/2/144>. Acesso em: 20 de outubro de 2021.

IBARZ-PAVON, A. B.; FRENCH, N. No changes on viral load and CD4+ T-cell counts following immunization with 7-valent pneumococcal conjugate vaccine among HIV-infected adults in Malawi. *Vaccine*, v. 36, n. 19, p. 2504-2506, 2018. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0264410X1830478X?via%3Dihub>. Acesso em: 27 de nov. de 2021

KAHN, Jessica *et al.* Antibody responses to quadrivalent HPV vaccination in HIV-infected young women as measured by total IgG and competitive luminex immunoassay. *Journal of acquired immune deficiency syndromes* (1999), v. 75, n. 2, p. 241, 2017. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5429191/>. Acesso em: 20 de out. de 2021.

KLATT, Nichole R. *et al.* Immune activation and HIV persistence: implications for curative approaches to HIV infection. *Immunological reviews*, v. 254, n. 1, p. 326-342, 2013. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3694608/>. Acesso em: 22 de nov. De 2021.

KOJIC, Erna Milunka *et al.* Prevalence and incidence of anal and cervical high-risk human papillomavirus (HPV) types covered by current HPV vaccines among HIV-infected women in the SUN study. *The Journal of infectious diseases*, v. 217, n. 10, p. 1544-1552, 2018. Disponível em: <https://academic.oup.com/jid/article/217/10/1544/4857222>. Acesso em: 20 de outubro de 2021.

LAKSANANUN, Nattinee *et al.* Immunogenicity and safety of 4 vs. 3 standard doses of HBV vaccination in HIV-infected adults with isolated anti-HBc antibody. *AIDS research and therapy*, v. 16, n. 1, p. 1-8, 2019. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1186/s12981-019-0225-3>. Acesso em: 18 de outubro de 2021.

LIN, Kuan-Yin *et al.* Hepatitis A virus infection and hepatitis A vaccination in human immunodeficiency virus-positive patients: A review. *World journal of gastroenterology*, v. 23, n. 20, p. 3589, 2017. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5449416/>. Acesso em: 18 de outubro de 2021.

LUO, Zhenwu *et al.* Increased influenza-specific antibody avidity in HIV-infected females compared to HIV-infected males on antiretroviral therapy. *AIDS (London, England)*, v. 33, n. 1, p. 33, 2019. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6279558/>. Acesso em: 27 de out. de 2021.

MA, Ping *et al.* Decreased ratio of influenza-specific IgG versus IgM in response to influenza vaccination in antiretroviral-treated HIV-infected African Americans compared to Caucasians, and its direct correlation with the percentages of peripheral Tfh cells. *Vaccine*, v. 38, n. 8, p. 1998-2004, 2020. Disponível em: [https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0264410X20300049?casa\\_token=\\_5eHhi5sCXAAAAA:4wVOtczdHaNmn\\_6kUloXblp53Q1p2bp iJHPZqFB--sPedY8Gib3s\\_yZbaUirYKnaafCvP7LIIWJgw](https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0264410X20300049?casa_token=_5eHhi5sCXAAAAA:4wVOtczdHaNmn_6kUloXblp53Q1p2bp iJHPZqFB--sPedY8Gib3s_yZbaUirYKnaafCvP7LIIWJgw). Acesso em: 22 de out. de 2021.

MORSICA, Giulia *et al.* Immune response to hepatitis B vaccination in HIV-positive individuals with isolated antibodies against hepatitis B core antigen: results of a prospective Italian study. *PloS one*, v. 12, n. 9, p. e0184128, 2017. Disponível em: <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0184128>. Acesso em: 18 de outubro de 2021.

NICOLINI, Laura Ambra *et al.* Hepatitis B virus vaccination in HIV: immunogenicity and persistence of seroprotection up to 7 years following a primary immunization course. *AIDS research and human retroviruses*, v. 34, n. 11, p. 922-928, 2018. Disponível em: <https://www.liebertpub.com/doi/10.1089/aid.2017.0070>. Acesso em: 18 de outubro de 2021.

NUNES, Marta C. *et al.* Neutralization and hemagglutination-inhibition antibodies following influenza vaccination of HIV-infected and HIV-uninfected pregnant women. *PLoS One*, v. 13, n. 12, p. e0210124, 2018. Disponível em: <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0210124>. Acesso em: 28 de out. de 2021.

ORLANDO, Giovanna *et al.* Incident genital HPV infections and potential impact of HPV vaccines in adult women living with HIV/AIDS. *Human vaccines & immunotherapeutics*, 2018. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/10.1080/21645515.2018.1528834>. Acesso em: 20 de outubro de 2021.

PALLIKKUTH, Suresh *et al.* Impact of aging and HIV infection on serologic response to seasonal influenza vaccination. *AIDS (London, England)*, v. 32, n. 9, p. 1085, 2018. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6574117/>. Acesso em: 28 de out. de 2021.

PIÑERA, Cecilia; BLAMEY, Rodrigo; VILLENA, Rodolfo. Vacunas en pacientes con VIH/SIDA. *Revista Médica Clínica Las Condes*, v. 31, n. 3, p. 317-329, 2020. Disponível em: <https://www.elsevier.es/es-revista-revista-medica-clinica-las-condes-202-articulo-vacunas-pacientes-con-vih-sida-S0716864020300341>. Acesso em: 06 de nov. de 2021

PINTO, Lauro Ferreira da Silva; VIEIRA, Julia Vescovi; RONCHI, Nathália Rossoni. Vaccination coverage in a cohort of HIV-infected patients receiving care at an AIDS outpatient clinic in Espírito Santo, Brazil. *Brazilian Journal of Infectious Diseases*, v. 21, p. 515-519, 2017. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1413867016306766?via%3Dihub>. Acesso em: 16 de nov. de 2021.

POMERANTZ, Heather S. *et al.* Association between quantitative varicella-zoster virus antibody levels and zoster reactivation in HIV-infected persons. *AIDS research and therapy*, v. 15, n. 1, p. 1-5, 2018. Disponível em: <https://aidsrestherapy.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12981-018-0212-0#citeas>. Acesso em: 10 de nov. de 2021.

RECH-MEDEIROS, Arlete F. *et al.* Evaluation of response to hepatitis B virus vaccine in adults with human immunodeficiency virus. *Annals of hepatology*, v. 18, n. 5, p. 725-729, 2019. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1665268119303515>. Acesso em: 18 de outubro de 2021.

SADLIER, C. *et al.* Immunological efficacy of pneumococcal vaccine strategies in HIV-infected adults: a randomized clinical trial. *Scientific reports*, v. 6, n. 1, p. 1-8, 2016. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5007521/>. Acesso em: 05 de nov. de 2021.

SANTOS, Norma Suely de Oliveira; ROMANOS, Maria Teresa Villela; WIGG, Marcia Dutra. Síndrome da Imunodeficiência Adquirida/AIDS. In: COSTA, Luciana Jesus; *et al* (org.). *Virologia Humana*, 3ª edição. Rio de Janeiro. Grupo GEN, 2015. p.499-501. 978-85-277-2737-2. Disponível em: <https://integrada.minhabiblioteca.com.br/#/books/978-85-277-2737-2/>. Acesso em: 11 de abr. de 2021

SHIVE, Carey L. *et al.* Pre-vaccine plasma levels of soluble inflammatory indices negatively predict responses to HAV, HBV, and tetanus vaccines in HCV and HIV infection. *Vaccine*, v. 36, n. 4, p. 453-460, 2018. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29254840/>. Acesso em: 11 de nov. de 2021.

THINDWA, Deus *et al.* Vaccine strategies to reduce the burden of pneumococcal disease in HIV-infected adults in Africa. *Expert Review of Vaccines*, v. 19, n. 11, p. 1085-1092, 2020. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8315211/>. Acesso em: 03 de nov. de 2021.

UNAIDS. Estatísticas, c2021. Disponível em: <https://unaids.org.br/estatisticas/>. Acesso em: 06 de maio de 21.

VARGAS, Jose Ignacio *et al.* Achieving protection against HBV in HIV patients: Finding the best strategy. *Human vaccines & immunotherapeutics*, v. 12, n. 12, p. 3166-3167, 2016. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/21645515.2016.1215394>. Acesso em: 18 de outubro de 2021.

WILLIAMS, C. Response to Glinka *et al.* "Timing matters-influenza vaccination to HIV-infected patients". *HIV medicine*, v. 19, n. 3, p. e52-e52, 2018. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/hiv.12485>. Acesso em: 16/11/2021.

## Organizadora

### **Larisse Raquel Carvalho Dias**

Graduada em Ciências Biológicas pela Universidade Estadual do Piauí (2015). Especialista em Gestão Ambiental pelo Instituto Superior de Educação São Judas Tadeu (2016). Especialista em Ensino de Ciências pelo Instituto Federal do Piauí (2020). Mestra e Doutora em Agroecologia pela Universidade Estadual do Maranhão (UEMA), Campus São Luís. Desenvolve pesquisas nas áreas de controle alternativo e biológico fitossanitário com uso de óleos essenciais, fungos e bactérias como agentes controladores.

Lattes: <http://lattes.cnpq.br/0426561523027935>.

# Índice Remissivo

## A

análise 24, 25, 28, 29  
antitumoral 9, 11, 12, 19  
armazenamento 10

## B

bacteriana 36, 38  
bioativo 9, 11, 16

## C

câncer 9, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19  
cancerígenas 10, 12, 13, 14, 16, 17, 18  
carcinogênese 24, 25, 26, 27, 31, 34  
cardiovasculares 24, 25  
celular 24, 26  
células 25, 26, 29, 36, 37, 38, 39, 40, 44, 45, 46, 47, 48,  
49, 50, 51, 52

## D

desenvolvimento 24, 25, 26, 30, 31, 32, 39, 40, 44, 46,  
52  
doença 25, 36, 38, 39, 40, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51,  
59, 60, 61, 62, 63, 65, 70  
doenças 24, 25

## E

epidemiológicos 25  
estrógeno 24  
exclusão 39, 46, 58, 60, 61, 72  
experimentos 9

## F

ferramenta 60

## H

hormonais 24

## I

imunidade 36, 40, 45, 46, 47, 49, 50, 51

imunização 44, 58, 59, 71

imunológica 36, 38, 39, 40, 45, 47, 48, 50, 51

imunológico 38, 40, 47, 49, 52

imunossuprimidos 58, 62, 72

inclusão 39, 46, 58, 60, 61, 72

infecção 36, 37, 38, 39, 40, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50,  
51, 52, 58, 59, 63, 65, 66, 69, 70, 72

infeciosa 36, 38, 40

infecções 39, 47, 49, 50, 58, 59, 63, 67, 72

## L

linfócitos 37, 44, 47, 48, 49, 50, 51

## M

mama 24, 25, 27, 29, 30, 31, 32, 35

mecanismos 9, 12, 14, 16, 19

medicina 9

método 28

morbimortalidade 58

## N

neutrófilos 36, 37, 38, 39, 40

## P

pandemia 11

pesquisa 9, 19

plantas 9, 12



pneumococo 58, 72  
polimorfonucleares 37  
processo 29, 32  
produtos naturais 9  
progesterona 24

## R

responsabilidade 5  
resposta vacinal 58, 60, 68, 72  
riquezas naturais 9

## S

saúde 49, 58, 60, 72  
sistema 5, 26, 27, 34, 38, 39, 40, 47, 49, 51

## T

tecnologia 44  
tuberculose 36, 38, 39, 40  
tumor 24, 26, 28, 30, 31, 33, 35  
tumores 12, 13, 14, 15, 18, 24, 25, 27, 28, 30, 31, 32, 35  
tumores pulmonares 24, 28, 30, 31, 32

## V

vacinação 44, 46, 47, 49, 51, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65,  
66, 68, 69, 70, 71, 72  
vacinal 58, 60, 67, 68, 72  
vacinas 44, 46, 49, 51, 52, 58, 59, 60, 62, 67, 68, 70, 72  
vírus 44, 45, 46, 47, 49, 50, 51, 52, 59, 61, 62, 63, 65, 67,  
72  
vitaesteróides 9, 11





**AYA EDITORA**

**2023**