

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS  
DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGIA

**Modulação de genes e proteínas virais e da via NF $\kappa$ B pelo 17 $\beta$ -estradiol  
em linhagens celulares infectadas pelo HTLV-1(*Human T-lymphotropic  
virus 1*)**

LUCIANA DEBORTOLI DE CARVALHO

Orientadora: Prof (a) Dra Edel Figueiredo Barbosa Stancioli

Co-Orientadora: Dra Marina Lobato Martins

BELO HORIZONTE

2012

Luciana Debortoli de Carvalho

**Modulação de genes e proteínas virais e da via NF $\kappa$ B pelo 17 $\beta$ -estradiol  
em linhagens celulares infectadas pelo HTLV-1(*Human T-lymphotropic  
virus 1*)**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Microbiologia, do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais como requisito parcial para obtenção do título de Doutor em Microbiologia.

BELO HORIZONTE

2012

*“Para viver de verdade, pensando e repensando a existência, para que ela valha à pena, é preciso ser amado; e amar; e amar-se. Ter esperança; qualquer esperança. Questionar o que nos é imposto, sem rebeldias insensatas, mas sem demasiada sensatez. Saborear o bom, mas aqui e ali enfrentar o ruim. Suportar sem se submeter, aceitar sem se humilhar, entregar-se sem renunciar a si mesmo e à possível dignidade. Sonhar, porque se desistimos disso apaga-se a última claridade e nada mais valerá a pena. Escapar, na liberdade do pensamento, desse espírito de manada que trabalha obstinadamente para nos enquadrar, seja lá no que for. E que o mínimo que a gente faça seja, a cada momento, o melhor que afinal se conseguiu fazer.” Lya Luft.*

## **Agradecimento**

A Deus, pela minha vida, saúde, minha determinação e crenças espirituais.

Aos meus pais, Dalton e Lêda, o mais profundo agradecimento por suas sábias lições de esperança; sempre repetindo palavras essenciais – como, por exemplo: amor, compreensão, persistência e alegria – infundiram-me a confiança necessária para realizar os meus sonhos.

As minhas irmãs Eliane, Valéria e Ana Paula e aos meus sobrinhos Pedro e Rafael pelo carinho e apoio incondicional em todos os momentos.

A minha orientadora, Prof. Dra. Edel Figueiredo Barbosa Stancioli, pelo entusiasmo contagiante, pela orientação precisa e oportunidade de transformar este meu sonho em realidade.

A minha co-orientadora, Marina Lobato, pela calorosa recepção, pela disponibilidade em nos ajudar, pela lição de humildade e competência.

À Camila, companheira, amiga inseparável, com quem tenho aprendido bastante. Obrigada de coração, por me apresentar o mundo da pesquisa acadêmica, a me ensinar as técnicas e por me incentivar com doces palavras!

À Rafaela, que, além de amiga e companheira, muito me ensinou sobre as técnicas de biologia molecular e por me ajudar nas dificuldades da vida. Muito obrigada pelo sorriso, pela firmeza nos ensinamentos e carinho!

A Jaqueline e ao Rodrigo, que sempre procurou me ajudar no desenvolvimento dos experimentos e pela agradável companhia. Aos demais colegas do Laboratório de Virologia Básica e Aplicada pelo convívio.

Aos meus amigos e professores do DPMI/UFJF: Vânia, Cláudio, Rosângela, Márcio e Luzia pelo incentivo, carinho, ensinamentos e torcida pelo meu sucesso.

Enfim, a todos que direta ou indiretamente contribuíram de alguma forma para o desenvolvimento desta pesquisa.

Ao CNPq e à FAPEMIG, agências que apoiaram este projeto com recursos financeiros e bolsa de doutoramento.

## RESUMO

O HTLV-1 foi o primeiro retrovírus a ser isolado em seres humanos e pode induzir Leucemia-Linfoma de células T (ATL) e mielopatia associada ao HTLV (HAM/TSP). O HTLV-1 pode ser transmitido por amamentação, durante relações sexuais e através de transfusões de sangue ou compartilhamento de agulhas e seringas contaminadas. A transmissão do HTLV-1 é mais efetiva do homem para a mulher e mulheres infectadas adoecem mais do que os homens. Uma maior susceptibilidade feminina para a HAM/TSP é relatada em diferentes populações mundiais, mas sua causa não está esclarecida, sendo que estudos recentes apontam para um fator possivelmente hormonal. Neste contexto, o objetivo deste trabalho foi avaliar a regulação pelo  $17\beta$  estradiol de genes e proteínas virais, e da via NF $\kappa$ B em linhagens linfocíticas humanas permanentemente infectadas e não infectadas pelo HTLV-1. As células foram tratadas com concentrações variáveis de  $17\beta$  estradiol ( $1\mu\text{M}$  a  $0,0001\mu\text{M}$ ). A viabilidade celular foi avaliada pela técnica de citometria de fluxo (HFS), não sendo o hormônio sido citotóxico nas concentrações avaliadas. Para avaliação da expressão de genes virais, foi utilizada a PCR em tempo real. Houve alteração da expressão dos genes virais *gag/pol*, *tax/rex* (que codificam para proteínas estruturais, polimerase viral e proteínas regulatórias, respectivamente), especialmente na concentração de  $0,01\mu\text{M}$  com redução na expressão dos genes avaliados, enquanto que para a concentração de  $1\mu\text{M}$  da droga observou-se aumento na expressão destes genes, evidenciando uma regulação concentração-dependente. Foi avaliada a expressão da proteína Tax em células MT-2 submetidas ao tratamento com o  $17\beta$ -estradiol ( $1\mu\text{M}$  à  $0,0001\mu\text{M}$  - Sigma) utilizando anticorpo monoclonal anti-Tax tendo esta também sido concentração-dependente e inversamente proporcional à concentração utilizada. A regulação da expressão da via NF $\kappa$ B por PCR *array* foi avaliada para um conjunto de 84 genes, pós-tratamento com  $17\beta$ -estradiol nas concentrações de  $1\mu\text{M}$  e  $0,01\mu\text{M}$  em células C91PL (células TCD4+/CD25+ / HTLV-1 positivas) e células Jurkat (células TCD4+/CD25+ /HTLV-1 negativas). Quinze genes foram regulados, sendo 11 (73%) de maneira concentração-dependente, em sua maioria regulada negativamente, contrariamente ao

observado nas células não infectadas. Os resultados obtidos sugerem que as flutuações nos níveis de estradiol podem alterar a expressão de proteínas e genes virais e importantes moléculas regulatórias da via NF $\kappa$ B durante a infecção pelo HTLV-1, contribuindo para os processos de inflamação e cronificação observada em indivíduos infectados, especialmente no contexto da infecção em mulheres.