

Gabriel Silva de Souza

VACINAS DE RNAm CONTRA A COVID-19: uma revisão da literatura científica

Rio de Janeiro

2022

Gabriel Silva de Souza

VACINAS DE RNAm CONTRA A COVID-19: uma revisão da literatura científica

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Escola Politécnica de Saúde Joaquim Venâncio – Fundação Oswaldo Cruz (EPSJV-Fiocruz) como requisito parcial para aprovação no Curso Técnico em Biotecnologia.

Orientador(a): Fernanda de Oliveira Bottino

Rio de Janeiro

2022

Gabriel Silva de Souza

VACINAS DE RNAm CONTRA A COVID-19: uma revisão da literatura científica

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Escola Politécnica de Saúde Joaquim Venâncio – Fundação Oswaldo Cruz (EPSJV-Fiocruz) como requisito parcial para aprovação no Curso Técnico em Biotecnologia.

Aprovado em ___/___/___

BANCA EXAMINADORA

AGRADECIMENTOS

O desenvolvimento desse trabalho de conclusão de curso contou com a ajuda de algumas pessoas, dentre as quais eu agradeço: em primeiro lugar, agradeço a Fernanda de Oliveira Bottino, por ser a minha orientadora e ter desempenhado tal função com muita dedicação e amizade.

A Rayssa Raposo, que sempre esteve ao meu lado, pela amizade incondicional, apoio e carinho ao longo de todo o período em que me dediquei a este trabalho, não sei se é privilégio ou sorte, mas a sua amizade é um presente para mim.

Aos meus colegas da Escola Politécnica, com quem convivi intensamente durante os últimos anos, pelo companheirismo e pela troca de experiências que me permitiram crescer não só como pessoa, mas também como formando.

E por fim a Escola Politécnica de Saúde Joaquim Venâncio, por me trazer experiências e saberes que irão me acompanhar em toda minha nova jornada.

“A ciência de hoje é a tecnologia de amanhã.”

- Edward Teller

RESUMO

Em 11 de março de 2020 foi decretada, pela Organização Mundial de Saúde, a pandemia de SARS-CoV-2, agente etiológico da Covid-19. Desde então, cientistas começaram a trabalhar em caráter emergencial para o desenvolvimento de imunizantes contra esta doença, utilizando diferentes tecnologias. Este estudo objetivou estudar os aspectos históricos, a metodologia empregada e o mecanismo de indução da resposta imune pelas vacinas de RNA mensageiro (RNAm) contra a Covid-19, a partir de uma revisão da literatura científica. A autorização para o uso emergencial das duas primeiras vacinas - Moderna e Pfizer-BioNTech - aconteceu em dezembro de 2020. Para estas, um RNAm sintético da glicoproteína *Spike* foi sintetizado *in vitro*, encapsulado por nanopartículas lipídicas e, após a entrega citosólica, traduzido em proteínas virais. Estas são expressas na superfície das células apresentadoras de antígenos, dando início à resposta imune, a qual é composta principalmente por linfócitos T (CD4 e CD8) e B.

Palavras-chave: Covid-19; Vacinas de RNAm; Histórico; Metodologia; Resposta imune.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Estrutura do SARS-CoV-2.....	20
Figura 2 – Os três passos da criação de uma vacina de RNAm.....	21
Figura 3 – Representação esquemática dos componentes das imunidades inata e adaptativa.....	23

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 – Estratégias de busca para o levantamento bibliográfico.....	15
Quadro 2 – Trabalhos selecionados após a busca na base de dados <i>Pubmed</i>	16

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	10
1.1. JUSTIFICATIVA	12
2. OBJETIVOS	14
2.1. OBJETIVO GERAL	14
2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	14
3. METODOLOGIA	15
4. REVISÃO DE LITERATURA	18
4.1. HISTÓRICO DAS VACINAS DE RNAm	18
4.2. METODOLOGIA DAS VACINAS DE RNAm CONTRA A COVID-19	19
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	27

1. INTRODUÇÃO

Casos de pneumonia grave e Síndrome Respiratória Aguda Grave (SRAG) foram detectados no continente Asiático em Wuhan, na China, no final de 2019. Em 11 de março de 2020 foi decretada a pandemia por um novo coronavírus, até então, não identificado em seres humanos (OMS, 2020). Posteriormente, este vírus foi nomeado como SARS-CoV-2 (ou síndrome respiratória aguda grave do coronavírus 2) pelo Comitê Internacional de Taxonomia Viral (ICTV) e a doença foi nomeada, pela Organização Mundial de Saúde (OMS), como Covid-19 (do inglês, *Coronavirus disease*), sendo o número 19 uma referência ao ano de início da doença (OMS, 2020).

Os coronavírus pertencem à família *Coronaviridae* composta por quatro gêneros — *Alfacoronavírus*, *Betacoronavírus*, *Deltacoronavírus* e *Gammacoronavírus* — que causam doenças em humanos e animais. Dentro destes gêneros, sete espécies são as principais causadoras de doenças em humanos e, três destas espécies, causam a Síndrome Respiratória do Oriente Médio (MERS-CoV), Síndrome Respiratória Aguda Grave (SARS-CoV) e Covid-19 (SARS-CoV-2), responsáveis pelo maior número de mortes relacionadas ao coronavírus (ICTV, 2020).

As manifestações clínicas da Covid-19 variam desde casos assintomáticos até sintomas leves a mais graves, sendo similares aos sintomas das infecções causadas pelo MERS-CoV e pelo SARS-CoV. Esta infecção pode apresentar sintomas gripais, incluindo: febre, tosse, dor no corpo e, em alguns casos mais graves, síndrome respiratória aguda podendo evoluir ao óbito (OMS, 2020; RABAAN *et al.*, 2021).

Segundo a OMS, o número total de mortes associadas direta ou indiretamente à pandemia de Covid-19 entre 1 de janeiro de 2020 e 31 de dezembro de 2021 foi de aproximadamente 14,9 milhões (descrito como “excesso de mortalidade”) (OMS, 2022), sendo que, em pacientes idosos e com comorbidades os sintomas são mais severos. Até então, não foi encontrado tratamento ou medicamento que cure esta doença, mas foram recomendados pela OMS métodos não farmacológicos para conter a propagação desse patógeno, como: uso de máscaras, lavagem das mãos, isolamento social e o uso de álcool 70% (OMS, 2020; OPAS, 2021).

No final de 2019, com o surgimento do SARS-CoV-2 iniciou-se a corrida pelo desenvolvimento de uma vacina por diversas instituições ao redor do mundo, uma vez que,

observou-se um alto potencial mutagênico deste patógeno (OMS, 2021). Por ser um vírus de descoberta recente e que apresentou uma alta taxa de infecções e mortalidade quando do seu surgimento, cientistas de diversos países começaram a trabalhar em caráter emergencial para o desenvolvimento de imunizantes. Com um resultado relativamente rápido de um ano, a primeira vacina emergencial (Pfizer/BioNTech) foi aplicada no Reino Unido. Esta vacina foi desenvolvida a partir da tecnologia de RNAm, contudo, posteriormente, vacinas de diferentes tecnologias foram desenvolvidas contra o SARS-CoV-2 (OMS, 2020).

As vacinas são imunizantes essenciais para os seres humanos e animais, tendo a capacidade de erradicar doenças, uma vez que têm a função de induzir uma resposta imunológica contra patógenos. A primeira vacina produzida foi contra a varíola no século XVIII, quando esta doença era uma ameaça à humanidade. Esta vacina foi desenvolvida após Edward Jenner inocular o vírus da varíola bovina em um garoto de oito anos de idade (SALEH *et al.*, 2021).

As vacinas apresentam metodologias e estratégias de aplicação diferentes, contudo, todas com o mesmo propósito: o de induzir uma resposta imunológica contra um determinado patógeno. As vacinas mais conhecidas são as convencionais, que terão como estratégia a utilização de patógenos vivos atenuados ou inativados. Contudo, esses imunizantes ainda apresentam obstáculos no seu desenvolvimento, como, por exemplo, a produção em larga escala, no caso de algumas doenças virais emergentes (PARDI *et al.*, 2018).

Ainda nos dias de hoje, usamos esses imunizantes no combate de diversos tipos de doenças, com novas tecnologias e plataformas. Dentre as diferentes tecnologias vacinais existentes atualmente, podemos destacar: vacinas com microrganismos atenuados ou inativados, vacinas genéticas (de DNA ou RNA), vacinas vetoriais e vacinas de subunidades (FAN *et al.*, 2021). Apesar das vacinas convencionais usarem vírus vivo ou atenuado, estas, apresentam elevada segurança, uma vez que todas as vacinas passam por rigorosas testagens de segurança antes de serem distribuídas à população. A probabilidade de uma pessoa ser prejudicada por uma doença, que seria evitável por uma vacina, é maior do que pelo próprio imunizante (UNICEF, 2022).

Além das vacinas convencionais temos também a tecnologia de ácido ribonucleico (RNA), cujo princípio de funcionamento consiste em ter o RNAm, um mensageiro intermediário,

de um determinado antígeno do patógeno, traduzido por ribossomos após a entrega nas células hospedeiras (KEEFE; PAI; ELLINGTON, 2010; WITTRUP; LIEBERMAN, 2015).

Até o momento, foram desenvolvidos alguns imunizantes contra o SARS-CoV-2 e as suas variantes, dentre elas: Coronavac (Sinovac); AstraZeneca/Oxford; mRNA-1273 (Moderna); e BNT162b2 (Pfizer-BioNTech). Os imunizantes da Pfizer-BioNTech e da Moderna se baseiam na tecnologia de RNA mensageiro (RNAm); da Coronavac (Sinovac) na tecnologia de vírus inativado e da AstraZeneca na tecnologia de vetor de adenovírus (FAN *et al.*, 2021). Essas vacinas apresentam eficácia entre 50 e 95% no combate à infecção pela Covid-19 e possuem diferentes estratégias de imunização (OMS, 2020; FAN *et al.*, 2021).

As vacinas com a tecnologia de RNAm são as mais recentes no mercado, agindo com a codificação de RNAm da proteína viral. Estas foram as primeiras a serem liberadas pela OMS para o uso emergencial: primeiramente a Pfizer-Biotech, em dezembro de 2020, seguida da Moderna, em de abril de 2021. Com o início da vacinação contra a Covid-19 foi possível observar a ocorrência de casos mais leves, com uma redução nas taxas de infecções, internações e óbitos (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2022).

1.1. JUSTIFICATIVA

As vacinas possuem um papel fundamental no controle das infecções, existindo imunizantes para diferentes microrganismos — vírus, bactérias e fungos —, que são aplicadas em pessoas de diferentes idades no intuito de proporcionar segurança e saúde à população. A primeira vacina foi desenvolvida no século XVIII por Edward Jenner a fim de controlar a epidemia de Varíola humana.

O uso desses imunizantes permanece até os dias de hoje e, com o avanço das tecnologias, foi possível desenvolver outras formas de produção de vacinas com diferentes estratégias de imunização. As vacinas de RNAm, por serem uma tecnologia nova no mercado, geraram muitas dúvidas na população, inclusive devido ao aparecimento das “Fake News”, atrapalhando o avanço da vacinação e ao combate da pandemia do SARS-CoV-2. Desta forma, estudos que elucidem a metodologia utilizada na produção desta vacina, assim como a resposta imune e os resultados gerados pela mesma, se fazem de extrema importância.

Este trabalho propõe-se a estudar as características e a produção das vacinas de RNAm contra a Covid-19, comparando as vacinas Pfizer e Moderna que são dois imunizantes que contém códigos genéticos do patógeno de interesse. Esses imunizantes causam incertezas na população de como é feito o processo de produção e seu mecanismo de ação no sistema imunológico humano. Sendo assim, este projeto visa contribuir para um entendimento geral do funcionamento destas vacinas e das diferentes respostas imunológicas geradas.

2. OBJETIVOS

2.1. OBJETIVO GERAL

Estudar sobre as vacinas de tecnologia de RNA mensageiro (RNAm), comercialmente disponíveis até o momento para o processo de imunização contra a Covid-19, compreendendo as suas metodologias e os seus mecanismos de ação no corpo humano.

2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- 1) Descrever a história do surgimento das vacinas de RNAm e compreender a metodologia utilizada no processo de desenvolvimento destas vacinas contra o SARS-CoV-2;
- 2) Compreender o mecanismo de ação das vacinas de RNAm no corpo humano, analisando o principal tipo de resposta imunológica estimulado.

3. METODOLOGIA

Este projeto utilizou como método de pesquisa uma revisão da literatura científica, baseada em uma abordagem qualitativa, visando uma análise de vacinas de RNAm e buscando respostas do seu mecanismo de ação no corpo humano, além de estudar sobre a tecnologia dessas vacinas contra o SARS-CoV-2. Foi composto por três capítulos, sendo o primeiro referente a descrição do surgimento das vacinas de RNAm e a compreensão da metodologia utilizada no processo de desenvolvimento destas vacinas. O segundo capítulo abordou o mecanismo de ação das vacinas de RNAm, estudando o principal tipo de resposta imune estimulada.

Para a pesquisa de artigos científicos, foi usada como base de dados o *Pubmed*, além de documentos oficiais da Organização Mundial da Saúde (OMS), *Centers for Disease Control and Prevention* (CDC) e outras instituições de saúde.

Como critérios de inclusão, foram selecionados apenas trabalhos com textos disponíveis gratuitamente e revisões e/ou revisões sistemáticas da literatura. As estratégias de busca estão descritas no Quadro 1.

Quadro 1 – Estratégias de busca para o levantamento bibliográfico

Estratégia de pesquisa	Total de artigos
(mRNA vaccine) AND (covid-19) AND (immune system)	8
(mRNA vaccine) AND SARS-COV-2 AND (immune system)	8
(mRNA vaccine) AND (covid-19) AND (mechanism action)	2
(mRNA vaccine) AND (covid-19) AND (efficacy)	22
Total	40

Fonte: autoria própria

Após o levantamento, dos 40 artigos obtidos no *PubMed*, foram excluídos os artigos repetidos e os que não abordam a temática do projeto. Por fim, foi feita uma leitura breve dos títulos e dos resumos a fim de incluir apenas os trabalhos relacionados com a temática desta monografia. Ao todo, foram selecionados 21 artigos, sendo estes apresentados no Quadro 2.

Quadro 2 – Trabalhos selecionados após a busca na base de dados *Pubmed*

Título	Autor(es)	Ano
Potential mechanisms of anaphylaxis to COVID-19 mRNA vaccines.	Risma KA, Edwards KM, Hummell DS <i>et al.</i>	2021 Apr 20
Safety and Efficacy of COVID19 Vaccines: A Systematic Review and Meta-Analysis of Different Vaccines at Phase 3.	Fan Yu-Jing, KwokHung Chan, Ivan Fan Ngai Hung	September 4, 2021
COVID-19 vaccines: The status and perspectives in delivery points of view.	Jee Young Chung, Melissa N Thone	December 24, 2020
Antigen Presentation of mRNA-Based and Virus-Vectored SARS-CoV2 Vaccines.	Rijkers GT, Weterings N, Obregon-Henao A, <i>et al.</i>	2021 Aug 3
COVID-19 Vaccines: Current Conditions and Future Prospects.	Zieneldien T, Kim J, Cao J	2021 Sep 26
Innate and adaptive immune responses toward nanomedicines.	Viana IMO, Roussel S, Defrêne J, <i>et al.</i>	2021 Mar 13.
Review the safety of Covid-19 mRNA vaccines: a review.	Pratibha Anand, Vincent P Stahel	May 1, 2021
SARS-CoV-2 (Covid-19) vaccines structure, mechanisms and effectiveness: A review	Hadis Fathizadeh, Saman Afshar, Mahmood Reza Masoudi <i>et al.</i>	October 1, 2021
mRNA vaccines for COVID-19: what, why and how	Jung Woo Park, Philip N P Lagniton, Yu Liu, <i>et al.</i>	April 10, 2021
Efficacy, Immunogenicity and Safety of COVID-19 Vaccines: A Systematic Review and Meta-nalysis.	Sharif N, Alzahrani KJ, Ahmed SN, Dey SK.	2021 Oct 11
Efficacy of mRNA, adenoviral vector, and perfusion protein COVID-19 vaccines.	Zinatizadeh MR, Zarandi PK	2022 Feb
Mini Review Immunological Consequences of Immunization With COVID-19 mRNA	Lombardi A, Bozzi G, Ungaro R, <i>et al.</i>	2021 Mar 12

Vaccines: Preliminary Results.		
An Update on the Pathogenesis of COVID-19 and the Reportedly Rare Thrombotic Events Following Vaccination.	Kantarcioglu B, Iqbal O, Walenga JM, <i>et al.</i>	2021 Jan-Dec
mRNA vaccine: a potential therapeutic strategy.	Wang Y, Zhang Z, Luo J, <i>et al.</i>	2021 Feb
Synthetic Messenger RNA-Based Vaccines: from Scorn to Hype.	Pascolo S.	2021 Feb 9
RNA Vaccines: A Suitable Platform for Tackling Emerging Pandemics?	Sandbrink JB, Shattock RJ.	2020 Dec 22
The Critical Contribution of Pseudouridine to mRNA COVID19 Vaccines.	Morais P, Adachi H, Yu YT.	2021 Nov 4
Principles for designing an optimal mRNA lipid nanoparticle vaccine.	Kon E, Elia U, Peer D.	2021 Oct 26
Review of Ribosome Interactions with SARS-CoV-2 and COVID19 mRNA Vaccine.	Wei J, Hui A.	2022 Jan 1
Strategies for controlling the innate immune activity of conventional and self-amplifying mRNA therapeutics: Getting the message across.	Minnaert AK, Vanluchene H, Verbeke R, <i>et al.</i>	2021 Sep;
Nucleic acid delivery and nanoparticle design for COVID vaccines.	Andresen JL, Fenton OS.	2021 Sep 14

Fonte: autoria própria

4. REVISÃO DE LITERATURA

4.1. HISTÓRICO DAS VACINAS DE RNAm

Apresentando um papel fundamental para a saúde humana, as vacinas previnem milhares de doenças salvando inúmeras vidas todos os dias. Com campanhas de vacinação em massa é possível erradicar doenças, como o que aconteceu com a varíola (PARDI *et al.*, 2018). São imunizantes dados desde a infância com o intuito de proteger contra doenças graves e fatais, ao estimular as defesas naturais do corpo. Esses imunizantes “preparam” o sistema imunológico para combater a doença de forma mais rápida e com maior eficácia.

O interesse nas moléculas de ácido ribonucleico mensageiro (RNAm) vem da sua capacidade de serem entregues e traduzidas em estruturas celulares, chamadas de ribossomos, levando a produção da proteína desejada. Esta metodologia foi testada pela primeira vez em 1980. Após duas décadas, surgiu a ideia de introduzir o RNAm em células hospedeiras (transfecção) para a expressão de um gene de interesse, que com o tempo passou por diversas melhorias (MALONE; FELGNER; VERMA, 1989; PARK *et al.*, 2021).

Após estudos com RNA em animais no ano de 1990, foi visto que terapias com ácido nucléico tem funções promissoras em abordagens de vacinas convencionais. O RNA mensageiro transcrito *in vitro* foi injetado em camundongos de laboratório, que apresentaram a tradução deste em proteínas (WOLFF *et al.*, 1990). Além deste, outro estudo em 1992, comprovou que o RNAm codificador de vasopressina no cérebro provoca respostas fisiológicas no hipotálamo de ratos (JIRIKOWSKIJ *et al.*, 1992) Contudo, esses resultados iniciais, apesar de promissores, não tiveram investimentos devido a preocupações como: instabilidade da molécula e alta imunogenicidade inata do RNAm e a ineficiência *in vivo* (KARIKÓ *et al.*, 2016; PARDI *et al.*, 2018).

Uma série de avanços na ciência começou a ocorrer quando vacinas de RNAm passaram a ser utilizadas. Essas vacinas têm sido aplicadas na prevenção de doenças infecciosas e de câncer, tratamento de alergias e de outras doenças que necessitam de reposição proteica. Atualmente, existem algumas vacinas de RNAm sob ensaios clínicos ou já disponíveis contra determinados tipos de câncer e alguns patógenos infecciosos, como: zika, citomegalovírus, vírus influenza, metapneumovírus e vírus parainfluenza (PARK *et al.*, 2021; FIGUEIREDO *et al.*, 2021)

Ao longo dos anos, com os avanços de tecnologias científicas, estudos e investimentos em pesquisa abriram portas para que o RNAm se tornasse uma ferramenta terapêutica nas áreas de desenvolvimentos de vacinas. Com a gravidade da pandemia global de Covid-19 tornou-se relevante o uso das vacinas de RNAm (PARDI *et al.*, 2018).

Em relação à Covid-19, em dezembro de 2020, tivemos uma resposta contra a pandemia de SARS-CoV-2 quando houve a autorização de uso emergencial das duas primeiras vacinas baseadas em RNAm (Pfizer-BioNTech e Moderna), contra esta doença. A vacina da Pfizer foi aprovada para o uso emergencial no Reino Unido e, posteriormente, foi a primeira vacina a ser aprovada para aplicação fora do uso emergencial na Suíça. Nos Estados Unidos, a vacinação começou em dezembro com a Pfizer e, em seguida, no mesmo mês foi administrada a aplicação da Moderna somando a distribuição de aplicações (PARDI *et al.*, 2018; ALEENA *et al.*, 2020; CNN BRASIL, 2020).

4.2. METODOLOGIA DAS VACINAS DE RNAm CONTRA A COVID-19

O *design* de produção das vacinas de RNAm é diferente das vacinas convencionais, conduzindo uma nova plataforma terapêutica lançada no mercado, recentemente apresentando um grande sucesso das vacinas mRNA-1273 (Moderna) e BNT162b2 (Pfizer-BioNTech) contra o SARS-CoV-2.

O sucesso relativamente recente das vacinas da Pfizer e da Moderna fez parecer simples e rápida a produção dos imunizantes baseados em RNAm, porém demandam-se décadas de estudos e pesquisas científicas para, enfim, produzir uma vacina que seja aprovada, após passar por várias etapas de testes pré-clínicos e clínicos (KON; ELIA; PEER, 2021).

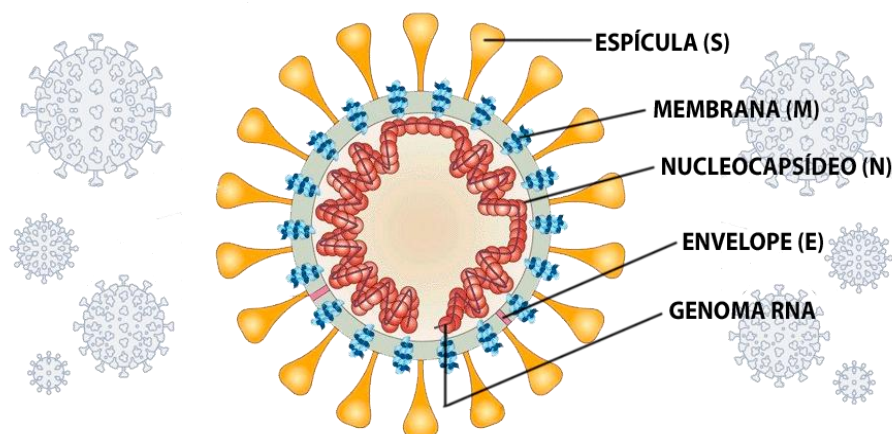
Para a produção das vacinas de RNAm, pesquisadores precisaram desenvolver um RNA sintético, que “ensina” o organismo a fabricar uma proteína que está presente na estrutura do SARS-CoV-2 — a proteína S (do inglês, *Spike*) —, responsável pela interação do vírus com os receptores das células humanas (SBIM, 2021).

Os coronavírus são vírus envelopados, esféricos ou pleomórficos, com o diâmetro de 80 a 120nm, de RNA de fita simples não segmentado de senso positivo (ssRNA+) (PAULES; MARSTON; FAUCI, 2020; FUNG *et al.*, 2019). O genoma de ssRNA+ tem um tamanho que

varia de 27 a 32 kb, consideravelmente grande e de tradução complexa, tendo assim uma organização genômica policistrônica; apresentam um mecanismo de transcrição para produzir muitos RNAs mensageiros sub genômicos para a síntese proteica com diversas finalidades (DE WILDE *et al.*, 2017).

Estruturalmente, apresentam no seu envoltório externo (envelope) vários componentes protéicos ou glicoprotéicos que são ambientados na partícula viral da membrana lipídica, como: a glicoproteína viral S (Spike), a glicoproteína de Membrana (M), sendo está a mais abundante na superfície do vírion, a proteína HE (Hemaglutinina-Esterase), que foi observada somente em alguns *Beta-coronavírus*, e a proteína do Envelope (E). No interior do vírion encontra-se um nucleocapsídeo helicoidal constituído pela junção da proteína do Nucleocapsídeo (N) com o material genético do vírus (ssRNA+) (Figura 1) (CRUZ *et al.*, 2020).

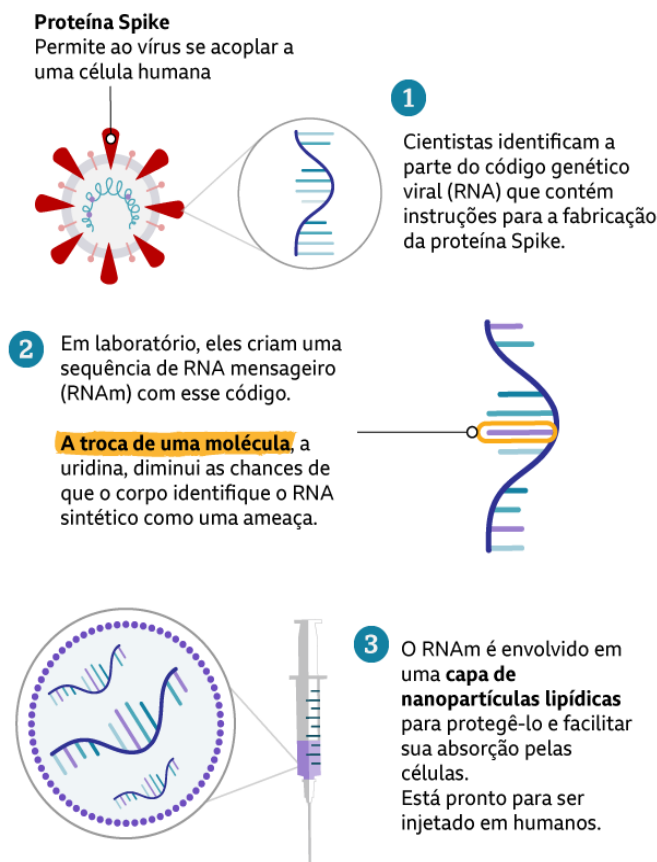
Figura 1 – Estrutura do SARS-CoV-2



Fonte: Figura adaptada de LI *et al.*, 2020

Para o desenvolvimento dessas vacinas de RNA, o RNAm da glicoproteína S do SARS-CoV-2 foi sintetizado *in vitro* e encapsulado por nanopartículas lipídicas, diminuindo a sua instabilidade *in vivo*. Por ser sintetizado em laboratório, a molécula de RNAm não contém outra informação genética, sendo incapaz de realizar qualquer outra atividade, de forma que esta vacina não causa a Covid-19 ou qualquer modificação no genoma humano (Figura 2) (SBIM, 2021).

Figura 2 - Os três passos da criação de uma vacina de RNAm



Fonte: Nature; Norbert Pardi, Universidade da Pensilvânia; Pfizer; Moderna **BBC**

Fonte: Figura adaptada de Pardi, 2020

O *design* das nanopartículas lipídicas (LNPs) de RNAm é agregado por vários elementos, sendo eles: o *design* da sequência de RNAm; a escolha de modificação de um certo nucleotídeo; o desenvolvimento de uma formulação de LNPs para encapsular e entregar o RNAm; e o longo prazo de armazenamento. Cada fase exige uma infinidade de seleções e considerações a serem realizadas (KON; ELIA; PEER, 2021).

As principais fases de uma produção de vacina de RNAm são: (1) expressão de RNAm codificado, (2) imunogenicidade devido ao reconhecimento de RNAm como uma molécula estranha por sensores de RNA intracelular e (3) estabilidade de RNAm. Estes são controlados

projetando o RNAm com nucleotídeos modificados, modificações de sequência e modalidades de capeamento de RNAm (KON; ELIA; PEER, 2021).

A fase 1 utiliza uma fita de RNAm que contém uma parte do material genético do SARS-CoV-2 que irá conter instruções para a expressão da proteína Spike; na fase 2 o RNAm é produzido em laboratório (RNAm sintético), diminuindo a chances de o sistema imune identificar o RNAm sintético como uma ameaça; e na fase 3 o RNAm é encapsulado por nanopartículas lipídicas, devido à alta instabilidade do RNA, facilitando a sua absorção pelas células (PFIZER, 2020).

Hoje em dia, os mRNA-LNPs são analisados a partir da sua capacidade de expressar um RNAm codificador, a imunogenicidade ao reconhecimento de RNAm como um corpo estranho por sensores de RNA intracelular, toxicidade e estabilidade da formulação LNP (KON; ELIA; PEER, 2021).

4.3. RESPOSTA IMUNOLÓGICA FRENTE AS VACINAS DE RNAm CONTRA A COVID-19

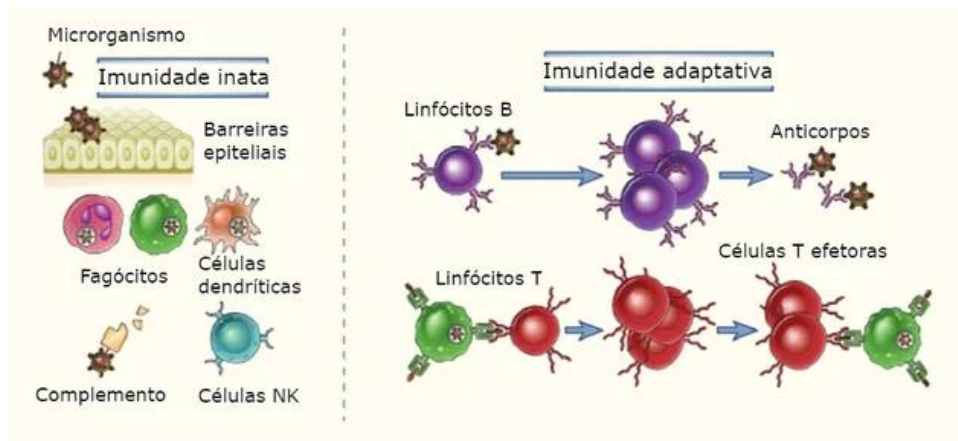
O sistema imune é constituído por conjuntos de células, tecidos, órgãos e moléculas presentes no corpo humano e de outros seres vivos para a eliminação de moléculas estranhas ou agentes infecciosos e com a finalidade de manter a homeostasia do organismo. As funções orgânicas de um organismo ou os processos quem mantêm este vivo são chamados de mecanismos fisiológicos do sistema imune; que consistem em respostas coordenadas dessas células e moléculas na presença dos antígenos e dos demais ativadores, que então ocasionam a presença das respostas específicas e seletivas para aquele tipo de agente infeccioso (TEVA; FERNANDEZ; SILVA, 2009).

As respostas imunológicas abrangem vários mecanismos especializados, como: células e componentes humorais, os quais fazem parte dos sistemas adaptativo e inato da resposta imune, que atuam para garantir a sobrevivência do hospedeiro (SILVA *et al.*, 2021).

A resposta imune inata é conhecida como uma resposta primária, constituída por células fagocíticas – macrófagos, neutrófilos e células dendríticas –, barreiras físicas, sistema

complemento, citocinas e células Natural Killer (NK). É uma resposta rápida e inespecífica contra qualquer agente estranho (Figura 3) (CRUVINEL *et al.*, 2010; SILVA *et al.*, 2021).

Figura 3 – Representação esquemática dos componentes das imunidades inata e adaptativa



Fonte: Figura adaptada de ABBAS; LICHTMAN; PILLAI, 2008

Os principais mecanismos a serem ativados na resposta imune inata, através de estruturas moleculares de micro-organismos, são: liberação de mediadores inflamatórios, fagocitose, ativação de proteínas do sistema complemento, produção de citocinas e quimosinas e síntese de proteínas de fase aguda (CRUVINEL *et al.*, 2010).

Se a resposta imune inata for o suficiente para eliminar um agente infeccioso, não haverá necessidade de ocorrer a ativação da resposta adaptativa, sob outro ponto de vista, caso ocorra a persistência da infecção, devido aos mecanismos de escape desse agente, ocorrerá a necessidade da ativação da resposta imune adaptativa (TEVA; FERNANDEZ; SILVA, 2009).

A resposta imune adaptativa, também chamada de imunidade adquirida, é uma outra linha de ação que o corpo do hospedeiro usa para se defender de infecções por antígenos, a qual é composta por uma resposta imune humoral e celular. Na imunidade humoral tem-se a produção de anticorpos por linfócitos B, enquanto a imunidade celular é dependente da resposta de linfócitos T (Figura 3). É uma resposta específica ao patógeno e capaz de formar uma memória imunológica em casos de segunda infecção.

Os linfócitos T apresentam-se em duas classes principais: linfócitos TCD4+, ou auxiliares, que agem como ativadores de outras células, como os linfócitos B e os macrófagos, além de coordenar a resposta imunitária, e, os linfócitos TCD8+, ou citotóxicos, que matam as células infectadas. Os linfócitos T e B são produzidos na medula óssea, mas o para o seu amadurecimento e funcionamento os linfócitos T migram para o timo (CRUVINEL *et al.*, 2010; SILVA *et al.*, 2021).

As vacinas baseadas em RNAm têm mostrado um excelente perfil de segurança e uma boa indução da resposta imune celular e humoral. Estas vacinas possuem um RNA codificador da proteína Spike (S) que leva a produção desta proteína pelas células humanas, através da tradução do RNAm permitindo o uso desse mecanismo pelo corpo como uma forma de defesa contra a infecção (LIMA; ALMEIDA; KFOURI, 2021)

Uma vez injetado, o conteúdo do imunizante é retido pelas células dendríticas apresentadoras de antígeno, nas quais as proteínas S são traduzidas, com base nas instruções do RNAm. Estas proteínas são, então, transportadas até a superfície destas células onde ocorre o desencadeamento dos processos de defesa, a partir da estimulação da resposta imunológica pela apresentação do antígeno (proteína S) do SARS-CoV-2 (LURIE, *et al.* 2020).

A ação do imunizante se inicia com a ativação dos linfócitos T. Estas células fazem parte da resposta imune celular as quais possuem, dentre outras funções, o papel de induzir uma resposta antiviral, a partir da produção de citocinas (linfócitos TCD4) ou da eliminação das células infectadas (linfócitos TCD8) (BIO-MANGUINHOS, 2020).

Os linfócitos T auxiliares detectam a proteína S - proteína esta desconhecida pelo sistema imune - e recrutam os linfócitos B. Após esse reconhecimento, os linfócitos B entram em contato com a proteína da superfície do vírus e produzem anticorpos não neutralizantes e neutralizantes, sendo este último, específico contra ela (LURIE *et al.*, 2020)

Outra célula de defesa envolvida na resposta imune induzida pelas vacinas virais – assim como nas infecções virais –, é o linfócito T citotóxico (linfócito TCD8), responsável pelo reconhecimento e destruição de qualquer célula que apresente a proteína Spike em sua superfície. Ao ser destruída ou ao sofrer apoptose, a célula libera fragmentos da proteína S, que podem ser identificados pelo sistema imunológico do hospedeiro, desencadeando o processo de resposta imune (LURIE *et al.*, 2020).

A vacina mRNA-1273, da Moderna Therapeutics (Cambridge, MA, EUA), foi a primeira vacina que entrou em testes clínicos de fase 1, apenas 42 dias, após a divulgação do sequenciamento completo do genoma do SARS-Cov-2 (FREDERIKSEN *et al.*, 2020).

A mRNA-1273 é uma vacina baseada em RNAm com uma plataforma de tecnologia em nanopartículas lipídicas (LNP) que codifica a proteína S. Essa tecnologia baseada em LNP foi mostrada anteriormente por apresentar proteção contra uma série de patógenos em estudos pré-clínicos, além de induzir uma forte resposta imunológica (ESPESETH *et al.*, 2020).

A vacina da Moderna apresenta um perfil de imunogenicidade rápida e robusta, que, através da expressão por nucleotídeos codificados, se baseia nas estruturas do antígeno encapsulado por nanopartículas lipídicas, a fim de evitar a ativação intracelular precoce de interferons, a qual pode interferir na replicação do vírus. Estes atributos da formulação do RNAm e composição foram associados a expressão de proteína, indução de células auxiliares foliculares T (TCD4+) do antígeno específico e ativação de células B para a produção de anticorpos (JACKSON, *et al.*, 2020).

Outra candidata a vacina baseada em RNAm foi a da Pfizer-BNT162, em conjunto com o laboratório BioNTech's, o qual possui uma grande experiência em desenvolvimentos terapêuticos baseados em RNAm, em particular contra o câncer, manipulando moléculas de RNAm sintetizadas e sistemas de entrega intracelular (STALDER *et al.*, 2017). A vacina da Pfizer-BNT162 também é envolvida por uma camada de LNP. Os RNAm-LNPs são avaliados com base em sua capacidade de expressar o mRNA codificado, sua imunogenicidade, devido ao reconhecimento de mRNA como uma entidade estranha por sensores de RNA intracelular, estabilidade e toxicidade da formulação de LNP (KON; ELIA; PEER, 2021).

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

- Foi possível observar que as vacinas de RNAm apresentam uma nova tecnologia de imunização contra o vírus SARS-CoV-2.
- Aprovadas para o uso emergencial, as vacinas Pfizer-BioNTech e Moderna, foram as primeiras vacinas baseadas em RNAm a serem autorizadas para aplicação.
- Para o desenvolvimento do design das vacinas de RNAm, foi sintetizado *in vitro* o RNAm da glicoproteína S do SARS-CoV-2 e encapsulado por nanopartículas lipídicas, ocorrendo a diminuição da instabilidade *in vivo*.
- As vacinas de RNAm apresentam uma imunogenicidade rápida e robusta, têm mostrado um ótimo perfil de segurança e uma boa indução de resposta humoral e imune celular.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABBAS, A.; LICHTMAN, A.; PILLAI, S. **Imunologia celular e molecular**. 6. ed. [S. l.]: Elsevier, 2008. Acesso em 12 de março de 2022.

ALEENA, B. *et al.* mRNA Vaccines to Prevent COVID-19 Disease and Reported Allergic Reactions: Current Evidence and Suggested Approach. **The Journal of Allergy and Clinical Immunology: In Practice**, [S. l.], p. 1423-1437, 31 dez. 2020. DOI <https://doi.org/10.1016/j.jaip.2020.12.047>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2213219820314112#cebib0010>. Acesso em: 19 jun. 2022.

BIO-MANGUINHOS. COVID-19: a vez das células T? *In: Bio-Manguinhos*. [S. l.], 24 set. 2020. Disponível em: <https://www.bio.fiocruz.br/index.php/br/noticias/1982-covid-19-a-vez-das-celulas-t>. Acesso em: 16 nov. 2022.

BRASIL, CNN. Veja quais países iniciaram a vacinação contra a Covid-19; Brasil está fora: Confira o progresso da vacinação contra a Covid-19 no mundo. Veja quais países iniciaram a vacinação contra a Covid-19; Brasil está fora, CNN Brasil, p. 1, 24 dez. 2020. Disponível em: <https://www.cnnbrasil.com.br/saude/quais-os-paises-que-ja-comecaram-a-vacinacao-contr-a-covid-19/>. Acesso em: 19 jun. 2022.

COSTA, C.; TOMBESI, C. Covid-19: os três passos do método revolucionário para criar vacinas de RNA. Covid-19: os três passos do método revolucionário para criar vacinas de RNA. **BBC News Brasil**, [S. l.], p. 1, 30 nov. 2020. Disponível em: <https://www.bbc.com/portuguese/geral-55091872>. Acesso em: 19 jun. 2022.

CRUVINEL, W. *et al.* Sistema imunológico: Parte I. Fundamentos da imunidade inata com ênfase nos mecanismos moleculares e celulares da resposta inflamatória. **Revista Brasileira de Reumatologia**, [S. l.], v. 50, n. 4, p. 1-16, 10 ago. 2010. DOI <https://doi.org/10.1590/S0482-50042010000400008>. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rbr/a/QdW9KFBP3XsLvCYRJ8Q7SRb/?lang=en>. Acesso em: 18 nov. 2022.

DE FIGUEIREDO, B. *et al.* Covid-19 mRNA vaccines: a new window opens in the field of immunology. **Research, society and development**, [S. l.], ano 2021, v. 10, n. 10, p. 2525-3409, 8 set. 2021. DOI <https://doi.org/10.33448/rsd-v10i10.18818>. Disponível em: <https://rsdjournal.org/index.php/rsd/article/view/18818>. Acesso em: 11 out. 2022. Email ratification March 2020 (MSL #35); 2019. Disponível em: https://talk.ictvonline.org/ictvreports/ictv_9th_report/positive-sense-rna-viruses-2011/w/posrna_viruses/222/coronaviridae. Acesso em: 12 de março de 2022.

ESPESETH, A. *et al.* As vacinas à base de nanopartículas lipídicas / mRNA modificadas que expressam variantes da proteína F do vírus sincicial respiratório são imunogênicas e protetoras em modelos de roedores de infecção por RSV. **NPJ Vaccines**. ano 2020 v.5, n.16

FAN, Yu-Jing; CHAN, Kwok-Hung; HUNG, Ivan Fan-Ngai. Safety and Efficacy of COVID-19 Vaccines: A Systematic Review and Meta-Analysis of Different Vaccines at Phase 3. *Vaccines*, MDPI, ano 2021, p. 1-15, 4 set. 2021. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2076-393X/9/9/989>

FREDERIKSEN, L. *et al.* The Long Road Toward COVID-19 Herd Immunity: Vaccine Platform Technologies and Mass Immunization Strategies. *Frontiers*, [S. l.], v. 11, n. 1817, p. 1-26, 21 jul. 2020. DOI <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.01817>. Disponível em:

<https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fimmu.2020.01817/full>. Acesso em: 18 nov. 2022.

JACKSON, L. *et al.* An mRNA Vaccine against SARS-CoV-2 — Preliminary Report. *The New England Journal of Medicine*, [S. l.], p. 1920-1931, 12 nov. 2020. DOI

10.1056/NEJMoa2022483. Disponível em:

<https://www.nejm.org/doi/full/10.1056/nejmoa2022483>. Acesso em: 18 nov. 2022.

KARIKÓ, K. *et al.* Incorporation of Pseudouridine Into mRNA Yields Superior on immunogenic Vector With Increased Translational Capacity and Biological Stability. *Molecular Therapy*, [S. l.], v. 16, n. 11, p. 1833-1840, 14 dez. 2016. DOI <https://doi.org/10.1038/mt.2008.200>.

Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1525001616326818?via%3Dihub>. Acesso em: 19 jun. 2022.

KEEF, A.; PAI, S.; ELLINGTON, A. Aptamers as therapeutics. *Nature Reviews Drug Discovery*, [S. l.], p. 537–550, 14 jul. 2010. DOI <https://doi.org/10.1038/nrd3141>.

Disponível em: <https://www.nature.com/articles/nrd3141>. Acesso em: 19 jun. 2022.

KON, E.; ELIA, U.; PEER, D. Principles for designing an optimal mRNA lipid nanoparticle vaccine. *Current Opinion in Biotechnology*, [S. l.], v. 73, p. 329-336, 26 out. 2021. DOI <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2021.09.016>. Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0958166921001932?via%3Dihub>.

Acesso em: 19 jun. 2022.

LI, G. *et al.* Coronavirus infections and immune responses. *Journal of medical virology*, [S. l.], v. 92, n. 4, p. 424-432, 25 jan. 2020. DOI <https://doi.org/10.1002/jmv.25685>.

Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/jmv.25685>. Acesso em: 16 nov. 2022.

LIMA, E.; ALMEIDA, A.; KFOURI, R. Vacinas para COVID-19 - o estado da arte. *Revista Brasileira de Saúde Materno Infantil*, [S. l.], v. 21, n. 1, p. 521-527, 17 fev. 2021. DOI

<https://doi.org/10.1590/1806-9304202100S100002>. Disponível em:

<https://www.scielo.br/j/rbsmi/a/hF6M6SFrhX7XqLPmBTwFfVs/?lang=pt>. Acesso em: 19 jun. 2022.

LURIE, N. *et al.* Developing Covid-19 Vaccines at Pandemic Speed. *The New England Journal of Medicine*, [S. l.], ano 2020, p. 1969-1973, 21 maio 2020. DOI 10.1056/NEJMp2005630.

Disponível em: <https://www.nejm.org/doi/10.1056/NEJMp2005630>. Acesso em: 16 nov. 2022.

MALONE, R.; FELGNER, P.; VERMA, I. Cationic liposome-mediated RNA transfection. *PNAS*, [S. l.], v. 86, n. 16, p. 6077-6081, 1 ago. 1989. DOI

<https://doi.org/10.1073/pnas.86.16.6077>. Disponível em:
<https://www.pnas.org/doi/abs/10.1073/pnas.86.16.6077>. Acesso em: 17 nov. 2022.

OMS. Organização Mundial da Saúde. WHO Director-General's opening remarks at the media briefing on COVID-19 - 11 March 2020. 2020. Disponível em:
<https://www.who.int/director-general/speeches/detail/who-director-general-s-opening-remarks-at-the-media-briefing-on-covid19---11-march-2020>. Acesso em 12 de março de 2022.

ORGANIZAÇÃO (Brasil). Como funcionam as vacinas baseadas em mRNA (RNA mensageiro), como as vacinas da Pfizer?. Como funcionam as vacinas baseadas em mRNA (RNA mensageiro), como as vacinas da Pfizer?, Sociedade Brasileira de Imunizações (SBIIm), p. 1, 25 ago. 2021. Disponível em: [https://sbim.org.br/covid-19/74-perguntas-e-respostas-sobre-as-vacinas/vacinas-covid-19-desenvolvimento-aprovacao-licenciamento-e-tecnologias/1497-como-funcionam-as-vacinas-baseadas-em-mrna-rna-mensageiro-como-as-vacinas-da-pfizer#:~:text=Em%20laborat%C3%B3rio%2C%20os%20cientistas%20desenvolvem,de%20gordura\)%20que%20o%20proteger%C3%A1](https://sbim.org.br/covid-19/74-perguntas-e-respostas-sobre-as-vacinas/vacinas-covid-19-desenvolvimento-aprovacao-licenciamento-e-tecnologias/1497-como-funcionam-as-vacinas-baseadas-em-mrna-rna-mensageiro-como-as-vacinas-da-pfizer#:~:text=Em%20laborat%C3%B3rio%2C%20os%20cientistas%20desenvolvem,de%20gordura)%20que%20o%20proteger%C3%A1). Acesso em: 19 jun. 2022.

PARDI, N. *et al.* mRNA Vaccines- a new era in vaccinology. **Nature Reviews Drug Discovery**, [S. l.], v. 17, p. 261–279, 12 jan. 2018. Disponível em:
<https://www.nature.com/articles/nrd.2017.243#citeas>. Acesso em: 18 nov. 2022

PARK, J. *et al.* mRNA vaccines for COVID-19: what, why and how. **International Journal of Biological Sciences**, [S. l.], v. 17, n. 6, p. 1446-1460, 25 ago. 2021. DOI :10.7150/ijbs.59233. Disponível em: <https://www.ijbs.com/v17p1446.htm>. Acesso em: 18 nov. 2022.

SALEH, A *et al.* Vaccine Development Throughout History. Cureus, Copyright 2021, ano 2021, p. 1, 26 jul. 2021. Disponível em: <https://www.cureus.com/articles/64699-vaccine-development-throughout-history/metrics>.

SILVA, L. *et al.* RELAÇÃO DA RESPOSTA IMUNE INATA E ADAPTATIVA À INFECÇÃO DE PARASITOS HELMÍNTICOS. **Multidisciplinar em Saúde**, [S. l.], v. 1, n. 2, p. 101, 11 ago. 2021. DOI <https://doi.org/10.51161/rem/1960>. Disponível em:
<https://editoraime.com.br/revistas/index.php/rem/article/view/1960>. Acesso em: 18 nov. 2022.

STADLER, C. *et al.* Eliminação de grandes tumores em camundongos por apetites biespecíficos codificados por mRNA. **Nat Med**. v. 23, n.1, p. 815-817 (2017)

TEVA, A.; FERNANDEZ, J.C; SILVA, V. **Conceitos e Métodos para a Formação de Profissionais em Laboratórios de Saúde**: Imunologia. 4. ed. Rio de Janeiro: EPSJV, IOC, 2009. 496 p. v. 4. ISBN 978-85-98768-41-0. Disponível em:
<https://www.epsjv.fiocruz.br/publicacao/livro/conceitos-e-metodos-para-formacao-de-profissionais-em-laboratorios-de-saude-volum-0>. Acesso em: 16 nov. 2022.

UNICEF (Brasil). Vacinas Especialistas do UNICEF respondem as perguntas mais frequentes de mães e pais. Perguntas e respostas, Brasil, p. 1, 15 ago. 2022. Disponível em: <https://www.unicef.org/brazil/vacinas-perguntas-e-respostas>. Acesso em: 19 ago. 2022.

WITTRUP, A.; LIEBERMAN, J. Nocking down disease: a progress report on siRNA therapeutics. **Nature Reviews Genética**, [S. l.], v. 16, p. Páginas543–552, 18 ago. 2015. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/nrg3978>. Acesso em: 18 nov. 2022.

WOLFF, J. *et al.* Direct Gene Transfer into Mouse Muscle in Vivo. **Science**, [S. l.], v. 247, n. 4949, p. 1465-1468, 23 mar. 1990. DOI 10.1126/science.1690918. Disponível em: <https://www.science.org/doi/10.1126/science.1690918>. Acesso em: 18 nov. 2022.

ZHANG, C. *et al.* Advances in mRNA Vaccines for Infectious Diseases. **Frontiersin**, [S. l.], v. 10, n. 594, p. 1-13, 27 mar. 2019. DOI <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.00594>. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fimmu.2019.00594/full>. Acesso em: 18 nov. 2022.