

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo desta dissertação será disponibilizado somente a partir de 26/02/2022.



**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE MEDICINA**

PAULA FRANCO OBA

**Resposta imune à vacina contra hepatite B com
suplementação de beta glucana**

Dissertação apresentada à Faculdade de Medicina, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Câmpus de Botucatu, para obtenção do título de Mestre no Programa de PG em Pesquisa e Desenvolvimento: Biotecnologia Médica - Mestrado Profissional.

Orientador(a): Prof(a). Dr(a). Marjorie de Assis Golim
Coorientador: Prof. Dr Jaime Olbrich Neto

**Botucatu
(2020)**

Paula Franco Oba

Resposta imune à vacina contra hepatite B com
suplementação de beta glucana

Dissertação apresentada à
Faculdade de Medicina,
Universidade Estadual Paulista “Júlio
de Mesquita Filho”, Câmpus de
Botucatu, para obtenção do título de
Mestre no Programa de PG em
Pesquisa e Desenvolvimento:
Biotecnologia Médica - Mestrado
Profissional.

Orientador(a): Prof(a). Dr(a). Marjorie de Assis Golim
Coorientador: Prof. Dr Jaime Olbrich Neto

Botucatu
(2020)

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSEMEIRE APARECIDA VICENTE-CRB 8/5651

Oba, Paula Franco.

Resposta imune à vacina contra hepatite B com
suplementação de beta glucana / Paula Franco Oba. - Botucatu,
2020

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista
"Júlio de Mesquita Filho", Faculdade de Medicina de Botucatu
Orientador: Marjorie de Assis Golim
Coorientador: Jaime Olbrich Neto
Capes: 90400003

1. Resposta imune. 2. Hepatite B. 3. Vacinas contra
Hepatite B. 4. Imunogenicidade da vacina. 5. Antígenos na
hepatite. 6. Adjuvantes imunológicos.

Palavras-chave: Adjuvantes Imunológicos; Antígenos de
superfície da Hepatite B; Beta-Glucanas; Imunogenicidade da
vacina; Vacinas contra Hepatite B.

Paula Franco Oba

**RESPOSTA IMUNE À VACINA CONTRA HEPATITE B COM
SUPLEMENTAÇÃO DE BETA GLUCANA**

Dissertação apresentada à
Faculdade de Medicina,
Universidade Estadual Paulista “Júlio
de Mesquita Filho”, Câmpus de
Botucatu, para obtenção do título de
Mestra no Programa de PG em
Pesquisa e Desenvolvimento:
Biotecnologia Médica - Mestrado
Profissional.

BANCA EXAMINADORA

Orientadora: Profa. Dra Marjorie de Assis Golim

Profa. Dra. Elenice Deffune

Profa. Dra. Ivana Regina Gonçalves

Botucatu, _____ de _____ de _____.

Dedico este trabalho a minha família, minha mãe que sempre me apoiou, meu pai querido, meu irmão de quem sempre me orgulhei, meu marido e amigo, e aos meus avós aos quais guardo um carinho especial.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por todas as bênçãos e suporte na minha vida.

Ao meu marido Bruno Pereira Navarro Macedo, agradeço a paciência, o amor e a parceria para que tudo se concluisse da melhor forma.

Gostaria também de agradecer a meus pais Regina Celia de Almeida Franco Oba e Leonardo Oba, pelo apoio e amor incondicional em todos os meus projetos.

Agradeço a minha orientadora Professora Doutora Marjorie de Assis Golim pela constante orientação neste trabalho, me dando suporte, atenção e fornecendo ensinamentos, assim como toda sua disponibilidade. Obrigada por tudo.

Ao Dr Jaime Olbrich Neto, um agradecimento especial, por me colocar neste caminho, acreditar em meu potencial, e me coorientar neste processo. Um médico excepcional e chefe querido.

Obrigada Ana Laura Mendes de Almeida e Camila Alves Tonami, pelo suporte, ajuda e amizade.

Também gostaria de agradecer aos amigos do programa Guilherme, Rita, Mariana, Ana Laura, Heloisa pelo companheirismo; a companhia de vocês fez tudo parecer mais leve.

Agradeço a todas as pessoas que de alguma forma contribuíram para a realização deste projeto, mesmo que nem sempre em evidência. Muitos me ajudaram neste sonho, mas seria impossível citar todos.

OBA, P.F. **Resposta imune à vacina contra hepatite B com suplementação de beta-glucanas.** 2020. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina de Botucatu, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2020.

RESUMO

A infecção crônica pelo vírus da hepatite B (VHB) é a principal causa de cronificação da hepatite, cirrose hepática e carcinoma hepatocelular em humanos. A vacinação contra hepatite B é essencial a saúde da população, sendo a medida de menor custo e maior eficiência para controlar o vírus. A vacina desencadeia resposta imune com produção de anticorpos contra o antígeno de superfície do VHB (anti-HBs), contudo, alguns indivíduos não desenvolvem imunidade efetiva, havendo necessidade de doses adicionais. Assim, estimular a resposta imune nos indivíduos já vacinados, porém pouco respondedores ou não respondedores previamente, poderia contribuir para o aumento da produção de anticorpos e persistência dos mesmos ao longo do tempo. Considerando o potencial imunomodulador de β -glucanas, inclusive no aumento da ativação de células T e B em resposta a antígenos, propôs-se neste estudo avaliar a influência do uso de β -glucanas como suplemento alimentar em indivíduos com imunidade não efetiva pós-vacina, que necessitassem de dose *booster*. Foram incluídos 46 doadores de sangue do Hemocentro de Botucatu, com idade entre 18 anos e 25 anos completos, do sexo masculino, vacinados com três doses para hepatite B na primeira infância. Aqueles que apresentaram anti-HBs < 10 UI/L foram considerados não imunes, sendo mantidos no estudo (n=31) e divididos em dois grupos de forma aleatória. Ambos os grupos receberam *booster* da vacina, sendo um grupo suplementado via oral com cápsulas de amido (n=11; placebo - 500mg/dia), e outro com β -glucanas (n=20; 500mg/dia), durante duas semanas. Na comparação intergrupos, não foi observado diferença significativa em relação a soroproteção, através da dosagem de anti-HBs, com 7 e 14 dias após dose de reforço vacinal. Não se pôde avaliar se o uso de β -glucanas teve efeito imunoestimulador, possivelmente devido a memória imunológica presente e com rápida resposta, representada pelo fato de que com apenas uma dose de reforço, 93,34% dos pacientes anti-HBs < 10 UI/L desenvolveram soroproteção, independente do estímulo. Os dados obtidos abrem perspectiva de reavaliação dos protocolos vigentes de vacinação da hepatite B, considerando a recomendação de *booster* na adolescência, para assegurar a real imunização, pois apenas 30,44% dos participantes, todos vacinados na infância, tinham imunização efetiva, e tendo em vista a boa resposta a uma dose *booster*. Além disso, há que se considerar o potencial uso da suplementação com β -glucana como imunomodulador na primovacinação, modelo em que não há influência da memória imunológica.

Palavras-chave: Beta-glucanas; Vacina Hepatite B; VHB; Antígenos de superfície da Hepatite B;

ABSTRACT

Chronic hepatitis B virus (HBV) infection is the main cause of hepatitis chronification, liver cirrhosis and hepatocellular carcinoma in humans. Vaccination against hepatitis B is essential to the health of the population, being the least costly and most efficient measure to control the virus. The vaccine triggers an immune response with the production of antibodies against HBV surface antigen (Anti-HBs), however, some individuals do not develop effective immunity, requiring additional doses. Thus, stimulating the immune response in individuals who have already been vaccinated, but with little or no previous response, could contribute to increased antibody production and persistence over time. Considering the immunomodulatory potential of β -glucans, including the increased activation of T and B cells in response to antigens, it was proposed in this study to evaluate the influence of the use of β -glucans as a food supplement in individuals with post-vaccine ineffective immunity, who needed a booster dose. 46 blood donors from the Hemocenter of Botucatu, aged between 18 and 25 years old, male, who received three doses of hepatitis B vaccine in childhood were included. Those who had anti-HBs <10 IU / L were considered non-immune, being maintained in the study ($n = 31$) and randomly divided into two groups. Both groups received a vaccine booster, one group supplemented orally with starch capsules ($n = 11$; placebo - 500mg / day), and the other with β -glucans ($n = 20$; 500mg / day) for two weeks. In the intergroup comparison, no significant difference was observed in relation to seroprotection, through the dosage of anti-HBs, at 7 and 14 days after the vaccine booster dose. It was not possible to assess whether the use of β -glucans had an immunostimulatory effect, possibly due to the present immunological memory and rapid response, represented by the fact that with only one booster dose, 93.34% of anti-HBs patients <10 UI / L developed seroprotection. The study provides a new approach to the potential use of β -glucan supplementation as an immunomodulator in the primary vaccination. The data obtained also opens the prospect of reassessing the current hepatitis B vaccination protocols, considering the recommendation of booster in adolescence, to ensure real immunization, because only 30.44% of the participants, all vaccinated in childhood, had effective immunization, and in view of the good response to one booster dose. In addition, it is necessary to consider the potential use of β -glucan supplementation as an immunomodulator in the primary vaccination, a model in which there is no influence on immunological memory.

Keywords: beta-glucans; Hepatitis B vaccines; Immunological Adjuvants; immunogenicity of the vaccine; Hepatitis B Surface Antigens

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Representação do vírus da Hepatite B e principais antígenos.	13
Figura 2 – Estrutura e composição das β -glucanas.....	17
Figura 3 – Ativação imunológica induzida por β -glucanas.....	19
Figura 4 – Desenho do estudo com divisão dos participantes em grupos.....	24
Figura 5 – Esquema cronológico do estudo em dias.....	25
Figura 6 – Divisão entre respondedores e não respondedores, 2 semanas após a dose <i>booster</i>	30

LISTA DE GRÁFICOS

- Gráfico 1** – Porcentagem casos hepatites virais no Brasil..... 14
- Gráfico 2** – Imunidade contra o vírus da Hepatite B de 46 doadores de sangue vacinados com 3 doses na infância.....28
- Gráfico 3** – Distribuição percentual nacional da inaptidão sorológica para os marcadores de doenças transmissíveis pelo sangue no Brasil em percentual.29

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Cobertura da vacina Hepatite B no Brasil em 2019	16
Tabela 2 – Evolução da resposta à uma dose de vacina Hepatite B, em doadores vacinados na infância e não imunes, segundo estímulo recebido.....	31

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AgHBs	Antígeno de Superfície do Vírus da Hepatite B
Anti-HBc	Anticorpos Core do Vírus da Hepatite B
Anti-HBs	Anticorpo Contra o Antígeno de Superfície do Vírus da Hepatite B
CEP	Comitê de Ética em Pesquisa
CR3	Receptor do Complemento 3
DCs	Células Dendríticas
DNA	Ácido Desoxirribonucléico
DTP	Difteria, Tétano e Pertussis
EDTA	Ácido Etilenodiamino Tetra-acético
FMB	Faculdade de Medicina de Botucatu
HB	Hepatite B
Hib	<i>Haemophilus Influenza Tipo B</i>
HPV	<i>Papilomavírus Humano</i>
iC3b	Complemento 3b Inativado
IL	Interleucina
IM	Intramuscular
IFN- γ	Interferons A
ITAM	Tirosina Imunorreceptora
GM-CSF	Fator Estimulador de Colônias de Macrófagos e Granulócitos
MHC	Complexo Principal de Histocompatibilidade
MS	Ministério da Saúde
NF- κ B	Fator Nuclear Kappa B
NK	<i>Natural Killers</i>
PAMPs	Padrões Moleculares Associados a Patógenos
PNI	Programa Nacional de Imunizações
PRRs	Receptor de Reconhecimento de Padrões
RANTES	Regulada por Ativação, Normal T Expressa e Secretada
SBP	Sociedade Brasileira de Pediatria
SINAN	Sistema de Informação de Agravos de Notificação
SUS	Sistema Único de Saúde
Syk	<i>Spleen Tyrosine Kinase</i>
TLR-2/6	Receptores Toll-like 2 e 6

TNF	Fator de Necrose Tumoral
Th	Linfócitos T CD4 Auxiliares
Treg	Linfócitos T Reguladores
UNESP	Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho
VHB	Vírus da Hepatite B

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	12
1.1	INFECÇÃO PELO VÍRUS DA HEPATITE B	12
1.2	EPIDEMIOLOGIA DA INFECÇÃO PELO VÍRUS DA HEPATITE B	14
1.3	VACINA CONTRA A HEPATITE B	14
1.4	GLUCANAS	16
2	OBJETIVOS	21
3	CASUÍSTICA E MÉTODOS	22
3.1	LOCAL DE ESTUDO E APROVAÇÃO PELO COMITÊ DE ÉTICA	22
3.2	CRITÉRIOS DE INCLUSÃO	22
3.3	DESENHO DO ESTUDO	23
3.4	QUANTIFICAÇÃO DE ANTI-HBS POR QUIMIOLUMINESCÊNCIA	25
3.5	ANÁLISE ESTATÍSTICA	26
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	27
5	CONCLUSÃO	34
6	REFERÊNCIAS	35
7	ANEXOS	39
	ANEXO A – Questionário	39
	ANEXO B – Parecer Consubstanciado do CEP	40

1 INTRODUÇÃO

A Hepatite B é uma doença potencialmente infectante causada pelo vírus da Hepatite B (VHB), com elevados surtos e prevalência na população mundial – estima-se que 257 milhões de pessoas estejam infectadas no mundo. O VHB pode replicar-se dentro dos hepatócitos causando lesão celular, além de que a resposta imune contra o vírus, a qual é essencial para controlar sua disseminação, é também responsável pela resposta inflamatória que causa doença hepática. A infecção crônica pelo VHB é a principal causa de hepatite crônica, cirrose hepática e carcinoma hepatocelular (WHO, 2017; Brasil, 2019).

A vacinação contra hepatite B é ferramenta essencial a saúde da população, sendo a medida de menor custo e eficiência para controlar o VHB. A aplicação da vacina desencadeia resposta imune com produção de anticorpos contra o antígeno de superfície do vírus da hepatite B (Anti-HBs). Contudo, alguns indivíduos apresentam anti-HBs não reagente, imunidade não efetiva, com necessidade da realização de novas doses da vacina (MAST, et al., 2004).

Assim, estímulos adicionais à resposta imune poderiam contribuir para maior produção de anticorpos, podendo até mesmo induzir uma resposta mais duradoura e persistente. Uma possibilidade seria a administração de β -glucanas, estruturas com conhecida capacidade imunestimulatória que impactam no aumento da resistência a doenças causadas por vírus, bactérias, protozoários e fungos. Estudos experimentais em ratos revelaram efeito adjuvante de β -glucanas para o antígeno de superfície da hepatite B (HBsAg), resultando no aumento do nível de IgG total (anti-HBsAg), demonstrando alta eficácia de carregamento de antígeno e baixa citotoxicidade (SOARES; JESUS; BORGES, 2018).

1.1 INFECÇÃO PELO VÍRUS DA HEPATITE B

O VHB é um vírus hepatotrópico de DNA de fita dupla, envelopado, que pertence à família *Hepadnaviridae* (GANEM; PRINCE, 2004).

É constituído por um envelope que contém três glicoproteínas (antígenos de superfície). Dentro do envelope, encontra-se o nucleocápsideo icosaédrico, que abriga o DNA circular parcialmente duplicado e uma polimerase, responsável pela síntese de DNA viral em células infectadas (GANEM; PRINCE,

2004; DIENSTAG, 2008; YUEN et al., 2018).

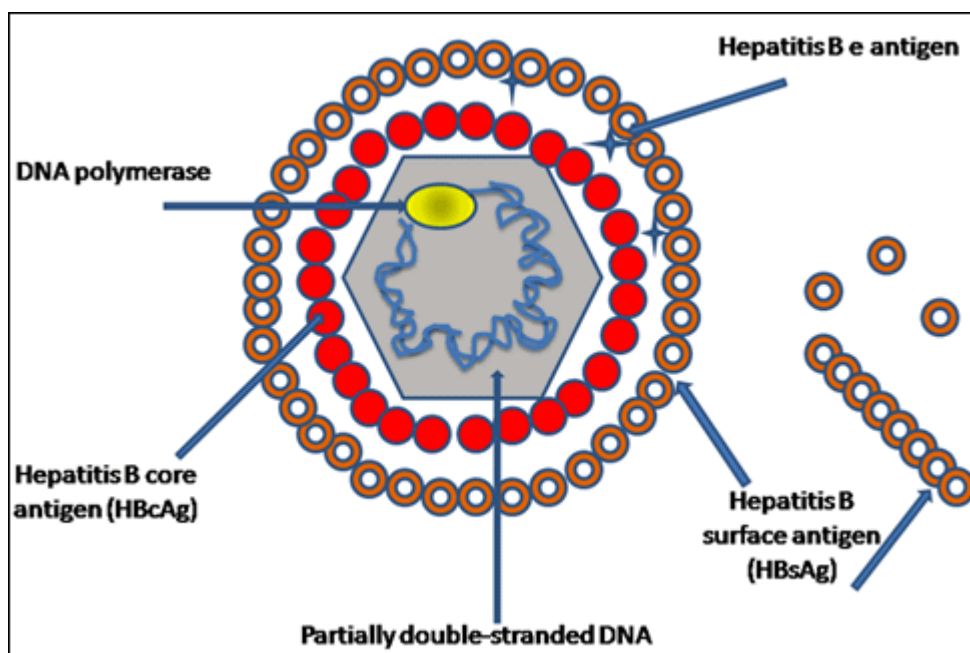
A resposta imunológica do hospedeiro contra o vírus é essencial para controlar sua disseminação, pois determinará se haverá clareamento viral ou se desencadeará doença hepática. Mecanismos das respostas imunes humoral e celular estão envolvidos na tentativa de eliminação viral, no entanto, também podem contribuir para agressão hepática, com injúria tecidual decorrente das lesões necroinflamatórias.

A infecção persistente pelo VHB pode levar a graus variáveis de dano hepático, podendo evoluir para hepatite, fibrose, cirrose e carcinoma hepatocelular (LI et al., 2019). A evolução para infecção crônica é maior quando a infecção ocorre em crianças, recém-nascidos ou lactentes.

Na maioria dos casos não apresenta sintomas e muitas vezes é diagnosticada décadas após a infecção, com sinais relacionados a outras doenças do fígado, e sintomas inespecíficos como cansaço, tontura, enjojo, vômitos, febre, dor abdominal, icterícia.

A principal forma de prevenção é por meio da vacinação, disponível no SUS para todas as pessoas, independentemente da idade.

Figura 1 – Representação do vírus da Hepatite B e principais antígenos.

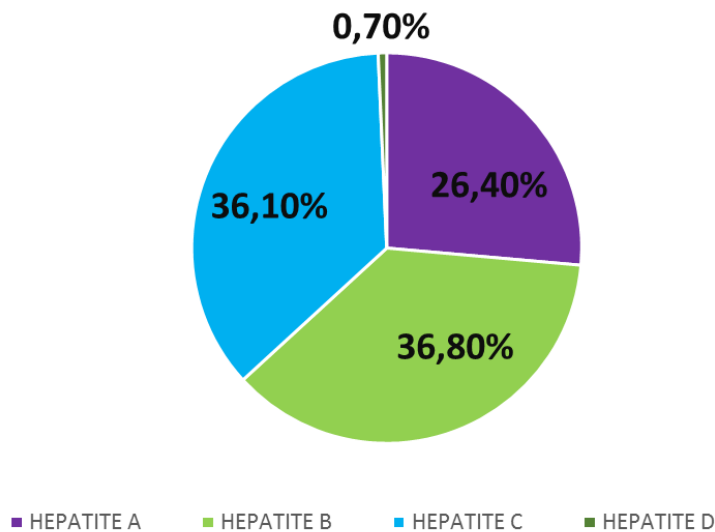


Fonte: <https://medlibes.com/entry/hepatitis-b>

1.2 EPIDEMIOLOGIA DA INFECÇÃO PELO VÍRUS DA HEPATITE B

De 1999 a 2018, foram notificados no Sistema de Informação de Agravos de Notificação (Sinan) 632.814 casos confirmados de hepatites virais no Brasil, sendo 233.027 referentes a hepatite B.

Gráfico 1 – Porcentagem casos hepatites virais no Brasil.



Fonte: Boletim Epidemiológico – Hepatites Virais. (2019).

Segundo o boletim epidemiológico do Ministério da Saúde, a maioria dos casos confirmados de hepatite B no Brasil está concentrada na região Sudeste, sendo a taxa de detecção de 6,7 casos para cada 100 mil habitantes em 2018.

De 2000 a 2017, foram registrados 15.033 óbitos relacionados a hepatites virais, dos quais, 54,8% tiveram a hepatite B como causa básica, em sua maior parte na região Sudeste (41,5%).

1.3 VACINA HEPATITE B

O uso da vacina hepatite B tem sido associado a drástica redução na incidência de infecções por VHB, bem como de carcinoma hepatocelular, em países onde é amplamente utilizada. Segundo JAN et al. (2010), a vacina induziu diminuição de 75% na incidência de carcinoma hepatocelular em crianças de 6 a 9

anos de idade, e declínio de 68% na mortalidade por hepatite fulminante e doenças hepáticas relacionadas ao VHB em lactentes.

A vacina foi introduzida no calendário nacional entre 1996-98, com extensão para todas as idades a partir de 2015 (MS, 2013). O SUS fornece a vacina em sua forma monovalente ou pentavalente, associada a outras vacinas (contra difteria, tétano, coqueluche, *Haemophilus influenzae* tipo b), sendo a dose variável de acordo com a idade e a condição do receptor (apresentação pediátrica é de 10mcg por vacina, e para adultos 20mcg), com administração IM, em região deltóide ou no vasto lateral da coxa (MS, 2019).

No entanto, desde 2012 no Programa Nacional de Imunizações (PNI), a vacina combinada DTP/Hib/HB (denominada pelo Ministério da Saúde de Penta) foi incorporada no calendário aos 2, 4 e 6 meses de vida. Dessa forma, os lactentes recebem quatro doses da vacina hepatite B (MS, 2013).

No Brasil a vacina é produzida por engenharia genética, através de leveduras, incluindo a *Saccharomyces cerevisiae*, levando a produção de HBsAg que posteriormente é purificado. Deste modo, as vacinas não promovem infecção, pois não contêm vírus vivo. Em sua composição ainda apresentam alumínio (hidróxido de alumínio) como adjuvante, podendo conter ou não timerosal (MS, 2019).

Assim, a vacinação leva a produção de anticorpos contra o antígeno de superfície do vírus da hepatite B (anti-HBs), sendo a soroproteção determinada quando os títulos de anticorpos anti-HBs alcançam níveis maiores que 10UI/L.

De acordo com Moraes, Luna e Grimaldi (2010) pode-se obter numa resposta inicial, logo após vacinação, atingindo soroproteção de até 93,7% em lactentes, 100% em crianças, 95,1% em adolescentes e 91,8% em adultos entre 20 e 30 anos. No ambulatório de Alergia e Imunologia Pediátrica da FMB-UNESP, devido a fatores de risco como história de violência sexual, contato com perfurocortantes, entre outras causas, realiza-se análise sorológica para hepatite B, tendo sido observado anti-HBs não reagente em cerca de 57% destes indivíduos. Estes dados contrastam com a literatura, que relata que após administração da vacina mais de 90% dos adultos saudáveis e 95% dos bebês, crianças e adolescentes têm concentrações séricas de anticorpos anti-HBs protetores (MORAES; LUNA; GRIMALDI, 2010; POLAND; JACOBSON, 2004). Talvez esta realidade se aplique ao perfil sorológico logo após vacinação, mas esta

imunoproteção não parece ser duradoura, havendo redução dos níveis séricos ao longo dos anos, conforme temos observado.

De acordo com o Manual dos Centros de Referência para Imunobiológicos Especiais, 2019, no Brasil não é indicado reforço em pessoas imunocompetentes vacinadas, exceto na falha na resposta primária - com anti-HBs <10 UI/L no período 30 a 90 dias após a última dose, sendo indicado revacinação com esquema completo. Porém, a resposta é avaliada apenas em indivíduos em risco, com possibilidade de contágio, como os pacientes já citados, vítimas de abuso sexual, ou os profissionais de saúde ocupacionalmente expostos, devido principalmente ao alto valor dos testes sorológicos, um dos motivos inclusive da não avaliação entre uma dose e outra na revacinação.

Alguns fatores que podem afetar a resposta à vacina incluem: modo de conservação, local da aplicação, sexo, idade, obesidade, fumo, fatores genéticos, ligados a determinados haplotipos de HLA., doenças crônicas e condição nutricional e imunológica (SBP, 2006; MS, 2019)

Tabela 1 – Cobertura da Vacina Hepatite B no Brasil em 2019.

REGIÃO	HEPATITE <30DIAS	HEPATITE	PENTAVALENTE
NORTE	52,07%	49,67%	48,12%
NORDESTE	49,25%	54,10%	50,63%
SUDESTE	44,70%	55,47%	46,94%
SUL	49,55%	66,43%	55,72%
CENTRO OESTE	55,59%	55,18%	52,18%

Fonte: PNI, 2019.

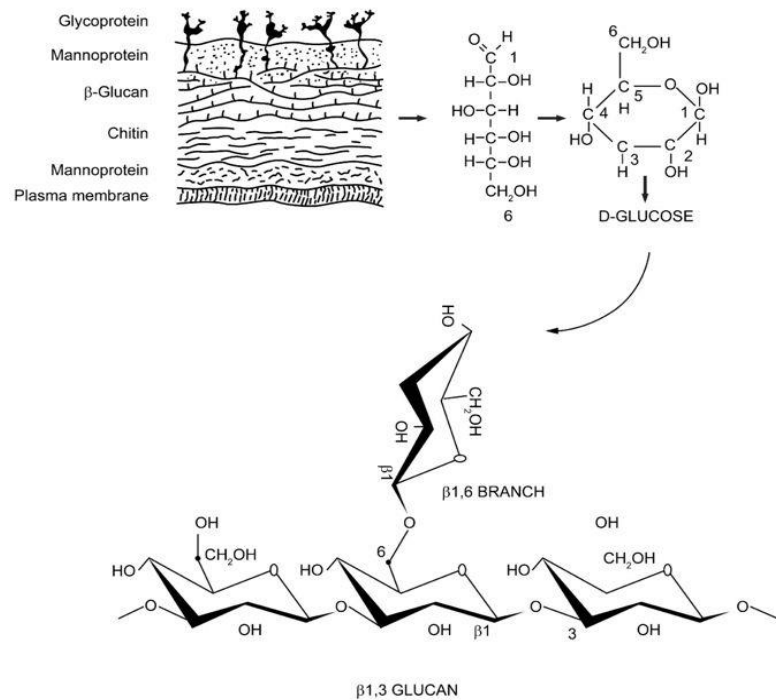
1.4 β -GLUCANAS

As β -glucanas são estruturas com capacidade de estimular o sistema imune para reconhecer e responder a presença de um microrganismo, deste modo aumentar a resistência a doenças causadas por vírus, bactérias, protozoários e fungos. São consideradas como potentes imunomoduladores, com efeito tanto no sistema imune inato quanto adaptativo.

As β -glucanas são polissacarídeos encontrados na parede celular de bactérias e fungos, dentre eles a *Saccharomyces cerevisiae*. Estão ligadas entre si por um núcleo linear da cadeia β -glicosídica 1,3; diferem pelo comprimento e estruturas de ramificação. Os ramos derivados do núcleo da cadeia glicosídica são altamente variáveis e os dois principais grupos de ramificação são 1 \rightarrow 4 ou 1 \rightarrow 6

cadeias glicosídicas, sendo específicas da espécie: as β -glucanas do fungo têm ramos laterais 1 \rightarrow 6 e as oriundas de bactérias têm ramos laterais 1 \rightarrow 4 (GANEM; PRINCE, 2004; BURG et al 2016; CHAN; CHAN; SZE, 2009; LEHNE et al., 2006)

Figura 2 – Estrutura e composição das β -glucanas.



Fonte: Chan et al (2009)

Após administração oral, β -glucanas entram rapidamente no intestino delgado proximal e são capturadas por macrófagos, sendo internalizadas e fragmentadas em menor tamanho, transportadas para a medula e sistema reticular endotelial. Os pequenos fragmentos de β -glucanas, glucana solúvel, são então liberados pelos macrófagos e absorvidos por granulócitos, monócitos, células dendríticas, entre outras células em circulação, induzindo ativação imunológica (CHAN et al. 2009).

As β -glucanas são polissacarídeos zwitteriônicos (polissacarídeos que carregam cargas positivas e negativas) e podem ativar células TCD4⁺ através da via endocítica do MHC-II. Assim, também podem ser processadas em carboidratos de baixo peso molecular por mecanismo mediado por óxido nítrico. Esses carboidratos se ligam ao MHC-II dentro das células apresentadoras de

antígenos, como as células dendríticas, para apresentação às células T auxiliares (CHAN et al., 2009).

Em estudo utilizando modelo experimental, foi demonstrado aumento de IgG anti-HBc específicas em camundongos, quando estes foram imunizados com vacina de DNA contra hepatite B, usando β -glucanas como adjuvante (WANG et al., 2010). Outro estudo, de Soares e colaboradores (2019), evidenciou que a vacinação subcutânea de camundongos com antígeno de superfície da hepatite B (HBsAg) mostrou aumento da IgG sérica para partículas de β -glucanas em comparação com o HBsAg sozinho.

A β -glucana pode atuar em uma variedade de receptores de membrana encontrados nas células imunológicas, isoladamente ou em combinação com outros ligantes (HERRE, 2004). Entre os receptores, as dectinas são os principais responsáveis pelo reconhecimento de β -glucanas, especialmente $\beta(1,3)$ -glucanas, componentes da parede celular da maioria dos fungos, consideradas como os principais padrões moleculares associados a patógenos (PAMPs) envolvidos na interação fungo-hospedeiro (TSONI; BROWN, 2008; BOWMAN; FREE, 2006).

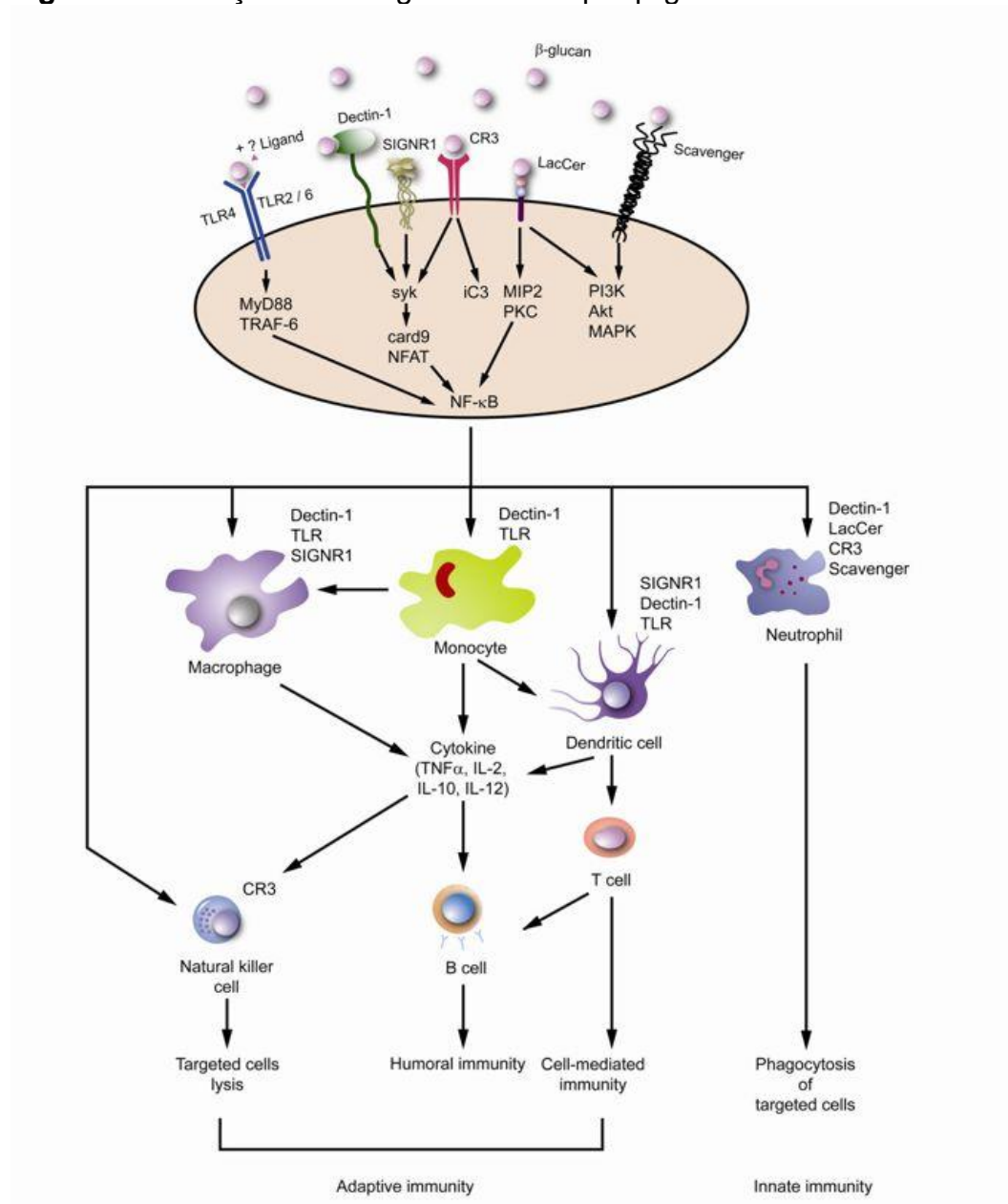
Anteriormente, acreditava-se que a dectina-1 era um receptor específico de células dendríticas (DC), mas atualmente sabe-se que trata-se de um receptor expresso por muitas outras células, incluindo macrófagos, monócitos, neutrófilos, eosinófilos e subpopulações de células T e B, embora não seja expressa nessas células em todos os tecidos (BROWN; GORDON, 2003). A Dectina-I, um receptor de proteína transmembranário tipo II, se liga a β -1,3 e β -1,6 glucanas, podendo iniciar e regular resposta imune inata efetiva, ativando mecanismos como fagocitose e produção de fatores pro-inflamatórios, induzindo a eliminação de agentes infecciosos (CHAN; CHAN; SZE, 2009 ;BROWN & GORDON, 2003). Nas vias de entrada de patógenos, como pulmão e intestino, a dectina-1 é expressa em altos níveis, sugerindo um papel potencial desse receptor na vigilância imunológica (BROWN, 2005; THOMPSON; OYSTON; WILLIAMSON, 2010).

Após a ligação, a dectina-1 é fosforilada por uma tirosina quinase. Syk é então ativado e induz o complexo CARD9-Bcl10-Malt1, que medeia a ativação de NF- κ B e a produção de citocinas pró-inflamatórias como IL-12, IL-6, fator de necrose tumoral (TNF- α) e IL-10 (THOMPSON; OYSTON; WILLIAMSON, 2010).

Dentre outros receptores de β -glucana que se destacam está o

receptor do complemento ativado 3 (CR3), também conhecido como CD11b/CD18, encontrado em monócitos/macrófagos, neutrófilos, células NK, dendríticas e algumas células T e B. Essa via é responsável pelo reconhecimento opsônico das β -glucanas, levando à fagocitose e lise celular. Outros receptores de que também podem ser citados são os receptores *scavengers*, encontrados em células mielóides e endoteliais e receptores lactosilceramida (LacCer ou CDw17), localizado na membrana plasmática de muitos tipos celulares (CHAN; CHAN; SZE, 2009; BROWN, 2005; THOMPSON; OYSTON; WILLIAMSON, 2010).

Figura 3 – Ativação imunológica induzida por β -glucanas.



Fonte: Chan et al., 2009.

Deste modo, a vacinação com HBsAg associada com β -glucana induz a uma assinatura de citocinas de quase todos os subconjuntos de células Th conhecidos até o momento: Th1 (IFN- γ , TNF- α , IL-18 e RANTES), Th2 (IL-4, IL-5 e IL-13), Th17 (IL-17A e GM-CSF), Treg (IL-2) e Th22 (IL-6 e IL-22) (SOARES; GROOTHUISMINK; BOONSTRA; BORGES, 2019).

Com base no exposto, a proposta do presente estudo consistiu em avaliar a frequência de doadores de sangue imunizados para hepatite B e a capacidade imunoestimulatória de β -glucanas, oralmente administradas, na imunidade humoral obtida após *booster* contra hepatite B em doadores não imunes. Deste modo, os resultados poderiam otimizar os protocolos de vacinação, com diminuição do número de doses de reforço e/ou mudança no intervalo de aplicação, diminuindo gastos e efeitos colaterais vacinais nos indivíduos com anti-HBs não reagente. Além disso, a aplicabilidade de β -glucanas na imunomodulação, explora o potencial de um produto essencialmente usado como suplemento alimentar, sem efeitos colaterais e de fácil acesso.

5 CONCLUSÃO

De acordo com nossos resultados concluímos que:

I. Nos doadores de sangue avaliados, todos com esquema vacinal completo para hepatite B, a resposta imune contra o antígeno de superfície do VHB está ausente em 69,56%, levando a um questionamento sobre a verdadeira proteção contra a hepatite B na população.

II. A maior parte da população é considerada respondedora a vacina, com níveis de não respondedores compatíveis a dados epidemiológicos internacionais. Apresentando também uma rápida resposta ao *booster* devido à memória imunológica, com apenas uma dose de reforço (93,33%).

III. Não se pôde avaliar a influência de β -glucana, utilizada como suplemento alimentar, na capacidade de melhorar a resposta imune, possivelmente devido a memória imunológica presente e com rápida resposta. Não houve diferença na proporção de respondedores em relação a soroproteção com 7 e 14 dias, quando comparados os grupos de suplementação com placebo e β -glucana .

REFERÊNCIAS

ANVISA .6° Boletim de Produção Hemoterápica 2018. **Hemoprod 2017**. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Brasília, Novembro de 2018.

BOWMAN, Shaun M.; FREE, Stephen J.. The structure and synthesis of the fungal cell wall. **Bioessays**, [s.l.], v. 28, n. 8, p.799-808, 2006. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/bies.20441>.

BRASIL. **Boletim Epidemiológico** – Hepatites Virais, v50, n.17, Brasília, DF; 2019. Available from: <http://www.aids.gov.br/pt-br/pub/2019/boletim-epidemiologico-de-hepatites-virais-2019>

BROWN, Gordon D.. Dectin-1: a signalling non-TLR pattern-recognition receptor. **Nature Reviews Immunology**, [s.l.], v. 6, n. 1, p.33-43, 18 nov. 2005. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/nri1745>.

BURG, Ashley R. et al. Orally administered β -glucan attenuates the Th2 response in a model of airway hypersensitivity. **Springerplus**, [s.l.], v. 5, n. 1, 21 jun. 2016. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1186/s40064-016-2501-1>.

CHAN, Godfrey et al. The effects of β -glucan on human immune and cancer cells. **Journal Of Hematology & Oncology**, [s.l.], v. 2, n. 1, 2009. Springer Nature. <https://doi.org/10.1186/1756-8722-2-25>

DENNEHY, Kevin M.; BROWN, Gordon D.. The role of the β -glucan receptor Dectin-1 in control of fungal infection. **Journal Of Leukocyte Biology**, [s.l.], v. 82, n. 2, p.253-258, 2 maio 2007. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1189/jlb.1206753>.

DIENSTAG, Jules L.. Hepatitis B Virus Infection. **New England Journal Of Medicine**, [s.l.], v. 359, n. 14, p.1486-1500, 2 out. 2008. Massachusetts Medical Society. <http://dx.doi.org/10.1056/nejmra0801644>.

GANEM, Don; PRINCE, Alfred M.. Hepatitis B Virus Infection — Natural History and Clinical Consequences. **New England Journal Of Medicine**, [s.l.], v. 350, n. 11, p.1118-1129, 11 mar. 2004. Massachusetts Medical Society. <http://dx.doi.org/10.1056/nejmra031087>.

GANTNER, Benjamin N. et al. Collaborative Induction of Inflammatory Responses by Dectin-1 and Toll-like Receptor 2. **The Journal Of Experimental Medicine**, [s.l.], v. 197, n. 9, p.1107-1117, 28 abr. 2003. Rockefeller University Press. <http://dx.doi.org/10.1084/jem.20021787>

HERRE, J. Dectin-1 and its role in the recognition of β -glucans by macrophages. **Molecular Immunology**, [s.l.], v. 40, n. 12, p.869-876, fev. 2004. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.molimm.2003.10.007>.

JAN, Chyi-feng et al. Determination of immune memory to hepatitis B vaccination through early booster response in college students. **Hepatology**, [s.l.], v. 51, n. 5, p.1547-1554, 28 jan. 2010. Wiley. <https://doi.org/10.1002/hep.23543>

LEENTJENS, Jenneke et al. The Effects of Orally Administered Beta-Glucan on Innate Immune Responses in Humans, a Randomized Open-Label Intervention Pilot-Study. *Plos One*, [s.l.], v. 9, n. 9, 30 set. 2014. Public Library of Science (PLoS). <https://doi.org/10.1186/s40064-016-2501-1>

LEHNE, G. et al. Oral administration of a new soluble branched beta-1,3-D-glucan is well tolerated and can lead to increased salivary concentrations of immunoglobulin A in healthy volunteers. **Clinical And Experimental Immunology**, [s.l.], v. 143, n. 1, p.65-69, jan. 2006. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2249.2005.02962.x>.

LI, Ming-hui et al. Predictors of sustained functional cure in hepatitis B envelope antigen-negative patients achieving hepatitis B surface antigen seroclearance with interferon-alpha-based therapy. **Journal Of Viral Hepatitis**, [s.l.], v. 26, n. 1, p.32-41, jul. 2019. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/jvh.13151>.

LU, John Jenn-yenn et al. Hepatitis B immunity in adolescents and necessity for boost vaccination: 23 years after nationwide hepatitis B virus vaccination program in Taiwan. **Vaccine**, [s.l.], v. 27, n. 47, p.6613-6618, nov. 2009. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.vaccine.2009.08.007>.

MAST F. et al. Hepatitis B vaccine. In: **Plotkin SA**, Orenstein WA (eds.), *Vaccines*, 4th ed., WB Saunders, Philadelphia. 2004.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Boletim Epidemiológico** - Programa Nacional de Imunizações: aspectos históricos dos calendários de vacinação e avanços dos indicadores de coberturas vacinais, no período de 1980 a 2013, v46, n.30; 2015, Available from: <https://www.saude.gov.br/images/pdf/2015/outubro/14/besvs-pni-v46-n30.pdf>

MINISTÉRIO DA SAÚDE, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Imunização e Doenças Transmissíveis. **Manual dos Centros de Referência para Imunobiológicos Especiais**, 5. ed. Brasília: Ministério da Saúde, 2019. Available from: <https://www.saude.gov.br/images/pdf/2019/dezembro/11/manual-centros-referencia-imunobiologicos-especiais-5ed.pdf>

MORAES, José Cássio de; LUNA, Expedito José de Albuquerque; GRIMALDI, Rosária Amélia. Imunogenicidade da vacina brasileira contra hepatite B em adultos. **Revista de Saúde Pública**, [s.l.], v. 44, n. 2, p.353-359, abr. 2010. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s0034-89102010000200017>.

MURPHY, e Angela; DAVIS, J Mark; CARMICHAEL, Martin D. Immune modulating effects of β -glucan. **Current Opinion In Clinical Nutrition And Metabolic Care**, [s.l.], v. 13, n. 6, p.656-661, nov. 2010. Ovid Technologies (Wolters Kluwer Health). <http://dx.doi.org/10.1097/mco.0b013e32833f1afb>.

POLAND, Gregory A.; JACOBSON, Robert M.. Prevention of Hepatitis B with the Hepatitis B Vaccine. **New England Journal Of Medicine**, [s.l.], v. 351, n. 27, p.2832-2838, 30 dez. 2004. Massachusetts Medical Society. <http://dx.doi.org/10.1056/nejmcp041507>.

SALEHI, Maryam et al. Effect of tetanus-diphtheria vaccine on immune response to Hepatitis b vaccine in low-responder individuals. **International Journal Of Preventive Medicine**, [s.l.], v. 7, n. 1, 2016. Medknow. <http://doi.org/10.4103/2008-7802.186586>

SCHWARZ, Tino F. et al. Long-term antibody persistence against hepatitis B in adolescents 14–15-years of age vaccinated with 4 doses of hexavalent DTPa-HBV-IPV/Hib vaccine in infancy. **Human Vaccines & Immunotherapeutics**, [s.l.], p.1-7, 17 ago. 2018. Informa UK Limited. <http://dx.doi.org/10.1080/21645515.2018.1509658>.

SOARES, Edna; GROOTHUISMINK, Zwier M.a.; BOONSTRA, André; BORGES, Olga. Glucan Particles Are a Powerful Adjuvant for the HBsAg, Favoring Antiviral Immunity. *Molecular Pharmaceutics*, [s.l.], v. 16, n. 5, p. 1971-1981, 9 abr. 2019. American Chemical Society (ACS). <http://dx.doi.org/10.1021/acs.molpharmaceut.8b01322>.

SOARES, Edna; JESUS, Sandra; BORGES, Olga. Chitosan: β -glucan particles as a new adjuvant for the hepatitis b antigen. : β -glucan particles as a new adjuvant for the hepatitis B antigen. *European Journal Of Pharmaceutics And Biopharmaceutics*, [s.l.], v. 131, p. 33-43, out. 2018. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ejpb.2018.07.018>.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE PEDIATRIA. Vacina contra hepatite B. **Revista da Associação Médica Brasileira**, [s.l.], v. 52, n. 5, p.288-289, out. 2006. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1590/s0104-42302006000500009>.

STIER, Heike; EBBESKOTTE, Veronika; GRUENWALD, Joerg. Immune-modulatory effects of dietary Yeast Beta-1,3/1,6-D-glucan. **Nutrition Journal**, [s.l.], v. 13, n. 1, 28 abr. 2014. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1186/1475-2891-13-38>

SUCHECKA, Dominika et al. Hepato- and gastro- protective activity of purified oat 1–3, 1–4- β - d -glucans of different molecular weight. **International Journal Of Biological Macromolecules**, [s.l.], v. 91, p.1177-1185, out. 2016. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2016.06.062>.

THOMPSON, Iain J; OYSTON, Petra Cf; WILLIAMSON, Diane e. Potential of the β -glucans to enhance innate resistance to biological agents. **Expert Review Of Anti-infective Therapy**, [s.l.], v. 8, n. 3, p.339-352, mar. 2010. Informa UK Limited. <http://dx.doi.org/10.1586/eri.10.10>.

TSONI, S. Vicky; BROWN, Gordon D.. β -Glucans and Dectin-1. **Annals Of The New York Academy Of Sciences**, [s.l.], v. 1143, n. 1, p.45-60, nov. 2008. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1196/annals.1443.019>.

VOLMAN, Julia J. et al. Dietary (1→3), (1→4)- β -d-glucans from oat activate nuclear factor- κ B in intestinal leukocytes and enterocytes from mice. **Nutrition Research**, [s.l.], v. 30, n. 1, p.40-48, jan. 2010. Elsevier BV. <https://doi.org/10.1016/j.nutres.2009.10.023>.

WANG, Jing et al. β -Glucan Oligosaccharide Enhances CD8+T Cells Immune Response Induced by a DNA Vaccine Encoding Hepatitis B Virus Core Antigen. **Journal Of Biomedicine And Biotechnology**, [s.l.], v. 2010, p.1-10, 2010. Hindawi Limited. <http://dx.doi.org/10.1155/2010/645213>

WANG, Zhen et al. Prevalence of hepatitis B surface antigen (HBsAg) in a blood donor population born prior to and after implementation of universal HBV vaccination in Shenzhen, China. **Bmc Infectious Diseases**, [s.l.], v. 16, n. 1, 20 set. 2016. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1186/s12879-016-1834-2>.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Media Centre** . Hepatitis B. 2019. Disponível em: <<https://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/hepatitis-b>>. Acesso em: 9fev. 2019.

YUEN, Man-fung et al. Hepatitis B virus infection. **Nature Reviews Disease Primers**, [s.l.], v. 4, n. 1, p.1-1, jun. 2018. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/nrdp.2018.35>.