

ACRÓNIMO DO PROJETO

CÓDIGO DO PROJETO

TLR2Vac

PTDC/CVT-CVT/4599/2021

ENTIDADE FINANCIADORA

Fundação para a Ciência e a Tecnologia, I. P.

ENTIDADES BENEFICIÁRIAS

Faculdade de Medicina Veterinária (FMV/ULisboa) – *Inst. Proponente*

FARM-ID, Associação da Faculdade de Farmácia para a Investigação e Desenvolvimento (FARM-ID) – *Inst. Participante*

Fundação GIMM – *Gulbenkian Institute for Molecular Medicine* – *Inst. Participante*

ELEMENTOS NUCLEARES DA EQUIPA DE INVESTIGAÇÃO

Investigador Doutor José Alexandre da Costa Perdigão e Cameira Leitão (PI)

Prof. Doutor Afonso Silva Pinto Basto (Co-PI)

MAPA DE INVESTIMENTO ELEGÍVEL E APOIO OE REPARTIDO PELOS DIVERSOS BENEFICIÁRIOS

Proponente/ Participante(s)	NIF	Instituição	Regiões NUTS II	Orçamento elegível	Montante máx. financiamento	Taxa cofinanciam ento OE	OE
Proponente	502286326	Faculdade de Medicina Veterinária (FMV/ULisboa)	Lisboa	226.059,97€	226.059,97€	100%	226.059,97€
Participante 1	510582184	FARM-ID, Associação da Faculdade de Farmácia para a Investigação e Desenvolvimen to (FARM-ID)	Lisboa	8.750,00€	8.750,00€	100%	8.750,00€
Participante 2	517706156	Fundação GIMM – <i>Gulbenkian Institute for</i>	Lisboa	15.000,00€	15.000,00€	100%	15.000,00€

Molecular  
Medicine

TOTAL 249.809,97€ 249.809,97€ 100% 249.809,97€

DATA DE APROVAÇÃO

DATA DE INÍCIO

DATA DE CONCLUSÃO

15/10/2021

01/01/2022

30/11/2025

OBJETIVOS, ATIVIDADES E RESULTADOS ESPERADOS/ATINGIDOS

#### Ativação via TLR2 para o desenvolvimento de melhores vacinas veterinárias

A sustentabilidade da saúde, animal e Humana, depende do acesso a vacinas seguras e eficazes. Contudo, apesar dos notáveis avanços nesta área, não foi ainda possível desenvolver vacinas contra um conjunto vasto de agentes infecciosos. Algumas dificuldades recorrentes incluem: 1) indução insuficiente de mecanismos efectores adequados (e.g., anticorpos de elevada afinidade, células T CD4+ polarizadas ou respostas CTL); 2) ausência de mecanismos de memória no local de entrada do agente patogénico (e.g., mucosas); 3) memória imunológica de curta duração; 4) reduzida eficácia nas populações alvo (e.g., recém-nascidos, imunocomprometidos, animais idosos ou grávidos). Os adjuvantes usados atualmente não permitem contornar estas limitações. Por este motivo, a identificação de estratégias inovadoras para programar o tipo, a localização e a duração da resposta imunitária é hoje uma prioridade em vacinologia. A associação de antigénios a ligandos de recetores de reconhecimento de padrão (PRRs), pela ação imunomoduladora que estas moléculas apresentam, é atualmente uma estratégia promissora para melhorar a eficácia de vacinas subunitárias. Nos últimos anos, o nosso grupo estabeleceu um sistema de expressão em *Escherichia coli* para produção de antigénios em fusão com um ligando do recetor TLR2 – a lipoproteína OprI de *Pseudomonas aeruginosa*. Os nossos estudos mostraram que a OprI ativa células dendríticas (DCs), potencia a apresentação dos antigénios a células T CD4+ e CD8+ e induz níveis elevados de anticorpos e um perfil Th misto. Em modelos murinos, os antigénios quiméricos mostraram induzir respostas protectoras contra melanoma e contra a transmissão vertical de *Neospora caninum*. A sinalização TLR2 combina propriedades pró- e anti-inflamatórias o que conduz ao estabelecimento de respostas balanceadas. No modelo ratinho de neosporose na gravidez, demonstrámos que este equilíbrio é crucial para proteção da descendência contra a transmissão transplacentária e que uma ativação TLR do tipo 1 reduz a eficácia da vacina. A ativação via TLR2 possui ainda propriedades únicas na indução de memória imunológica e de homing dos linfócitos. Apesar da memória adaptativa poder ser alcançada através da activação de diferentes PRRs, a ativação direta de células T através de TLR2 desempenha um papel crítico na formação e manutenção de células T de memória. Embora diversos ligandos PRR, incluindo TLR2, induzam respostas nas mucosas através de imunização local, somente os sinais TLR2 programam as DCs extra-mucosa a induzir o tropismo das células T para as superfícies mucosas. Estas características do TLR2, quando combinadas com outros estímulos inatos, favorecem mecanismos imunológicos com interesse no desenvolvimento de vacinas. A associação de agonistas de TLR2 e TLR3 mostrou melhorar as respostas de anticorpos e a longevidade de células T CD4+. Estudos em curso no nosso laboratório mostraram que o potencial indutor de imunidade de mucosa por DCs ativadas via TLR2 é mantido quando se combinam ligandos de outros TLR, embora o perfil de citocinas varie dependendo das combinações de estímulos. Estes resultados sugerem que as propriedades únicas inerentes à ativação de TLR2, em associação com outros estímulos inatos, podem contribuir para ultrapassar as atuais insuficiências das vacinas subunitárias. Contudo, o conhecimento limitado sobre o modo como diferentes sinergias determinam as características da resposta adaptativa impedem ainda uma aplicação clínica racional deste conceito. Por outro lado,

avanços recentes de investigação básica em imunologia oferecem novos alvos celulares que devem ser explorados, como as células T foliculares (Tfh) em centros germinativos e as células de memória residentes em tecidos periféricos (TRM). Neste projeto, iremos responder a estas questões fundamentais e prosseguir para a avaliação pré-clínica de formulações vacinais. Começaremos por usar o modelo ratinho para esclarecer o impacto da activação TLR2, em combinação com outros estímulos inatos, na formação de reações no centro germinativo, no perfil de células T efectoras e no estabelecimento de células TRM nas barreiras mucosas. Dado o impacto que as infeções associadas à gravidez têm na produção animal, avaliaremos também o impacto da gravidez nos parâmetros imunitários em estudo. O conhecimento assim gerado será usado para desenvolver formulações vacinais inovadoras. Para isso, vamos explorar uma tecnologia de nanopartículas que permite associar antigénios com estímulos seleccionados para uma coadministração in vivo consistente. Por fim, estas formulações serão adaptadas para uso em animais de produção, e faremos uma primeira avaliação pré-clínica utilizando um modelo de elevado interesse económico e veterinário – a toxoplasmose ovina. No final do projeto, teremos estabelecido com base científica para um desenho otimizado de futuras vacinas veterinárias com base nas propriedades imunomoduladoras únicas do TLR2.