



Universidade Federal do Rio de Janeiro
Instituto de Microbiologia Paulo de Góes
Concurso Público para provimento efetivo de vagas no cargo de
Professor da Carreira de Magistério Superior

Edital UFRJ nº 54, de 30 de janeiro de 2024 (Consolidado com
seus editais de retificação) Versão inicial publicada no DOU em:
02/02/2024 | Edição: 24 | Seção: 3 | Página: 71 a 80, código
CR-001 – Setor: Vigilância e patogênese de viroses no contexto
de saúde única – Departamento de Virologia Instituto de
Microbiologia Paulo de Góes – CCS – UFRJ.

PROVA ESCRITA

CANDIDATO: 443423

Tópico 4 - Replicação de vírus com genoma de DNA:

Os vírus com genomas de DNA possuem diferentes estratégias de replicação, sendo muito diversos quanto ao tamanho do genoma e a consequente capacidade codificante bem como ao tipo/forma do DNA presente na partícula viral. Basicamente, segundo a classificação de Baltimore, os vírus com genoma DNA são divididos: no grupo I, que engloba os vírus cujo DNA é dupla-fita, como exemplos temos ^{Adenovírus} Herpesvírus, Poxvírus, entre outros; no grupo II, cujo genoma é de DNA fita simples, como os vírus das famílias Parvoviridae, Circoviridae, Anelloviridae e Gemonoviridae; no grupo VII, que engloba os vírus cujo genoma é composto por DNA parcial, contendo "gaps". Este grupo precisa de ~~com~~ sintetizar um intermediário de RNA; a partir do DNA e, portanto, carregam sua própria transcriptase reversa. Como exemplo deste grupo temos os ¹

hepadnavírus (como o vírus da hepatite B, por exemplo).

A classificação de Baltimore não se trata de uma classificação baseada em filogenia, mas é uma classificação muito útil para a compreensão das estratégias de replicação adotadas por cada grupo, e foca em como cada grupo chega ao RNA mensageiro viral, ou seja, quais as etapas chave até a produção do RNA_m viral.

A seguir, irei discorrer sobre as principais estratégias de replicação dos vírus com genoma de DNA, traçando paralelos entre as semelhanças e diferenças mais marcantes.

Iniciando pelos vírus do grupo II de Baltimore (DNA fita simples), um modelo de replicação em que me baseio ~~é~~ a replicação dos parvovírus. Estes vírus do grupo II em geral não têm grande capacidade codificante (genomas pequenos) e são altamente dependentes da maquinaria celular para de transcrição e replicação. Independentemente do sentido da fita simples de DNA (seja ela polaridade positiva ou negativa) a primeira etapa indispensável (após a entrada dos vírus na célula hospedeira) é a síntese da fita complementar de DNA, para que a RNA polimerase II celular possa reconhecer a dupla-fita e que o complexo de transcrição seja montado para produzir os RNAs mensageiros virais. Estes vírus não codificam DNA polimerases nem RNA polimerases, portanto replicam-se

exclusivamente no núcleo da célula, onde ~~são~~ encontram-se as maquinarias de replicação do DNA e transcrição. ~~do~~ Além disso estes vírus não codificam nenhum fator que interfira no ciclo celular (como fazem os poliomavírus, papilomavírus, entre outros), sendo dependentes da entrada espontânea da célula na fase de síntese (fase S) para a replicação de seu genoma. A estratégia de replicação do genoma é a de "rolling hairpin" ou grampo circulante, similar à estratégia adotada pelos poxvírus. São formados então concatâmeros de DNA, que precisam ser resolvidos para a montagem das partículas virais (que também ocorrem no núcleo).

Para a síntese do RNA m viral, após a formação da dupla fita de DNA, a RNA polimerase transcreve o DNA, originando um RNA m contendo as ~~pro~~ codificações das proteínas virais e as primeiras proteínas expressas são não-estruturais (ns1 e 2). ~~Et~~ Após o RNA m ser exportado para o citoplasma e a maquinaria celular de tradução ~~se~~ sintetize estas proteínas, as mesmas direcionam-se para o núcleo (por possuírem sinais de localização nuclear, NLS) e ~~interagem com a~~ ~~maquina~~ rias e estimulam a produção de DNA genômico e ~~dirigem-se ao~~ ~~completo~~ a produção das proteínas estruturais a partir do RNA mensageiro viral. As proteínas estruturais produzidas possuem tanto sinais de localização nuclear como sinais de exportação do núcleo, sendo consideradas

- proteínas "shuttle", pois precisam entrar no núcleo, onde ocorre a montagem das partículas virais e também precisam ~~de~~ sair do núcleo para que a progênie viral seja liberada.

As estratégias de replicação dos vírus do grupo ~~II~~ I da classificação de Baltimore são mais variadas (apesar de possuírem etapas em comum), devido, entre outros fatores, aos diferentes níveis de complexidade dos genomas virais e a sua capacidade de codificarem ~~uma~~ proteínas que modulam o ciclo celular e outros processos celulares.

Os poliomavírus e papilomavírus carregam em suas suas partículas virais fatores que modulam o ciclo celular, ~~inibindo~~ induzindo a entrada das células na fase S. Estes fatores podem ser considerados oncogênicos, uma vez que inibem proteínas-chave da regulação do ciclo celular, como a proteína de retinoblastoma (RB) e p53. Tipos celulares que suportam esta constante ativação do ciclo e que não morrem em decorrência da replicação viral podem ~~dar~~ dar origem a ~~os~~ tumores e cânceres, como visto em algumas infecções por papilomavírus humanos, que levam ao surgimento do câncer de colo de útero, por exemplo.

Uma vez que o genoma (duplo-fita viral) está no núcleo, a RNA pol II celular inicia a ~~trans~~ síntese de RNA m, que dará origem as proteínas da fase inicial. Estas proteínas podem

ser fatores de transcrição que atuarão promovendo a produção de RNA^m que darão origem às proteínas de fase tardia (que em geral são as proteínas estruturais, necessárias para a montagem das partículas virais). As proteínas de fase inicial também estimulam a produção do DNA genômico pelo DNA pol celular. A replicação do DNA genômico viral é semelhante à replicação do DNA do hospedeiro, com origem de replicação e formação da forquilha de replicação. A montagem dos vírus ocorre no núcleo e vale mencionar ainda que dentre as proteínas de fase tardia temos a produção dos fatores que modulam o ciclo celular e são empacotados junto com os vírus nascentes para que exerçam sua função na próxima célula a ser infectada, recomeçando o ciclo. Um exemplo dessas proteínas é o antígeno T dos poliomavírus, que além de modular o ciclo celular atua também promovendo a replicação do genoma viral.

Em seguida, explicarei em linhas gerais as estratégias de replicação ainda de vírus do grupo I, porém que possuem genomas maiores e são mais independentes das maquinarias de replicação e transcrição da célula. Vale lembrar que a vasta maioria dos DNA vírus replica-se no núcleo, com algumas exceções: os pox vírus e os vírus gigantes. Estes vírus são extremamente inde-

pendentes da maquinaria de replicação do DNA e ~~transcrição~~ e síntese do RNA m. No entanto mesmo estes vírus bem complexos ainda dependem da maquinaria de tradução celular, pois nenhum vírus ~~codifica~~^{tem} seu genoma o código para a produção de ribossomos, ~~proteínas~~ que são indispensáveis para a tradução do RNA e síntese protéica.

Já os herpesvírus, apesar de também bem complexos, ainda tem sua replicação e montagem no núcleo (apesar de codificarem DNA polimerase viral, fatores de transcrição, entre outros, eles não codificam para RNA polimerase)

Os poxvírus podem replicar-se exclusivamente no citoplasma pois, além da DNA pol viral, eles também possuem RNA pol viral e diversos fatores de transcrição.

Tanto os herpes quanto os poxvírus carregam fatores em suas partículas virais que irão modular várias atividades metabólicas da célula e também antagonistas de fatores de restrição celulares, que impediriam ou dificultariam a replicação viral. Também produzem proteínas que mimetizam proteínas celulares e ligam-se aos seus parceiros celulares inibindo ou ativando determinada via metabólica benéfica a sua replicação. Em geral ocorre a expressão de RNA m dos genes bem iniciais, que darão origem a proteínas que estimulam a expressão dos genes

intermediárias, além de fatores que estimulam a célula a produzir enzimas ^{celulares} necessárias a produção dos componentes virais e estimulam o aumento da taxa de transcrição. Com a produção de fatores de transcrição de genes intermediários, estes por sua vez ligam-se ao complexo de transcrição, levando à expressão dos genes intermediários, que em geral são a DNA polimerase viral e fatores de transcrição dos genes tardios. Nesta etapa a replicação do DNA genômico viral aumenta drasticamente, em concomitância com a transcrição e tradução dos genes tardios, que são, em sua maioria genes estruturais e fatores de modulação da célula, carregados dentro da partícula viral. No caso dos pox vírus eles também produzem sua RNA pol viral e precisam carrear dentro da partícula para produção de seu RNA mensageiro, já que não acessam a RNA pol II celular, pois sua replicação dos pox ocorre no citoplasma. Como já dito, a replicação do DNA dos pox vírus ocorre por rolling hairpin, enquanto a dos herpes vírus é necessária a circularização de seu DNA formando episômas, que inclusive é uma estratégia para a persistência e latência nas células, muito comum a estes vírus.

Por fim explico a replicação dos vírus do grupo VII, como os hepadnavírus. Por (7)

1

carreiam dentro de sua partícula uma molécula de DNA parcial (com "gaps"), a estratégia selecionada para resolver a replicação de seu material genético é a de produzir um intermediário de ~~DNA~~ RNA a partir do DNA viral. Portanto é imprescindível que eles carregem dentro da partícula uma transcriptase reversa ~~parcial~~. Posteriormente, a partir do híbrido de da fita de RNA produzida, ~~seus~~ novas fitas de DNA para a formação do genoma viral. Portanto é necessário que estes vírus carregem em suas partículas uma transcriptase reversa, ~~sendo~~ ~~os~~ uma estratégia única entre os vírus DNA.

Tópico 8: Estratégias de prevenção e controle das viroses no contexto de saúde pública

Nos dias atuais, em que o mundo está cada vez mais globalizado, com o desenvolvimento de meios de transporte modernos, que conectam cidades de forma rápida, além dos aviões, que conectam o mundo inteiro, associados aos fluxos migratórios em decorrência de guerras, miséria, entre outros, é inevitável que também o fluxo de patógenos e a rapidez com que podem se espalhar aumente, como vimos na pandemia de

COVID-19, por exemplo. Além disso o constante crescimento da população mundial, a exploração de áreas florestais, ~~se~~ para construção de novas moradia, exploração de recursos naturais, criação de gado ou monoculturas para abastecimento da população mundial leva a cada vez mais desmatamento, e aumenta a exposição de humanos a patógenos desconhecidos, ainda, que podem vir a se adaptar em um novo hospedeiro $\&$, acarretando em surgimento de epidemias ou pandemias, como já presenciamos recentemente.

Outros fatores associados ao surgimento de surtos e epidemias virais encontra-se o contato direto e íntimo com animais silvestres, como visto na Amazônia, por exemplo, que possui uma grande população ribeirinha e as populações indígenas nativas da região. Eventualmente, vírus que infectam outros hospedeiros animais de determinada região podem vencer as barreiras interespecíficas e ~~se~~ estabelecer replicação com transmissão de humanos a humanos, algo muito mais comum do que parece. De fato a grande parte das viroses ~~de que~~ ^{nos} afetam tiveram origem de hospedeiros não-humanos e foram transmitidas a humanos, estabelecendo-se como uma nova doença. Um exemplo clássico e bem estudado foi o surgimento do HIV-1, em especial o grupo M, responsável pela epidemia de HIV

HIV-1 atual. Através de estudos filogenéticos, ~~o~~ isolamento de vírus de possíveis hospedeiros naturais, análise epidemiológica, da ~~trans~~ espalhamento do HIV-1 pelo globo foi possível constatar que o grupo M se originou de um vírus zoonótico, que infecta chimpanzés (o SIVcpz). Assim como diversas arborívoros podem infectar diferentes hospedeiros, ~~foi~~ criando ciclos silvestres, com vetores desempenhando papel fundamental na transmissão entre espécies e da manutenção do vírus na natureza, alcançando novos nichos ecológicos e, em última instância, propiciando surtos e epidemias em áreas urbanas. A questão ainda se agrava devido as mudanças climáticas, que propiciam que artropodés vetores se estabeleçam em novas regiões geográficas, propiciando a emergência ou re-emergência de viroses.

Portanto é de extrema importância a abordagem cada vez mais discutida atualmente, de saúde única para a prevenção e controle das viroses. ~~Em~~ ~~nos~~ ~~humanos~~ ~~não~~ ~~somos~~ Algumas estratégias importantes são:

~~1~~ Vigilância epidemiológica constante e formação de redes de vigilância mundiais, ~~para~~ de modo que o surgimento de algum surto seja rapidamente percebido e as providências sejam tomadas prontamente. Neste

a notificação compulsória de ^{casos} determinados ~~nos~~ vírus de potencial pandêmico é necessária, o que nem sempre é uma realidade em países afetados por guerras, fome e em ditaduras, onde as informações podem ser mais ocultadas. A vigilância epidemiológica também deve se estender a animais de produção e medidas rápidas e drásticas devem ser tomadas em casos de viroses com potencial epidêmico e/ou epizootico. Infelizmente, em casos de surtos de doenças virais em animais de produção em que não haja controle, o sacrifício deve ser realizado, ~~para~~

No contexto da saúde única podemos mencionar também a vacinação em ~~mas~~ massa para aquelas viroses para as quais há vacina, mas ressalto que não só em humanos, mas em animais ^{de produção} suscetíveis a determinadas viroses que também acometem humanos. Investimentos no desenvolvimento de vacinas para estes animais, assim como baratear o custo de produção, para que seja viável a vacinação em massa dos animais é de grande importância.

Investimentos em vigilância sorológica, cujo objetivo é traçar um histórico de prevalência de anticorpos contra determinados vírus de importância em saúde pública também tem se mostrado essencial. Indisputavelmente pode-se descobrir que determinado 11

ção da população para que se evite criação de possíveis criadouros de vetores. Também deve-se continuar investindo em pesquisa biotecnológica para o controle de vetores, como por exemplo o uso de Wolbachia para o controle do *Aedes aegypti*. É importante que novas soluções possam ser criadas neste sentido.

No contexto de saúde única tem-se discutido bastante atualmente o desenvolvimento de antissinais pan-antivirais, que seriam drogas capazes de inibir a replicação de vírus de diferentes famílias e em diferentes hospedeiros.

Apesar da ideia ser boa, sabemos que na prática isto é algo difícil de alcançar, tendo em vista as adaptações que vírus foram selecionadas, em a constante co-evolução e surgimento de variantes que já não respondem a determinado medicamento (exemplo: Influenza vírus resistentes ao tratamento com Oseltamivir), entre outros. Ainda assim, pesquisas que visem ao descobrimento/desenvolvimento de novos antivirais potentes são necessárias.

Voltando as estratégias vacinais, é importante salientar que haja cooperação mundial nas campanhas de vacinação em massa e colaboração dos países ricos para a produção e distribuição de vacinas aos países pobres, (13)

Somente com cooperação internacional poderemos ter êxito na erradicação de determinadas doenças como a poliomielite, o sarampo, a rubéola, entre outros vírus, que ainda são realidade em muitas regiões do globo. Nas últimas décadas vimos ressurgir surtos de viroses há muito tempo consideradas erradicadas em países de primeiro mundo, e isso deve em parte à propagação de notícias falsas acerca da segurança das vacinas, notícias estas que devido à internet se espalham muito rápido e sem controle. O combate à desinformação e "fake news" também é uma estratégia de grande relevância no contexto de saúde pública. Infelizmente, os movimentos anti vacinação tem se espalhado pelo mundo.

Para a prevenção de viroses é importante a pesquisa aplicada para o desenvolvimento de antivirais, novas vacinas, testes diagnósticos rápidos e acessíveis, mas também é necessário o constante investimento em pesquisa básica, que busca compreender as relações patógeno-hospedeiro, as estratégias de escape do sistema imune do hospedeiro, que pode resultar no descobrimento de novos alvos virais para os quais podemos desenvolver estratégias de combate, como criação de antivirais que atuem em determinada etapa do ciclo replicativo viral elucidada pela pesquisa.

sa de base. Portanto a integração entre pesquisa básica e aplicada pode ser uma ótima estratégia para avançar o controle de vírus de preocupação em saúde pública.

Campanhas de conscientização de como se prevenir de determinadas doenças, bem como o acesso a testes rápidos, acesso a meios de prevenção (como camisinha, para prevenção das ISTs e Prep para prevenção do HIV) também são um recurso valioso e indispensável.

Por fim, um tipo de estratégia mais recente para a compreensão das dinâmicas virais, que se "popularizou" após a pandemia de COVID-19 é a vigilância genômica. Com o barateamento dos testes de sequenciamento e novos tipos de sequenciamento mais rápidos, muitas instituições governamentais implantaram este tipo de vigilância, que nos ajuda a compreender as dinâmicas populacionais virais, conhecer as novas variantes que surgem e dominam, como vimos na epidemia de COVID-19 e propor ações para a prevenção e controle baseados nos dados obtidos, permitindo inclusive que recapitulemos o histórico de disseminação de determinado vírus, como vimos para o Sars-Cov-2.

Tópico 2: Patogênese das infecções virais

A patogênese^{viral} é definida pela capacidade de um vírus causar doença no hospedeiro.

Para que isto seja possível, a primeira etapa necessária é a entrada do vírus e sua replicação em uma célula hospedeira.

Para haver entrada, a célula precisa ser permissiva ao vírus e, para tal, o vírus precisa ligar-se a algum receptor da célula e a célula precisa internalizar o genoma viral, seja via entrada por endocitose, macropinocitose, no caso de alguns vírus envelopados a entrada se dá por fusão do envelope com a membrana plasmática.

Após a entrada o vírus precisa replicar-se e produzir progênie infecciosa. Para tal a célula também precisa ser susceptível a infecção vir^{al} replicação viral, o que significa ter a maquinaria necessária para isso, estar em um estado de atividade metabólica propício ou poder ser induzida por fatores virais a produzir as enzimas necessárias para a replicação viral.

Antes mesmo do vírus encontrar uma célula susceptível e permissiva e susceptível, ele precisa ultrapassar certas barreiras. Temos barreiras naturais, como a pele,

Rascunho

Patogênese

Inf. abort.
Inf. produtivas

Quarantena
Bottleneck
Efeito fundador
Agudas - res. do sistema imune
Cronicas
Potentes

Virulência

Det. de virulência

Estratégia de genes
Virus - Reser.
Quando total
Bacterias
Reser. entre

Vias de entrada

Trato urogenital
Trato gastroentero
Mucosas oral,
ocular
Penetrações diretas
por cortes ou machucados

Expressão
↓ de genes
Poss. de manter seu genoma
HIV → Integração

Bancas por vetores como mosquitos
EBV → forma episomal
HSV →

Viremia (1ª e 2ª)

Vias de disseminação
Límb, sangue,

Permissiv. Susceptib.

Céls que n. morrem
a infecção pode formar
se tumorigênica

Vigilância epidemiológica
" molecular
" imunológica

entomológica

Rascunho
17

Rasunho

Parvo
↳ esp. entr
na fase
S

Rolling hairpin

Pox

↳
Codifica em
seu genoma
DNA pol / RNA pol
de modo que é
unides da mag. de
transc e trad cel lar
Repl. no citoplasma

178 Rasunho

o muco presente nas mucosas, enzimas, como proteases presentes por exemplo na lágrima, anticorpos de mucosa, como IgA, entre outros. Uma vez que o vírus atinge entre e replique em uma célula ele deve liberar sua progênie viral e infectar novas células, aumentando exponencialmente sua progênie. Eventualmente estes novos vírus podem iniciar a sua disseminação e atingir a linfa ou a corrente sanguínea, o que permite alcançar nos tecidos ou órgãos. Quando os vírus espalham-se pelo organismo, chamamos de disseminação sistêmica. Neste momento estes vírus estão mais expostos às respostas imunes do hospedeiro. Vale mencionar que os vírus podem não se difundir localmente devido a resposta imune inata do hospedeiro. Sensores de PAMPs podem reconhecer PAMPs e estimular antivirais