



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
MC-056 – Setor: Virologia/Desenvolvimento de estratégias para
prevenção e controle de viroses emergentes e reemergentes de
importância em saúde humana – Departamento de Virologia –
Instituto de Microbiologia Paulo de Góes – CCS – UFRJ.

PROVA ESCRITA

CANDIDATO: 366346

4. Replicação de vírus com genoma DNA

Na classificação de Baltimore, três classes possuem genoma constituído de DNA. São os vírus de DNA com fita dupla, os vírus de DNA com fita simples e os vírus de DNA com replicação dependente de transcrição reversa.

Com relação aos vírus de DNA, com fita dupla e de importância em saúde humana, podemos citar os membros das famílias Herpesviridae, Adenoviridae, Poxviridae, Papillomaviridae e Polyomaviridae, das quais os Herpesvírus e Poxvírus possuem genoma linear e envelope lipídico envolvendo a partícula viral infecciosa. Os Papillomavírus e Polyomavírus são não envelopados e com genoma circular associado a histonas do célula hospedeira.

Os vírus de DNA com fita simples são representados pela família Parvoviridae (genoma linear e não envelopados) e, por fim, os vírus com genoma de DNA com replicação dependente de transcrição reversa são representados pela família Hepadnaviridae (envelopados e

com genoma parcialmente circuli.

Embora todos possuam genomas contínuos de DNA, a replicação de cada família possui peculiaridades particulares.

Os vírus da família Herpesviridae tem seu genoma transportado para o núcleo da célula hospedeira, onde a RNA polimerase II do hospedeiro inicia a transcrição dos genes da fase inicial. Os transcritos codificam proteínas que são geralmente fatores de transcrição dos genes da fase intermediária. As proteínas codificadas pelos mRNAs da fase intermediária iniciam a replicação do genoma viral e a transcrição dos genes da fase tardia, ~~sendo portanto~~. Os genes da fase tardia ^{codificam} as proteínas estruturais, as quais se organizam para montagem da nova partícula viral, ainda no núcleo, empacotando as novas cópias de genoma viral previamente sintetizadas. Os mRNAs de todas as fases seguem os mecanismos e estruturas dos mRNAs do hospedeiro, sendo poliadenilados na extremidade 3' e possuindo o cap 5' ~~para~~ para reconhecimento pelos ribossomos no citoplasma.

Os vírus da família Poxviridae também possuem transcrição dividida em fase inicial, intermediária e tardia. No entanto, ~~o~~ o processo replicativo ocorre ~~no~~ inteiramente no citoplasma. Os genes da fase inicial são transcritos logo após a entrada do vírus pela RNA polimerase viral e ainda em volta parcialmente pelas proteínas

do capsídeo. A replicação é inteiramente estopbiomática e o vírus é liberado por lise subrotamento.

Os vírus da família Parvoviridae se replicam no núcleo e a síntese de novas cópias do genoma se dá por um mecanismo denominado rolling-hairpin, formando concatâmeros que são posteriormente clivados pela endonuclease NS1 para liberação das cópias de genoma individuais.

O desnudamento do genoma dos Parvovirus ocorre no núcleo e as mRNAs e as novas cópias de genoma são sintetizadas pela RNA polimerase do hospedeiro. As proteínas virais empacotam uma fita simples de DNA viral, podendo ser o genoma ou o antígenoma da partícula que iniciou a infecção. Outro ponto interessante é que os vírus dessa família utilizam a maquinaria de splicing celular para sintetizar as mRNAs que codificam as proteínas estruturais e não estruturais.

Com relação aos vírus da família Hepadnaviridae, que inclui o vírus causador da hepatite B (HBV), a replicação é nuclear e o RNA sintetizado pela RNA polimerase II do hospedeiro pode seguir dois caminhos: 1) Transporte para o núcleo e subsequente síntese das proteínas virais; 2) Permanência no núcleo, onde a DNA polimerase dependente de RNA (transcriptase reversa) viral irá utilizá-lo como molde para síntese de novas cópias do genoma. Enquanto a primeira fita é sintetizada livremente no núcleo e por transcrição reversa, a fita complementar é sintetizada por uma DNA

polimerase dependente de DNA e já no interior da partícula viral.

Os vírus das famílias Adenoviridae, Papillomaviridae e Polyomaviridae tem sua replicação dividida em fase inicial e tardia, sendo que todos os mRNAs são sintetizados no núcleo pela RNA polimerase II da célula hospedeira, e a replicação do genoma ocorre após a síntese da DNA polimerase viral nas fases iniciais de transcrição:

Importante, alguns vírus alteram sua expressão gênica ~~dependente do~~ com o objetivo de alternar a infecção entre ativa e latente. Os vírus de DNA, como os vírus da família Herpesviridae, possuem genomas extensos e com genes expressos apenas na fase de latência (genes L e AT). Muitos desses genes codificam RNAs não codificantes ou RNAs regulatórios que possuem a finalidade de regular negativamente a própria expressão das proteínas virais relacionadas com a progressão do ciclo.

6 - Antivirais e mecanismos de resistência

O ciclo replicativo dos vírus podem ser resumidos em etapas comuns: adsorção, entrada, desnudamento do genoma, replicação/transcrição, montagem, maturação e liberação. Alguns vírus, como do caso da família Retroviridae, possuem etapas específicas e exclusivos. No caso dos Retrovírus, existe a etapa de integração do genoma viral aos cromossomos do hospedeiro, uma etapa essencial para que o vírus complete o ciclo replicativo.

Os antivirais agem nessas etapas do ciclo replicativo dos vírus e, dessa forma, podem ser divididos em categorias. Dos antivirais liberados para uso atualmente, podemos citar dois que inibem a entrada de HIV. O maraviroque inibe a interação da partícula viral com o receptor CCR5, enquanto a enfuvirtina interage com a proteína gp120 do vírus e impede sua fusão com a membrana da célula hospedeira.

A amantadina e a rimantadina agem no desmascaramento do genoma de Influenza já no citoplasma da célula. Esses antivirais inibem o canal iônico da proteína M2 viral e impedem a acidificação da partícula, essencial para desestabilização do capsídeo.

Ainda para tratamento de HIV, diversos antivirais amplamente utilizados são responsáveis por inibir a transcrição reversa. Os antivirais análogos de nucleosídeos são

incorporados pela transcriptase reversa durante a síntese do DNA complementar e impedem de forma irreversível o alongamento da fita. Os ~~análogos~~ análogos de nucleosídeos se ligam diretamente à transcriptase reversa e bloqueiam seu sítio ativo, impedindo a síntese do DNA complementar.

Análogos de nucleosídeos são também utilizados como antivirais para vírus de família Herpesviridae. O aciclovir e seus derivados são incorporados na fita de DNA viral durante a replicação e impedem a continuação do processo. Esses fármacos são altamente específicos para células infectadas, pois dependem da fosforilação pela timidina quinase viral para serem reconhecidos pela DNA polimerase e incorporados à fita crescente, evitando efeitos colaterais.

Voltando para o tratamento de HIV, a integração do genoma viral no cromossomo da célula hospedeira é alvo de antivirais como Etritegravir, Raltegravir e Dolutegravir. A não inserção do DNA viral ocorre devido à inibição da integrase viral, impedindo a subsequente expressão dos genes virais.

A maturação da partícula viral de HIV é também um processo essencial para geração de progênie infecciosa e alguns antivirais inibem a protease que cliva as proteínas de superfície do vírus, tornando-a apta a infectar outras células.

Existem ainda tratamentos para os vírus

causadores das hepatites B e C. Para o HBV, alguns dos mesmos inibidores de transcrição reversa, citados anteriormente para tratamento de HIV, são utilizados atualmente. Para o HCV, existe o sofosbuvir, um antiviral que inibe a proteína NS5B viral (polimerase viral), impedindo sua replicação/transcrição.

Outros medicamentos que inibem RNA polimerase dependente de RNA do vírus são também utilizados em casos de doenças graves e complicações em decorrência da infecção por vírus de RNA. É o caso do remdesivir, por exemplo.

Para o vírus Influenza, e atuando na fase final do ciclo replicativo, alguns antivirais inibem a neuraminidase (~~Tamiflu~~), como o Tamiflu. Ao inibir essa enzima, o antiviral impede a clivagem de resíduos de ácido málico e a consequente ~~liberação~~ liberação da partícula viral a partir do tratamento na célula hospedeira.

O tratamento em ambiente hospitalar utilizando interferons do tipo I e III também são importantes para estimular a resposta imune no indivíduo infectado.

Existem tratamentos que estão em fase de investigação atualmente, como a administração de RNA de interferência para impedir a expressão das proteínas virais. Seriam tratamentos específicos para cada vírus e dependentes de um veículo eficiente de entrega do RNAi no citoplasma da célula hospedeira infectada.

A pesquisa por novos antivirais é constante e de grande importância. Diversas tecnologias facilitam a busca por compostos com atividade antiviral, como equipamentos que realizam o screening de bibliotecas inteiras de substâncias e selecionam os mais promissores para testes *in vitro* e *in vivo*, experimentos que são realizados com o objetivo de confirmar a atividade antiviral, identificar a etapa do ciclo replicativo que é bloqueada e avaliar a citotoxicidade para a célula hospedeira.

Os mecanismos de resistência aos tratamentos com antivirais estão estritamente relacionados com as alterações genéticas adquiridas pelos vírus e as consequentes alterações estruturais nos alvos dos medicamentos.

Esses mecanismos são discutidos no tópico a seguir: 9 - Genética e evolução de vírus emergentes e reemergentes.

P

9 - Genética e evolução de vírus emergentes e reemergentes

A evolução dos vírus inclui uma série de mecanismos complexos e influencia drasticamente na dinâmica das infecções virais humanas. As alterações sofridas pelos vírus no processo de evolução podem impactar sua virulência, transmissibilidade, escape do sistema imune e do tratamento com antivirais e sua adaptação aos diferentes hospedeiros.

Alguns mecanismos de evolução viral são a ocorrência de mutações pontuais, recombinações e reassortments. No caso das mutações, as trocas ocorridas durante a replicação do genoma, principalmente para vírus com genomas de RNA, podem se acumular durante os ciclos, resultando em alterações significativas nas proteínas virais. Essas alterações podem impactar em diversos eventos: 1) no reconhecimento dos vírus por anticorpos, quando o escape da resposta imune ocorre por infecções prévias ou vacinas; 2) na interação das proteínas de superfície do vírus com seus receptores; 3) nas taxas de replicação do vírus no interior da célula; 4) nos mecanismos moleculares associados com a patogênese ~~de~~ virulência.

As alterações genéticas e na estrutura da partícula viral pode resultar em adaptação a diferentes hospedeiros, possibilitando a transmissão por um determinado vetor e

o pulso de espécie em casos de vírus zoonóticos. As mutações são geralmente as principais causas dos surtos sazonais de Influenza A, por exemplo. Enquanto a ocorrência de reassortments pode resultar em novos pulsos de espécie e pandemias para este vírus.

O reassortment é um importante evento que ocorre para vírus que possuem genoma segmentado e é, por definição, a troca de segmentos entre vírus diferentes que infectam a mesma célula. As alterações causadas por reassortments são, portanto, mais drásticas do que as causadas por mutações pontuais devido a quantidades de alterações que um único evento pode ocasionar.

Em 2024, o vírus Orthobunyavirus Dugesiense sofreu reassortment com o vírus Tiquito. A nova variante se espalhou para regiões não endêmicas e tem sido associada com casos fatais, transmissão vertical (com efeitos teratogênicos graves e morte fetal) e outros aspectos da patogênese até então não descritos (embora a doença causada por este vírus tenha sido negligenciada e subnotificada por anos).

É importante lembrar que, com exceção às mutações pontuais, os vírus possuem altas taxas devido a ausência de atividade corretora de suas polimerases. Nesse aspecto, os vírus de RNA se desdobram ainda mais, bem como os vírus com genomas pequenos.

~~Autores~~

Diante do exposto, é importante ressaltar alguns aspectos. A evolução viral impõe uma necessidade de investigação e vigilância constante dos vírus que circulam em rebanhos, animais domésticos, animais selvagens e também os que estão causando surtos em humanos. Essa vigilância inclui a necessidade de sequenciar o genômico e identificação das mutações que caracterizam novas variantes e cepas virais, bem como a associação dessas mutações com as características de patogênese e transmissibilidade do vírus. Em um contexto ideal, pesquisas para desenvolver vacinas e sorinas poderiam ser realizadas antes da ocorrência de surtos, deixando a sociedade preparada para lidar com as epidemias.