

2) a transcrição de genes iniciais associados a regulação da resposta imunológica da célula hospedeira, polimerase viral e proteínas importantes na regulação da síntese de ~~gene~~ transcritos tardios, bem como, na replicação do genoma viral. Já portanto, posteriormente a regulação da replicação de genoma, com a atuação da NSZ principalmente e a transcrição dos genes tardios associados à síntese das proteínas do capsídeo VP1 e VP2 no citoplasma. O acúmulo de proteínas estruturais e a ~~início~~ ~~o~~ ~~seu~~ replicação do genoma viral que ocorre pelo mecanismo de "rolling hairpin" leva à formação da fita complementar às fitas molde que então são transportadas ao local que estão as proteínas estruturais e as fitas são separadas apenas no momento do empacotamento, não sendo observados moléculas de DNA q fita simples antes desse evento. Assim a partícula é montada e liberada da célula, permitindo infectar outras células.

Já no caso dos vírus como Papillomaviridae e Polyomaviridae, que são vírus com genoma de DNA FD , os mecanismos relacionados as fases iniciais e tardias são ~~similares~~ ^{parem,} aos vírus de DNA. Esses vírus apresentam mecanismos de modulação da célula hospedeira, induzindo à entrada na fase replicativa S através de proteínas virais, consideradas oncogênicas, permitindo que haja a disponibilidade dos enzimas e fatores importantes para a replicação viral, uma vez que dependem da maquinaria da célula hospedeira.

Esses vírus normalmente ao chegarem no núcleo, local de replicação do genoma, circularizam-se e possuem regiões não codificantes "LCR" que induzem a polimerase celular a transcrever os RNAm iniciais que no caso do Polyomaviridae levam a tradução de proteínas E1 e E2 importantes na regulação das transcrições tardias e na replicação do genoma e também na transcrição de RNAm que levam a produção das proteínas E6 e E7 que possuem a capacidade de modular o ciclo celular através da interação e inibição/degradação dos proteínas importantes no controle do ciclo celular como a P53 (proteína de 53 kDa) que é induzida à degradação via proteossoma pela E6 e também ocorre a inibição da proteína retinoblastoma (Rb) pela proteína viral E7.

Essa regulação viral impede a replicação dos vírus que levam as células à apoptose e induzem a proliferação celular, podendo contribuir para transformação celular levando ao desenvolvimento tumoral. Em destaque, os vírus da família Polyomaviridae como HPV podem apresentar maior ou menor capacidade de

3 induzir câncer. Normalmente, os vírus de genótipo 16 e 18 tem sido considerados de alto risco para o desenvolvimento tumoral, uma vez que é observada em alguns casos a integração do genoma viral no genoma da célula hospedeira, deixando de ser episomal como é observado nos tipos 6 e 11 que tem sido considerados de baixo risco, normalmente associados à verrugas genitais. Nesse sentido, em tipos de alto risco é observada maior expressão dessas proteínas virais E6 e E7 e possivelmente a associação com os casos mais graves.

Assim, a regulação dos transcritos durante a infecção tem sido demonstrada principalmente pela proteína E2 do HPV e LT-Ag do Poliomavírus, levando a transcrição dos genes tardios L1 e L2 dos proteínas estruturais do vírus, bem como, a replicação do genoma viral que ocorre pelo mecanismo de formação de dois forquinhos de replicação com atuação da polimerase viral sintetizada na fase inicial, há síntese de maneira contínua e descontínua bidirecionalmente quando os genomas virais que não são empacotados pelos proteínas virais estruturais e os vírus são liberados das células hospedeiras.

No caso dos vírus das famílias Herpesviridae, Adenoviridae e Poxviridae, são considerados vírus mais independentes da maquinaria celular para transcrição, uma vez que alguns possuem a polimerase e os enzimas necessários para sua replicação. Esses vírus também são vírus com genoma de DNA F_{ds} e os que ficam no núcleo, exceto Poxviridae que a replicação é no citoplasma da célula, são transcritos os genes iniciais. Esses vírus também são capazes de regular os respostas do hospedeiro, reduzindo por exemplo, a resposta antiviral e permitindo que ocorra a replicação. Herpesvírus e Adenovírus ficam com o genoma episomal no núcleo celular e há a transcrição dos genes iniciais associados à essa regulação dos mecanismos antivirais da célula hospedeira, herpesvírus possuem timidina quinase (TK) que auxilia na transcrição gênica, bem como induzem à transcrição de proteínas não estruturais. Poxvírus por replicar seu genoma no citoplasma, possui sua polimerase viral que realiza os etapas de síntese. No caso dos herpesvírus e poxvírus, há uma fase intermediária associada à replicação do genoma viral e de proteínas que regulam a maquinaria de síntese dos genes tardios que vão levar a produção das proteínas estruturais, possibilitando a montagem atores do acúmulo dessas proteínas e da replicação do genoma viral, assim, posteriormente sendo liberado da célula.



4

Outro grupo importante de vírus de DNA são os Hepadnavírus como o HBV que possuem o genoma parcialmente incompleto e caregem uma transcriptase reversa, uma vez que o intermediário é um RNA. Assim, ao chegarem no núcleo, o genoma se liga nas extremidades e forma um círculo covalentemente fechado ~~completando~~ complementando a parte da fita de DNA. Há então a presença de 4 promotores virais que levam a síntese dos genes associados à proteínas não estruturais associados à replicação e manutenção da infecção, podendo dar origem a proteínas de pré-capsídeo e proteínas envolvidas com a potencialização da infecção como o caso da proteína viral X. Os RNAs virais dessas regiões dão origem os proteínas de core, proteínas de superfície que são compostas por três tipos L, M e S e ^{alguns dos RNAs m} são molde para a formação do genoma viral. Então, com tradução das proteínas estruturais na fase tardia, o genoma será originado a partir de um RNA que será empacotado e através da transcriptase reversa viral será transcrito em DNA parcialmente ~~fita~~ ^{fita} dupla e a partícula será liberada da célula hospedeira. Interessantemente, o HBV também produz durante o ciclo, muitas partículas incompletas que tem resposta antigênica e podem ser um mecanismo de escape imune. Além disso, esse mecanismo de intermediário de RNA leva a maiores possibilidades de mutações e leva a maior diversidade viral, dificultando a eliminação do vírus que pode levar a uma infecção crônica com grande influência da proteína viral X, que tem sido observada aumentar nos casos crônicos, bem como a perpetuação das proteínas virais HBsAg e HBeAg.

6. Antivirais e mecanismos de resistência

Os antivirais são moléculas importantes no controle e prevenção de diversas infecções virais que tem a capacidade de inibir a infecção viral e também contribuem para redução das manifestações clínicas associadas. Normalmente os antivirais são utilizados direcionados às diferentes etapas do ciclo replicativo viral ou em proteínas celulares importantes para que o ciclo ocorra, assim, atuando como inibidores de maneira direta ou de maneira indireta, respectivamente.

Para o desenvolvimento de antivirais, existem muitos etapas que podem

5

su divididos em pré-clínica e clínica.

A fase pré-clínica está associada as avaliações inicialmente em cultura de células (in vitro) para avaliação dos efeitos antitumorais de moléculas candidatas, bem como, ensaios de citotoxicidade e concentração ideal, permitindo uma triagem de moléculas promissoras. Posteriormente, pode ser utilizados animais para validação dos efeitos, tanto antitumorais quanto a confirmação de não levarem à toxicidade. Bem como, a avaliação da metabolização da fármaco, a biodisponibilidade em diferentes situações, a associação com efeitos passivos colaterais que descontinuem a avaliação como serem tóxicos. Algumas análises também tem sido avaliadas in situ, utilizando programações para o estudo das moléculas, interação com os alvos e outras características possibilitadas pelos modelagens.

Já a fase clínica, refere-se a avaliação dos efeitos das moléculas candidatas que passam pela triagem anterior em humanos, seguindo as diretrizes de comitê de ética. Essa fase pode ser subdividida em três etapas:

- ETAPA 1 → que consiste na avaliação do fármaco em voluntários saudáveis para validação dos análises de biodisponibilidade, metabolização e glms.
- ETAPA 2 → Nessa já são insuados grupos de pessoas que possuem a infecção como sendo o grupo indicado para o tratamento. Podendo consumir com um pequeno grupo insuado os efeitos antitumorais e comparar com os outros oncêis.
- ETAPA 3 → São adicionados milhares de pessoas do grupo indicado para a confirmação dos efeitos promissoras do antitumor. Permitindo assim que possa ser um candidato para uso clínico. Destacando que essas avaliações da fase clínica ocorrem com grupo controle que recebe placebo e de maneira duplo cego para elevar a confiabilidade dos resultados.

Portanto, para o desenvolvimento de antitumorais é elsurado um longo período até conseguirem de fato um promissor, com grande investimento e com o insuio de uma gama de moléculas que no final do processo pode chegar a conclusão de apenas uma molécula.

Assim, é difícil chegar até um bom antitumor e atualmente devido ao aumento de doenças causadas pelos vírus, associada ao aumento da capacidade de identificação dos mesmos através das avanços tecnológicos, se faz necessário investimentos e pesquisas em busca dos melhores fármacos

6

Nesse sentido, os antirretrovirais são escolhas necessárias em casos de ausência de vacinas disponíveis para os vírus em questão, ou mesmo tendo vacinas, a não disponibilidade para todos os grupos, normalmente priorizando grupos mais suscetíveis à doenças graves associadas, ainda em casos que os indivíduos não podem tomar vacinas devido à suas condições como alergias de ovo, por exemplo. Os antirretrovirais também são utilizados como prevenção ou profilaxia em casos necessários, como por infecções por HIV evitando a transmissão durante o parto,

Assim para que o antirretroviral seja utilizado ele precisa de características importantes associadas à sua capacidade em ter o efeito antirretroviral em baixas concentrações (ideal) e com o mínimo de toxicidade. Normalmente, dependendo da via de administração pode levar a maior ou menor adesão, bem como, a quantidade de doses e duração de um tratamento podendo desestimular os pacientes a continuarem utilizando combinado com os possíveis efeitos colaterais indesejados.

Portanto, a aplicação dos antirretrovirais de ação direta estão associados à sua atuação em diferentes etapas do ciclo replicativo viral e atualmente temos uma quantidade de antirretrovirais aprovados para o uso em vírus principalmente associados à casos potencialmente mais graves como HCV, HIV, HBV, Herpes e vírus respiratórios como Influenza, HRSV e SARS-CoV-2.

Para as primeiras etapas do ciclo replicativo que compreende a adsorção e penetração viral, há alguns fármacos disponíveis como:

A Zinivina que é mimética do GP120 do HIV e se liga à ele, impedindo que haja a interação com os receptores da célula hospedeira. Além disso, a droga maraviroc é utilizada para impedir a fusão da partícula do HIV, uma vez que ela é antagonista do CCR5.

Além dessas, há a disponibilidade da Amantadina e Rimantadina que são utilizadas contra influenza A e são onícos que impedem a acidificação do endossoma formado pelo vírus ^{pela} com proteína M2 que forma poros para passagem de prótons, impedindo assim a fusão do endossoma e da partícula para liberação do genoma viral na célula hospedeira, entretanto, já tem o surgimento de resistência.

Outra etapa importante e que mais tem antirretrovirais aprovados é a de replicação dos ácidos nucleicos, como exemplos:

7 O acidozin e análogos que são classificados como análogos nucleosídicos e impedem a síntese da cadeia de ácidos nucleicos para replicação viral. Esta molécula é análoga de guanosina e ao ser inserido na síntese da molécula pela polimerase viral a fita é parada e não é capaz de continuar sintetizando. Este fármaco é utilizado para HIV, HCV e HBV principalmente e tem apresentado bons efeitos antirvicos e com bom controle, pois uma vez que é um pró-fármaco, necessita de fosforilação para que a molécula esteja ativa e o acidozin depende da fosforilação pela cinase viral indiretamente (TK), portanto, atuando apenas com o desencadeamento da enzima viral em células infectadas.

Apesar disso, alguns casos podem não ser indicados como primeira escolha, em alguns indivíduos pode não estar tendo efeito devido à mutações na polimerase viral ou cinases virais truncadas ou disfuncionais.

Outro exemplo é a ribavirina que também atua como análogo nucleosídico de guanosina e é indicada para uma gama de infecções virais como HRSV, por exemplo, e necessitando da atuação de cinases celulares para fosforilá-la.

~~Sofosbuvir~~ ^{Sofosbuvir} é também utilizado como análogo nucleosídico de ~~adenosina~~ ^{uridina}.

Contra HCV na NSSB (polimerase viral) e o doclotavir atua inibindo o complexo replicativo induzido pela NSSA do HCV, realizando mudanças conformacionais na molécula e impedindo a ligação do complexo ao RNA.

No caso do HIV, inibidores nucleosídicos ^{análogos} utilizados contra a transcriptase reversa (INTR) podem ser indicados Lamivudina análogo de citidina e Zidovudina (AZT) análogo de timidina que impedem a síntese da fita do genoma viral.

No caso de inibidores análogos de nucleosídeos contra a transcriptase reversa, ^(INTR) os mais indicados para o HIV tem sido Tenofovir que também é indicado para o tratamento de outros vírus como HCV. Há também a indicação de inibidores não análogos (INTR) que atuam de maneira não competitiva e também impedem a atuação da polimerase viral.

Outro mecanismo importante explorado por antivirais é o processamento de proteínas pelas proteases virais. Como exemplo:

Para o tratamento do HCV é indicado Velpatevir que atua inibindo as proteases NS3 e NS5A que atuam na clivagem da poliproteína viral para formar proteases virais funcionais.

8

Outro antinrol indicado para inibir proteases virais é, por exemplo, Ritonavir que foi indicado para o tratamento ^{com D-19} de SARS-CoV-2 impedindo a atuação da mPro viral na clivagem de proteínas para formação de proteínas funcionais, PPIa e PPIb para quem as proteases não estruturais associadas a regulação e replicação viral. Essa molécula e também Lopinavir tem sido indicado para o tratamento de HIV que impede a clivagem pela protease viral da Gag e Gag-pol que é necessária para a maturação da partícula infecciosa, tornando madura. Assim, esses inibidores impedem a liberação de vírus infecciosos.

Também é importante a atuação de inibidores, no caso de HIV, na etapa de integração viral. Assim, é indicado inibidores como Raltegravir que se liga a região catalítica da protease e impede sua função.

É na etapa de liberação dos partículas virais, um exemplo de inibidor indicado é Oseltamivir (Tamiflu) que é análogo de óxido de selênio e impede a liberação da partícula viral por interação com a neuraminidase viral da influenza e leva ao acúmulo das partículas na membrana celular, possibilitando reconhecimento pelo sistema imune.

Portanto, há antinrols disponíveis para as diferentes etapas do ciclo replicativo que podem ser utilizados para inibir a eficácia da replicação viral. Além destes, devido a demora na identificação de novos candidatos, tem sido realizada o reposicionamento de fármacos que possam ser utilizados em diferentes vírus que possuem mecanismos replicativos similares, realizando de maneira mais rápida a sua utilização uma vez que já foram aprovados para uso clínico. Não apenas drogas sintéticas, mas inibidores derivados de produtos naturais tem sido testados com o sucesso antinrol e muitas vezes anti-inflamatória de maneira satisfatória.

O uso de imunoglobulinas também tem sido utilizado como preventivo/controlado de infecções virais como para infecções pelo vírus da raiva, MBV, HIV e podendo ter algo também em outras, como a imunoglobulina voltada para IL-6 (citocina pró-inflamatória) aumentada durante infecções virais como SARS-CoV-2 como o Tocilizumab. Além disso, é recomendado, em alguns casos, a utilização de terapias associadas de mais de um antinrol e também o antinrol interferon que pode ser

9

pequinhos, permitindo maior estabilidade do moléculo, evitando sua metabolização no organismo. IFN - por ter atuação antiviral é recomendada em alguns casos como HCV, HBV e HPV. e apesar do tratamento longo, gera uma redução dos casos graves de infecção.

Embora, haja a disponibilidade desses antivirais, como mencionado, os vírus conseguem a partir de mutações serem resistentes a alguns, por isso, o melhor mecanismo de atuação é a terapia combinando mais de um antiviral, bem como o uso correto e contínuo dos antivirais prescrites para os pacientes.

9. Genética e evolução de vírus emergentes e reemergentes

A evolução dos vírus está associada à eventos de alterações genéticas através de mecanismos como mutação, bem como, a seleção natural tornando o vírus apto a se multiplicar e manter-se nos organismos. Existem muitos mecanismos de replicação e adaptação dos vírus aos organismos hospedeiros, indicando essa capacidade observada nesses parasitos. Os vírus são muito numerosos e representam a maior biomassa no ecossistema, tendo a capacidade de infectar e se manterem em todos os tipos de organismos, uma vez que são parasitos intracelulares obrigatórios e dependem da maquinaria das células hospedeiras, tornando essa interação possível de adaptações.

Com o advento tecnológico e seu contínuo desenvolvimento, tornou possível a identificação de diferentes vírus que antes poderiam não ser identificados. A metagenômica através de sequenciamentos de última geração tem possibilitado essas análises, permitindo caracterizar a sequência genômica dos mesmos e a descoberta de outros, como no caso dos vírus gigantes que foram identificados em 2003 e trouxeram diferentes questões referentes ao conhecimento sobre vírus. Nesse contexto, foi possível a identificação de virofagos, que são vírus que infecta vírus como Sputnik que infecta mimivírus, tornando assim, os vírus como parasitos que tem uma gama imensa de hospedeiros.

Devido a diversidade de vírus e de seus mecanismos de estabelecimento,

replicação e evasão da resposta imune, ainda não há um consenso da origem dos vírus. Há diferentes hipóteses associadas à isso, mas que ainda não estão totalmente estabelecidas por não conseguirem explicar todos os mecanismos e características associadas.

Há hipóteses que referem-se como a origem do vírus vindo das células ("Cell first") que especulam sobre o escopo viral das células que deu origem ao vírus, mas não descreve como os proteínas celulares não estão presentes nos vírus de modo qual; outro refere-se à redução gênica que o vírus teve em um primeiro momento os genes celulares e foram sendo atados ao longo da evolução, mas ainda não fica claro esse processo.

Assim como há hipóteses que sugerem que os vírus vieram antes na evolução ("Virus first") e que assim douam origem às células que conhecemos hoje, com suposições de que o RNA veio antes do DNA, que três vírus de DNA podem ter dado origem aos três domínios (arquea, bactéria e eucariotes) pelo contato com células inicialmente de RNA, quando três linhagens diferentes, assim como, eucariogênese ligada à vírusgenese como se vírus tivesse sido englobado por uma célula e reduzido as modificações para torná-la parte dela como núcleos, refletindo a capacidade replicativa que é observada nos vírus e também essa interação de forma sucessiva com a saída dos vírus dessas células, levava à modificações nos vírus para que sejam o que identificamos atualmente. Embora ainda não há comprovações que deixem claro quais mecanismos levaram aos vírus que conhecemos hoje e qual foi o impacto desta relação com o hospedeiro que propiciou alguma característica na célula hospedeira.

Dessa forma tentando compreender mais sobre as diversidades virais, foi redigida uma classificação dos genes virais em 5 classes:

1. genes ^{virais} que são observado homólogos em células como ^{proteínas de} interação-receptor
2. genes virais que alguns vírus compartilham e há homólogos celulares.
3. genes virais específicos em alguns vírus que não há homólogos celulares
4. genes virais que um grupo maior de vírus possui e não há homólogos celulares
5. genes virais presentes em muitos grupos de vírus / família como marcadores de genes virais, como RprD e TR.

mm

Assim, é possível identificar e compreender melhor essa diversidade, e que pode representar que não há apenas um ancestral comum, podendo sua origem a partir de mais ancestrais, uma vez que há características genéticas mais que não são compartilhados.

É nesse momento que não temos um veredito da origem, e que observamos é a evolução viral que tem sido melhor avaliada com métodos moleculares como as análises por metagenômica. Essa evolução ocorre pela interação dos vírus com os seus hospedeiros, que pode levar à adaptação do hospedeiro também ou na incapacidade desta adaptação pode levar à eliminação, assim como, dos próprios vírus que recusam se adaptar às respostas dos hospedeiros para se manterem e também conseguem infectar outros hospedeiros.

Essa adaptação viral normalmente é reflexo de pressões seletivas sejam do ambiente, como nos hospedeiros com mecanismos de eliminação de vírus, diferentes receptores, diferentes organismos, assim como dos próprios vírus pelas mutações, recombinações e rearranjos que dão origem à uma diversidade de vírus, principalmente devido a replicação viral estar associada à uma grande taxa de erro, como observado no rearranjo de vírus influenza ^{avária e} ^{suas}

Assim, adaptações virais são os principais causas de surgimento de vírus emergentes que tem sido cada vez mais observados e detectados. Esses vírus emergentes são reflexo de diferentes fatores que podem contribuir para o seu aumento. Questões como alterações climáticas, alterações demográficas, comportamentais, sociais, facilidade de transporte e comércio, descaso em saúde pública e também os próprios mutações virais.

Alterações climáticas provocadas, por exemplo, pela urbanização, redução da camada de ozônio na estratosfera podem desencadear diferentes períodos como de seca e enchentes, que podem propiciar o contato dos seus humanos com áreas silvestres e vírus que são parasitas de outros hospedeiros podem preferir ser transmitidos ao humano, além do contato com uma diversidade de vírus pode ser maior por essa urbanização que causa por exemplo desmatamento. devido a também o contato com possíveis vetores, como caso dos arbovírus.

Alterações demográficas, associadas ao aumento do número de

MMU

persoas, que pode contribuir para adaptações, bem como, esse crescimento populacional desencadeia viagens para diferentes regiões que pode permitir a disseminação de um vírus local em regiões mais distantes. Assim como, alterações comportamentais como diferentes parceiros pode levar o surgimento e disseminação de infecções sexuais. Outro fator é a alteração social, aumento de renda com famílias conseguindo emprego para os principais membros pode ser necessário a utilização de creches para deixarem os filhos e isso pode contribuir para o contato de vírus pelos crianças presentes e o espalhamento das mesmas.

Considerando com isso, a facilidade de transporte aéreo e terrestre tem permitido a rápida disseminação viral como observamos na pandemia de COVID-19, podendo espalhar para todos os continentes. Com grande contribuição também pela descansa da saúde pública, se não tiverem as medidas necessárias de manejo e controle das infecções virais, elas podem se tornar epidemias que se tornam difíceis de controlar. Então, é necessário maior investimento em diagnósticos, bem como, propor melhor comunicação para a identificação de potenciais riscos causados pelas infecções virais pelos análises epidemiológicas tanto pelos órgãos de controle na área da saúde quanto a articulação com pesquisadores.

Um dos grandes fatores associados às adaptações é a própria genética viral, vírus que tem maior capacidade de mutar, como o caso dos vírus de RNA, representam o maior número de vírus emergentes. Isso se deve ao fato de a polimerase viral dependente de RNA não ter a conexão de erros que podem ser guardados durante a replicação viral, tornando-se o próprio a mutação que podem não alterar em nada, com alterações silenciosas, mas podem também ter alterações com efeitos de função que podem representar uma maior virulência ou maior estabilidade da infecção com mecanismos melhores de escape dos respostas imunes do hospedeiro, trazendo riscos para a sociedade.

Sabe-se que a maioria dos vírus emergentes tem sido transmitida por animais, sendo zoonoses e o comportamento antropocêntrico tem contribuído para isso, como alguns fatores ecológicos anteriormente. Portanto, quando comentamos de zoonoses, tem que se destacar a

13

influência do comportamento da população moderna, além daqueles fatores relatados anteriormente, o destaque para vírus que só se mantinham detectados em animais e hoje possuem a capacidade de infectar humanos, isso reflexo do contato mais próximo com animais, como em áreas rurais, regiões com saneamento inadequado permitindo a proliferação de animais que podem carregar algum vírus, bem como criadores de atropodes, que são observados com grande influência nas causas de vírus emergentes.

Portanto, é necessário um controle à nível de comunidade englobando desde cuidados com plantas, animais e humanos para evitar o surgimento de novos vírus, ou pelo menos, evitar a disseminação de vírus em regiões que não existiam atingindo um grande número de pessoas e podendo levar a piores cenários. Assim, deve-se pensar como um todo, devendo enfatizar a importância na manutenção de tratamentos antitúberculose em pacientes e métodos de prevenção para prevenir novos vírus, com desmontamento de rochas efervescentes e que tenham a maior aderência da população.