

# AIDS

**Amilcar Tanuri**

*Chefe do Laboratório de Virologia Molecular,  
Departamento de Genética, IB-UFRJ  
Divisão de AIDS/HIV no CDC, Atlanta, USA.*

**Ana Carolina Paulo Vicente**

*Chefe de Laboratório de Genética de Microorganismos do  
Departamento de Genética da Fiocruz, Rio de Janeiro, RJ.*

**Rodrigo de Moraes Brindeiro**

*Professor e pesquisador do Laboratório de Virologia  
Molecular, Departamento de Genética, IB-UFRJ.  
e-mail: mizuno@usp.br*

## A BIOTECNOLOGIA NO TRATAMENTO DE DEJETOS DE SUÍNOS

Menos de duas décadas após a identificação da Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (AIDS) e de seu agente etiológico, o vírus HIV (Vírus de Imunodeficiência Humana), a epidemia atinge proporção global. Contudo, o impacto da infecção não é igual ao redor do mundo devido a características socioeconômicas, culturais e demográficas. Na verdade, cada país enfrenta uma epidemia com características particulares. Atualmente, 92% dos novos casos de AIDS ocorrem nos países do Terceiro Mundo. O Brasil não foge a esta regra e apresenta, até o momento, 110.000 casos relatados, e ainda existem aproximadamente 500.000 portadores assintomáticos do HIV. Estes últimos representam um grande problema para a Saúde Pública porque, desconhecendo sua condição de portador assintomático e através de práticas sexuais de risco, podem transmitir o vírus para um número ainda maior de pessoas susceptíveis. O HIV tem como material genético o RNA, e é classificado como retrovírus em função de possuir a enzima transcriptase reversa. Esta enzima, no estágio inicial da replicação viral, promove a síntese da dupla fita de DNA viral a partir de um molde de RNA. Devido ao fato de não realizar a editoração da incorporação de bases durante a síntese do DNA, a transcriptase reversa é responsável pelo grande acúmulo de mutações ao longo do genoma destes vírus, gerando uma enorme variabilidade genética, que é um dos obstáculos para o desenvolvimento de uma vacina anti-HIV, assim como no tratamento à base de anti-retrovirais. A avaliação de isolados virais ao longo do tempo mostra uma grande diversidade entre as seqüências de nucleotídeos. Atualmente, já são conhecidos cerca de nove subtipos de HIV-1 (de A a I), além de amostras altamente divergentes que constituem o grupo O e de HIV-2. Os subtipos do HIV encontram-se espalhados pelo mundo, e são classificados com base nas seqüências dos genes do envelope ou do gag. Sendo necessária

uma variação acima de 30% entre as seqüências para que sejam em subtipos diferentes. Pouco ainda é conhecido em relação às características biológicas destes subtipos. Além disso, muitos trabalhos têm mostrado a existência de seqüências virais em que parte do genoma classificada como pertencente a um subtipo e outra parte a outro subtipo distinto seriam recombinantes. No Brasil, o subtipo dominante é o B, porém já foram identificados também os subtipos C, D e F. Estes outros subtipos podem ser um problema para o controle da doença, devido à possibilidade dos mesmos apresentarem novas propriedades patogênicas, assim como novo perfil de resistência aos antivirais. A história da AIDS se confunde com a da biotecnologia. Na verdade, o homem nunca utilizou tanto desta tecnologia para entender e combater uma doença humana. Esta batalha ainda não foi vencida, mas a comunidade científica deu respostas rápidas e ajudou a compreender e estabelecer formas de controlar esta epidemia. Neste artigo, descrevemos algumas aplicações biotecnológicas que estão contribuindo para o combate à AIDS.

### Diagnóstico

A partir da descoberta do vírus da AIDS e da possibilidade de infecção via transfusão sanguínea, o desenvolvimento de um kit-diagnóstico se tornou prioritário. Neste tocante, a engenharia genética contribuiu para o rápido desenvolvimento deste importante instrumento de controle. Várias proteínas virais foram expressas em sistemas bacterianos, e graças a este artifício pôde-se desenvolver rapidamente um kit-diagnóstico confiável. Outro avanço foi a implementação do teste de dosagem de carga viral no sangue periférico, que é essencial dentro dos protocolos de tratamento. Uma série de trabalhos independentes mostraram que a quantidade de vírus circulante é o fator que prediz o

desencadeamento da imunodeficiência, ou seja, pacientes que na fase assintomática apresentam carga viral elevada tendem a evoluir para a AIDS muito mais rapidamente quando comparados com os outros com cargas virais baixas. Mais uma vez a medicina pôde lançar mão da biotecnologia para que pudesse desenvolver um método confiável de dosagem da carga viral através da técnica de PCR quantitativo. Esta técnica se baseia na amplificação de quantidades ínfimas de RNA viral a partir da utilização de DNA sintético (primers) que catalizam reação de síntese. Esta reação é repetida dezenas de vezes, e a amplificação exponencial do ácido nucléico pode ser medida através de técnicas imunológicas e quantitativas. Foi possível desenvolver kits quantitativos de carga viral que estão à disposição dos clínicos para ajudar a decidir as bases do tratamento com drogas anti-retrovirais. Neste tocante, o Ministério da Saúde, através do Programa Nacional de DST/AIDS, organizou, a nível nacional, uma rede pública de laboratórios para dosagem de carga viral. A continuidade desta rede é de suma importância para o controle da resistência viral às drogas. Outros métodos foram desenvolvidos para o controle da resistência viral às drogas. Através da técnica de hibridização molecular, foi possível criar uma abordagem simples para identificação de mutações no genoma viral que levam à resistência aos inibidores da transcriptase e protease. Assim, da mesma forma que o antibiograma é feito para avaliar a sensibilidade de bactérias aos antibióticos e, desta forma, eleger aquele ideal para o tratamento, é possível analisar as regiões-alvo do vírus, o que permite tomar decisões precoces em relação à troca de medicamentos, a fim de manter a viremia do paciente em um nível basal muito baixo.

### Vacina

A vacina anti-HIV seria uma arma

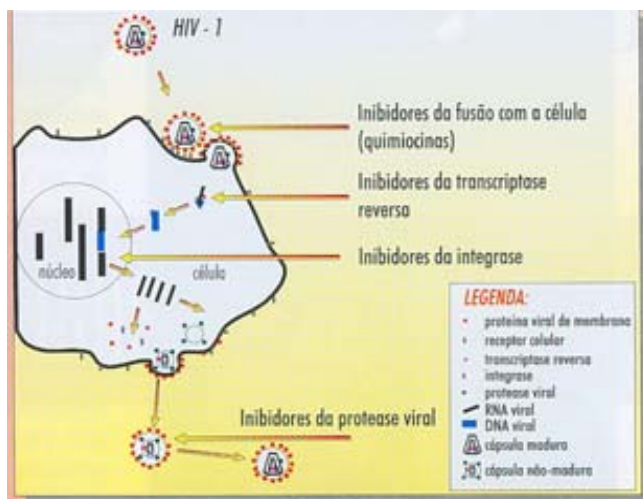
eficaz para impedir o avanço desta epidemia. A engenharia genética e outras técnicas biotecnológicas possibilitaram a produção em larga escala de antígenos virais importantes para o desenvolvimento de uma vacina. Hoje em dia, já existem protótipos de vacinas com várias composições antigênicas em fase de testes clínicos. Infelizmente, o teste de uma vacina anti-AIDS é um processo longo e muito dispendioso, inibindo assim os investimentos privados nesta área. Outro fator que ameaça o sucesso da vacina é a grande taxa de mutação que o vírus apresenta nas regiões importantes para a ativação do sistema imunológico humano. Várias estratégias foram desenhadas para criação de uma vacina anti-HIV e alguns grupos se dedicaram à produção da proteína de envelope (gp160) na tentativa de indução de anticorpos neutralizantes contra o HIV. Esses grupos utilizaram vários sistemas de expressão de proteínas, tais como baculovírus, levedura e células de mamífero. A empresa americana Genetec Inc. desenvolveu a expressão da gp160 em células de hamster (CHO), o que possibilitou a produção de grandes quantidades do antígeno para testes clínicos da vacina. Outra indústria americana adotou o baculovírus como sistema de expressão, e desenvolveu também o antígeno gp160 neste vírus de inseto. Ambos os sistemas mostraram-se eficazes. Uma outra estratégia é a utilização de vetores vivos, ou seja, vírus humanos atenuados, tais como da vaccinia, que foi manipulado geneticamente a fim de se induzir a expressão da gp160 quando inoculados. A fim de diminuir o risco biológico desta estratégia, foram manipulados geneticamente para atuarem como veículos (vetores) de vacinação. Um exemplo clássico é o vírus da varíola de canários (canaripox), que foi utilizado como vetor vivo para expressar a gp160 do HIV-1. Outra abordagem se baseia em introduzir nas células da derme um DNA que, uma vez em contato com o núcleo celular, expressa antígenos virais, e assim induz a imunidade nos indivíduos inoculados. Esta abordagem foi batizada de vacinação a DNA ou vacinas a DNA, e uma gama imensa de construções genéticas expressando diferentes antígenos de HIV-1 está sendo testada em animais. A manipulação em tubo de ensaio (in vitro) do genoma do HIV destruindo genes acessórios tais como vpu ou nef constitui outra possibilidade, uma vez que geram vírus com menor potencial patogênico. O vírus com o gene nef inativado apresenta um baixo potencial patogênico. Em experimentos de vacinação utilizando mutantes nef de SIV (vírus parente do HIV que infecta macaco), estes impediram a superinfecção com a cepa virulen-

ta letal. Obviamente existem várias questões de biossegurança relativas a este tipo de vacina, principalmente no que concerne ao potencial de reversão desses vírus e formação, através de recombinação de vírus selvagens, induzindo assim a doença nas pessoas vacinadas. De uma forma geral, houve um certo desinteresse das grandes indústrias biotecnológicas no desenvolvimento de uma vacina preventiva contra a AIDS. Este desinteresse foi causado, em parte, pela geração de novas drogas potentes contra o HIV e a dificuldade na organização dos testes clínicos para vacina.

### Terapêutica

Como citado anteriormente, o HIV é um retrovírus, e, portanto, utiliza uma enzima que transforma o seu material genético de RNA em DNA. Esta transformação (transcrição reversa) pode ser inibida por várias drogas, sendo as mais utilizadas o AZT, 3TC, DDI e DDC. Estas são derivadas de nucleotídeos (blocos que constituem o RNA e DNA) que quando incorporados à transcriptase reversa viral (TR) na cadeia de DNA, inibem a reação, o que impede a infecção celular. Infelizmente, a resistência a estas drogas é adquirida rapidamente pelo vírus através de mutações estratégicas na sequência que codifica a TR. Assim, a vantagem terapêutica obtida com este tratamento é rapidamente perdida após o aparecimento dos vírus resistentes que sobrepõem a população viral sensível. Outro alvo de ataque das drogas anti-HIV é a enzima proteinase, que é fundamental no processo de maturação das proteínas virais durante o brotamento da partícula. Sem sua atividade, partículas defeituosas, que não conseguem infectar novas células, são geradas. A partir de técnicas de modelagem molecular, foram desenvolvidas drogas potentes que conseguem inibir a ação desta enzima em concentrações baixíssimas. Estas são chamadas inibidores de protease (IP) e entraram no mercado há poucos anos, causando uma grande revolução no tratamento da doença. Pela primeira vez, pacientes completamente desenganados puderam se recuperar e levar suas vidas normalmente. Infelizmente, existem relatos de mutações virais que levam à resistência aos IP. Na tentativa de impedir o aparecimento de vírus resistentes o tratamento clínico atual utiliza a associação de

antivirais, não somente os IP, mas também os inibidores de transcriptase que constituem o coquetel de drogas que pode levar a uma queda duradoura da carga viral. Devido ao alto custo dos medicamentos, este tratamento ainda não pode ser disponibilizado para toda a população mundial infectada; contudo, no Brasil, o Ministério da Saúde, através do seu Programa Nacional de DST/AIDS, vem disponibilizando o coquetel de drogas para um grande número de doentes. O alto custo deste programa e a possibilidade de aparecimento de resistência viral fazem com que deva ser implementado um sistema de vigilância. Este sistema identificaria vírus resistentes e aconselharia a melhor combinação de antivirais para o controle da infecção em diferentes áreas do país. Novos alvos moleculares estão sendo pesquisados a fim de bloquear o ciclo viral, um deles é a enzima integrase que é responsável pela integração do genoma viral no núcleo da célula infectada. Outros alvos terapêuticos potenciais que vêm sendo pesquisados são os receptores celulares para betaquimiocinas (CCR5 e CXCR4, ou fusina), responsáveis pela entrada do vírus na célula, bem como as próprias betaquimiocinas, que são mediadores imunológicos capazes de bloquear tanto a entrada viral por competição pelo seu receptor, quanto a produção de novos vírus pela célula já infectada, por processo ainda não bem conhecido. Portanto, quanto mais alvos disponíveis para a terapêutica anti-AIDS, maior a probabili-



dade de sucesso.

As características peculiares desta pandemia faz com que seja fundamental o engajamento das comunidades científicas locais para um melhor entendimento dos problemas peculiares de cada país onde o HIV circula.

A contribuição da biotecnologia no controle efetivo desta epidemia tem sido decisiva, quer seja nos métodos diagnósticos, produção de anti-retrovirais ou no desenvolvimento de novas vacinas.