



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: 113971

mm

4- Replicação do vírus com genoma DNA

O ciclo replicativo dos vírus, em geral, podem ser divididos em fases: adsorção, internalização / penetração, desnudamento, biossíntese; com replicação, transcrição e tradução; brotamento e maturação. A classificação de Baltimore, divide os vírus de DNA em três grupos:

Classe I - vírus com DNA fita dupla. (Herpesvírus)

Classe II - vírus com DNA fita simples (Parvovírus)

Classe VII - vírus com DNA fita dupla e intermediário de RNA (Hepadnavírus).

Na adsorção ocorre a ligação de proteínas virais a receptores celulares específicos, o que determina o tropismo do vírus por determinados tipos celulares. Ou seja, os vírus só vão infectar células que apresentem receptores específicos para adsorção. Existe outro termo importante na adsorção que é susceptibilidade celular, ou seja, a célula só é susceptível a infecção se apresentar receptores para adsorção viral.

A internalização / penetração permite a entrada do material genético na célula. Podem ocorrer por fusão; neste caso, vírus envelopados fundem a membrana viral (envelope) com a membrana celular, liberando o capsídeo no citoplasma. Já vírus não envelopados, liberam o material genético no citoplasma, enquanto o capsídeo permanece no meio intracelular. Também podem ocorrer por endocitose, no caso dos vírus envelopados ocorre a fusão da membrana do envelope com a membrana da vesícula, de forma dependente de alteração de pH, com posterior liberação do capsídeo

no citoplasma. Em vírus não envelopados, ocorre a lise da membrana da célula, dependendo ou não de alteração de pH, com liberação do material genético no citoplasma. O desmudamento envolve a liberação do material genético no citoplasma.

Em geral, a ~~do~~ duplicação e transcrição dos vírus de DNA ocorre no núcleo, utilizando a maquinaria celular, com a DNA polimerase, RNA polimerase II e fatores de transcrição, com iniciação do vírus da polio, que carregam sua maquinaria e a expressão ocorre no citoplasma. Alguns vírus com genoma grande também podem carregar sua maquinaria de replicação, como os herpesvírus.

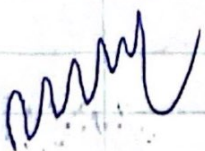
Vírus de DNA fita dupla → geralmente utilizam a maquinaria celular, no núcleo para replicar o genoma e transcrever RNA m, por isso os RNA m possuem cap e cauda poli-A, podendo sofrer splicing. Após serem transcritos, os RNA m vão para o citoplasma para serem traduzidos em proteínas virais.

Vírus de DNA fita simples → a sua expressão é semelhante aos vírus de DNA fita dupla, porém é necessário um passo inicial. Após o desmudamento, o DNA fita simples vai para o núcleo onde será sintetizada uma fita complementar pela maquinaria celular.

Vírus de DNA fita dupla com intermediário de RNA. Após o desmudamento, a fita dupla de DNA, que é incompleta, se desloca para o núcleo onde ela será circularizada, formando um círculo covalentemente fechado que é transcritionalmente ativo. Há tradução de proteínas virais e formação de pré-capsídeos com RNA viral. Em seguida ocorre a transcrição reversa pela enzima viral e formação da fita dupla de DNA incompleta. Essa expressão é típica dos vírus

da Hepatite B.

Após a transcrição e tradução das proteínas virais ocorrerá a replicação do genoma e montagem dos novos vírus para posterior brotamento. No caso dos vírus não envelopados ocorre a montagem dos capsídeos, sendo necessária a lise celular para liberação dos novos vírus. Já os vírus envelopados, adquirem seus envelopes a partir da membrana plasmática ou membranas intracelulares, promovendo o brotamento de novos vírus. A maioria dos vírus já são infecciosos após sua liberação, mas alguns vírus passam pelo processo de maturação, após sua liberação, e necessitam da ação de proteases virais para se tornarem infecciosos.



6. Antivirais e mecanismos de resistência.

Apesar das vacinas serem a melhor forma de prevenção e combate às infecções virais, os antivirais são fundamentais no controle das infecções virais.

Os antivirais podem reduzir hospitalizações, mortes, são essenciais ~~na~~ como portfólios para uma preparação pandêmica, ou crises emergente, onde não há vacina ainda, tendo impacto positivo na saúde pública.

Para um medicamento ser utilizado em humanos, precisa passar por diferentes etapas. De forma simplificada podemos dividir em 2 fases: fase pré-clínica e fase clínica. Na fase pré-clínica ocorre a testagem da molécula em laboratório em cultura de células, que são chamados ensaios *in vitro*. Nesta primeira etapa são avaliados toxicidade, potência, possíveis mecanismos de ação. Se a molécula tem baixa toxicidade e alta eficiência será submetida a próxima etapa, que são ensaios *in vivo*, realizados em animais criados em laboratório. Neste caso serão analisados parâmetros farmacológicos como biodisponibilidade, absorção, metabolização, eliminação, avaliação da dose-resposta, tolerabilidade, segurança e teratogenicidade. Somente após a realização da fase pré-clínica, poderá se iniciar uma fase clínica, passando por uma agência reguladora.

A ~~1ª~~ fase clínica pode ser dividida em 3 fases:

Na fase I ocorre a investigação em um grupo de indivíduos saudável e pequeno para avaliar principalmente a segurança. ~~A~~ fase II ocorre com um grupo de indivíduos com determinada doença para avaliar a eficácia, segurança e outros parâmetros farmacológicos. Na fase III avalia-se um grupo maior de indivíduos, a fim

a fim de investigar principalmente efeitos adversos a curto e longo prazo, assim como custo terapêutico.

A fase IV pudemos a farmacovigilância em um grupo ampla maior de indivíduos a fim de confirmar os dados obtidos anteriormente.

Quando se busca um novo antiviral, o objetivo principal é que ele atue principalmente no vírus e suas estruturas, ou seja, impacte o mínimo possível no metabolismo celular. Nesse contexto, os principais alvos na busca por um antiviral são as fases do ciclo replicativo, que envolvem: adsorção, ~~internalização~~, ou seja, na ligação com receptores celulares, na internalização / desnudamento, impedindo a liberação do material genômico viral; na replicação e transcrição, impedindo a ação das DNA polimerase, RNA polimerase, transcriptase reversa e integrase; na tradução, impedindo a síntese de proteínas virais; no brotamento, impedindo a liberação das novas partículas virais e maturação, impedindo os novos vírus de se tornarem infecciosos.

Hoje em dia, inúmeros antivirais estão disponíveis para utilização clínica para diferentes vírus, com ação em diferentes alvos.

Maraviroc → inibe a entrada do vírus HIV-1. A gp-120, glicoproteína de superfície do HIV-1 se liga ao receptor celular CD4 e ao co-receptor CCR5, ~~prevenindo a alteração da conformação e posterior fusão~~

O maraviroc impede a ligação ao co-receptor CCR5, prejudicando a alteração na conformação e posterior fusão. No entanto, ele funciona apenas para os vírus com tropismo para co-receptor CCR5 e alguns vírus HIV-1 com tropismo pelo co-receptor CXCR4, neste caso o antiviral não tem atuação.

Rimantadina → ela atua inibindo os canais iônicos formados pelas proteínas M2 do vírus influenza A, impedindo a fusão da membrana viral e endocítica, dependente de pH, impedindo a liberação do material genômico do vírus no citoplasma. No entanto, atualmente todas as cepas de influenza A possuem mutação de resistência a este medicamento, ou seja, ele não tem mais efeito.

Paxlovid → atua inibindo a protease Mpro do coronavírus (^{SARS} ~~SARS~~ - CoV-2). A protease atua na clivagem da poliproteína, para liberação da polimerase viral, ou seja, ~~não~~ impedindo a replicação viral.

Aciclovir → é um análogo do nucleosídeo guanosina, que tem função de terminador de cadeia. Após sua adição ao material genético que está sendo sintetizado não é possível adicionar nenhum outro nucleosídeo, pois seu grupamento 3' não apresenta uma hidroxila. Ele pode ser usado em infecções de Herpes, Epstein-Barr, Varicela zoster e citomegalovírus. Sendo assim, sua ação é na DNA polimerase.

Remdesivir → é um análogo do nucleosídeo adenosina e também tem função de terminador de cadeia, mas sua ação é na RNA polimerase dependente de RNA do SARS-CoV-2.

Dolutegravir / Raltegravir → são inibidores da integrase do HIV-1. Se não houver a integração do genoma, não haverá replicação e transcrição pela maquinaria celular.

MM

Inibidora → para ocorrer a fusão de membranas do vírus HIV-1 e sua entrada, é necessária a exposição do peptídeo de fusão gp41, após alteração na conformação da glicoproteína gp120. Esse antídoto se liga a gp120 e gp41, inibindo a fusão.

Nevirapina → inibidor da transcriptase reversa do HIV-1, porém não é análoga do nucleosídeo. Ela não se liga ao sítio catalítico, mas sua ligação à enzima altera sua conformação e do seu sítio catalítico, inibindo sua atividade.

Oseltamivir → se liga a neuraminidase, glicoproteína de superfície do vírus influenza, inibindo seu funcionamento. A neuraminidase tem como substrato o ácido siálico, ricamente exposto nas células infectadas por influenza, além de impedir a aglutinação de partículas devido a presença das glicoproteínas hemaglutininas que se ligam aos ácidos siálicos.

Baloxavir → se liga a subunidade PA da polimerase do influenza, que tem função de endonuclease. A PA corta os caps dos RNAm celulares para adicionar aos RNAm virais para posterior tradução das proteínas virais pela maquinaria celular. A polimerase do influenza apresenta 3 subunidades, a PA, a PB2 e a PB1.

Inibidor da tradução de proteínas do citomegalovírus → É um RNA complementar ao RNAm (do gene inicial 2), que se liga ao RNAm, impedindo a tradução da polimerase, consequentemente inibindo a replicação viral.

[Handwritten signature]

Interferon $\rightarrow$ atua contra o vírus da hepatite C, se ligando a receptores celulares e através de cascata de sinalização levando a transcrição e tradução de moléculas com ação antiviral. Ele promove um estado antiviral na célula. Pode ser apresentado de forma peguila, que diminui sua metabolização, aumentando qualidade de vida do paciente.

$\rightarrow$ Atazanavir

Inibidores de protease do HIV-1 $\rightarrow$ inibem a maturação dos novos vírus, ou seja, não são infecciosos. Eles atuam por bloqueio / liberação na clivagem de gag e gag-pol, tornando o vírus infeccioso.

Os vírus podem ter como material genético DNA ou RNA. Vírus de DNA, geralmente, utilizam a maquinaria celular, e a DNA polimerase tem atividade corretiva, mantendo a fidelidade da sequência do genoma viral. Já os vírus de RNA, utilizam a RNA polimerase, que pode ocasionar 10^4 a 10^6 substituições / nucleotídeos / infecção, ou seja, ~~seja~~ menor fidelidade a sequência do genoma viral. Essa menor fidelidade pode levar o surgimento de mutações "benéficas" ao vírus, ou seja, escape vacinal ou resistência aos antivirais.

Além disso, vírus também podem sofrer reassortimento, especialmente, vírus com genoma segmentado. Neste caso, uma mesma célula pode ser infectada por 2 cepas distintas e ~~separar~~ montar vírus com segmentos misturados das cepas originais, surgindo uma nova cepa. Um exemplo clássico é o vírus influenza A, que já causou diferentes pandemias e epidemias com novas cepas geradas, que também podem apresentar resistência aos antivirais.

MMJ

9- gênica e evolução de vírus emergentes e reemergentes

Vírus emergentes podem ser classificadas como surgimento de uma nova doença, uma doença que não apresentava casos (ou ~~po~~ poucos) há mais de 2 décadas, ou vírus que expandiram em uma determinada região. Os agentes infecciosos dessas doenças podem nunca ter sido descritos, podem ser conhecidos mas causando nova doença, ou agentes que infectam novos hospedeiros. As doenças emergentes são classificadas como infecção que expandiram seus números de casos, ou seja, estavam erradicadas, controladas e voltaram a aparecer.

As doenças emergentes e reemergentes estão relacionadas a diferentes fatores: fatores biológicos dos vírus e hospedeiros; ação humana no ambiente; expansão dos grandes centros urbanos; viagens globais.

Os meios de transporte mais modernos permitem a movimentação entre países distantes em horas, ou seja, antes do indivíduo apresentar sintomas clínicos, ou até mesmo antes de ser possível um diagnóstico laboratorial. Isso aconteceu recentemente na pandemia de SARS-CoV-2.

A ação humana no ambiente através de práticas de agricultura, desmatamento, construção de barragens e desastres decorrentes destas ações promove o contato de possíveis vetores e novos hospedeiros com os seres humanos e consequentemente novas infecções.

A expansão dos grandes centros urbanos também pode promover o contato com possíveis vetores e hospedeiros. Além disso, a ausência de saneamento básico, como tratamento de água e esgoto, também pode facilitar

a transmissão de vírus hídricos e vírus transmitidos por artrópodos. Em adição, a expansão ~~desenvolvida~~ ^{desenvolvida} em áreas com grande densidade populacional e sem estrutura, não^{se} considera a ventilação ideal das construções, aumentando a chance de transmissão de vírus respiratórios.

A transmissão ~~de~~ vírus emergentes e reemergentes podem se beneficiar de fatores biológicos dos próprios vírus e dos hospedeiros. Os seres humanos, por exemplo, podem apresentar fatores genéticos que favorecem a infecção, assim como comorbidades, imunossupressão, estado nutricional, sedentarismo e fatores ambientais.

Os vírus podem apresentar genoma viral de DNA ou RNA. Os vírus de DNA, geralmente, utilizam a maquinaria celular, incluindo a DNA polimerase que apresenta função de correção, ou seja, mantêm a fidelidade da sequência do genoma viral durante a replicação. Já os vírus de RNA replicam seu genoma utilizando a RNA polimerase viral, que não apresenta função de correção. Nesse contexto estima-se que a RNA polimerase faça 10^4 a 10^6 substituições/nucleotídeos/infecção. Sendo assim, vírus de RNA apresentam menor fidelidade ao genoma viral inicial. Essas mutações podem ser deletérias, quando vírus não infecciosos, mas podem ser "benéficas" aos vírus. Essas mutações podem levar ao escape vacinal, ~~escape~~ da resposta imune, aumentar a virulência, a resistência aos antivirais e permitir a infecção sustentada entre novos hospedeiros.

Além dessas mutações, os vírus podem sofrer ressortimento, principalmente os que apresentam genoma segmentado. Neste caso, uma célula pode ser infectada por 2 cepas diferentes, e na formação de

novas partículas virais, o surgimento de uma nova
capa com ^{parte do.} material genético das 2 capos originais.
O vírus influenza A, é um vírus de RNA o segmentado,
e já sofreu reassortimentos e adquiriu mutação (grande
variedade de hospedeiros) e foi responsável por
inúmeras pandemias e epidemias.

Outros fatores importantes para evolução de vírus
emergentes e reemergentes, é a densidade populacional
e ~~velocidade~~ tempo de replicação. Quanto maior
a população viral, maior a chance de aparecimento
de mutação "benéficas" ao vírus. A densidade populacio-
nal e variedade de hospedeiros também facilitam
~~o aparecimento~~ a evolução dos vírus. Além disso,
o ciclo replicativo dos vírus é muito mais rápido
do que os hospedeiros, relativamente.

mm