
Antirretrovirais sítios específicos epigenéticos para erradicação do HIV

Debora Cristina Ferreira¹, Edinéa Silva Rodrigues¹, Renato Oliveira Matos¹,
Alexsander Augusto da Silveira¹

1. Faculdade Estácio de Sá de Goiás

E-mail para correspondência: alexsander.silveira@estacio.br

RESUMO

O conhecimento dos reservatórios celulares para o HIV-1 torna-se alvo para síntese de novas moléculas para estimulação e retirada do vírus da latência, com subsequente ataque dos ARV'S já existentes, a abordagem de novos estudos para erradicação do vírus volta-se para epigenética na tentativa de desenvolver drogas que agem em pontos específicos como alterações em proteínas e enzimas que tenham a capacidade de induzir a replicação viral, esta revisão tem como objetivo descrever os novos conhecimentos e inovações científicos voltados para estimular a replicação através de novas drogas o que abre portas para uma possível cura para o HIV-1.

Palavras-chave: HIV-1, Novos Fármacos, Epigenética, Erradicação

INTRODUÇÃO

O HIV é o vírus responsável pela Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (aids), sendo transmitido principalmente pelas mucosas genitais durante o ato sexual. Ao alcançar a corrente sanguínea, o vírus infecta as células de defesas do indivíduo, comprometendo principalmente os linfócitos TCD4+, macrófagos e células dendríticas, tendo início o seu ciclo replicativo com geração de bilhões de cópias de partículas virais [1].

Em 1996 ocorreu uma nova descoberta contra o vírus HIV onde se iniciou um novo tratamento composto por associações de novas drogas de antirretrovirais (ARVs) com intuito de inibir as enzimas transcriptase reversa e a protease, permitindo assim o paciente HIV-1 positivo não entrar na fase de aids, caracterizada por doenças oportunistas como toxoplasmose, Sarcoma de Kaposi, micobactérias, infecções fúngicas, bacterianas, degeneração do sistema nervoso central (SNC) e outras, aumentando a sobrevivência dos pacientes portadores desse vírus[2].

As terapias existentes tem como função controlar pontos específicos da replicação do vírus, afim de que os níveis de carga viral se tornem indetectáveis no sangue, mas estas mesmas terapias não conseguem atingir os reservatórios no qual o vírus encontra-se

em latência. Com base nesses novos reservatórios virais de latência do HIV-1, nesta constante guerra de cura para o HIV, é que surgem os novos fármacos ARVs. O objetivo dos novos tratamentos é tentar retirar o vírus da latência e em seguida atacar esse vírus, até então letante com os ARVs convencionais [3].

Para entendimento dos complexos mecanismos envolvidos na latência viral, encontramos estudos voltados aos mecanismos epigenéticos celulares, que estão relacionados com a latência viral ou replicação viral, dependendo da disposição do DNA hospedeiro a ser encontrado no momento da infecção. Pesquisas recentes mostram a tentativa de modificar as proteínas associadas ao envelhecimento do DNA celular, tendo como principais alvos a metilação, desmetilação do DNA e as modificações pós traducionais (MPT), tendo como principal objetivo a destruição de vírus nos seus reservatórios latentes [4].

Esta revisão tem o intuito abordar os novos conhecimentos e inovações científicas voltados para a erradicação do vírus HIV-1, descrevendo as novas tentativas de fármacos com alvos epigenéticos e abordar essa nova busca científica de "Shock and Kill" associada aos tratamentos convencionais. Como exemplos podemos citar os novos protótipos a fármacos de erradicação do HIV-1 como os ago-

nistas dos Receptores tipo Toll 7 (TRL -7), inibidores da enzima Histona Deacil Transferase (HDACs), ativadores da proteína quinase C (PKC) e os inibidores de bromodomínio (BRD4) [3, 4].

AGONISTAS DOS RECEPTORES TRL7

Os receptores da família Toll (TLR) são receptores de reconhecimento de padrões moleculares de patógenos e 11 tipos de receptores já foram descritos, nos quais tem a função de reconhecerem precocemente os agentes infecciosos, como os vírus, e promover rapidamente a ativação das células de defesa. Estes receptores estão envolvidos em vários tipos de ativação dos processos inflamatórios, o que chama a atenção para os novos tipos de tratamento [5]. Durante o processo de inflamação os receptores TLRs estimulam as citocinas inflamatórias e as quimiocinas, moléculas estas responsáveis por a emissão de sinais a outras células ao longo do desencadeamento da resposta imune inata [5,6].

Os receptores do tipo Toll por serem envolvidos na ativação de células imunes, interagem e reconhecem diretamente padrões moleculares rígidos e conservados evolutivamente dos patógenos (PAMPs). Estes receptores de reconhecimento de padrões de microrganismos (PRRs) permitem o alerta, por ativação de cascatas bioquímicas, quando do reconhecimento de estruturas como lipoarabmanano, peptídeoglicanos, zimosano, dupla fita de RNA viral, RNAs virais, lipopolissacarídeos (LPS), ácido teicóico e lipoteicóico, além de outros [7]. Os TLRs 1,2, 4 e 6, são expressos extracelularmente nas membranas das células de defesas e são capazes de interagir com estruturas bacterianas, fungos e protozoários, enquanto os TLRs 3, 7, 8 e 9 estão expressos em vesículas e membranas intracelulares, como nos endossomas e são capazes de reconhecer ácidos nucleicos virais ou de material genético de patógenos que residem no interior das células, sinalizando intracelularmente, o que permite a síntese de moléculas de ataques contra esses tipos de patógenos que utilizam a maquinaria celular para a sua sobrevivência [8].

O vírus HIV-1 apresenta mecanismos de escape que bloqueiam a sinalização via receptores TLRs 3, 7 e 9 intracelulares, o que não permite a sinalização correta da célula infectada para a inibição do ciclo viral. Porém, uma vez ativada a sinalização bioquímica por estes receptores de reconhecimento de estruturas virais, a resposta imunológica contra o HIV se apresenta muito mais agressiva e com uma menor proporção de células reservatórios para o HIV. Com

base nesse conhecimento, novas pesquisas foram apresentados, na Conferência de 2015 sobre Retrovírus e infecções oportunistas (CROI) em Seattle, WA, novos estudos voltados para estes receptores. Estas novas terapias estão em fase de estudos finais para o tratamento da hepatite B crônica, entretanto apresentaram grandes avanços e eficácia na ativação do vírus HIV-1 em fase latência nas células reservatórios.

A GlaxoSmithKline – GSK apresentou recentemente o medicamento GS-9620, um agonista seletivo do receptor TLR-7 e ao se associar as terapias antirretrovirais convencionais, apresenta um sinergismo ao esquema de ARVs com a estimulação de células linfócitos TCD4 do indivíduo portador do vírus. O medicamento permite a estimulação do vírus em fase latente para entrar em fase de replicação com montagem de novas partículas virais, em associação com os ARVs que irão atacar e destruir esses vírus, antes servindo como “esconderijo” viral. Um estudo subsequente mostrou este mesmo fármaco estimulando as células de defesa, com uma diminuição do DNA viral circulante. Ao abrirmos os nossos olhos para esta nova descoberta, podemos perceber que o agonista TLR 7, pode ser um fármaco revolucionário, visto que ele pode expulsar o vírus de dentro da célula reservatório, permitindo que o próprio sistema imunológico do paciente HIV positivo elimine o vírus definitivamente de seu corpo [9].

INIBIDORES DAS ENZIMAS EPIGENÉTICAS HDACs

De acordo com o envelhecimento da cromatina de DNA, por proteínas nucleossomos, das células infectadas pelo HIV temos pontos importantes do DNA sofrendo metilação pelas enzimas Acetiltransferases (HATs) ou a desmetilação do DNA pelas enzimas Histonas Deacetilases (HDAC). A histona desacetilase (HDAC) é uma enzima recrutada especialmente para a regulação e retirada de grupos metil do DNA, fechando a molécula do DNA.. Quando da infecção em células apresentando um DNA sem metilações o vírus é favorecido entrar em fase da latência, o que permite a célula infectada a se tornar um reservatório viral. O DNA metilado permite que o vírus entrar no seu ciclo de replicação [10].

Os inibidores da HDAC são imunossuppressores utilizados em alguns processos cancerígenos que promovem alterações na expressão dos genes, indução da diferenciação da célula e na indução de apoptose [11]. Recentemente, pesquisadores vêm estudando a participação dessas drogas na estimulação

da retirada de latência na infecção pelo vírus HIV-1. Muitos são os inibidores das enzimas HDACs, entre eles podemos citar os ácidos hidroxâmicos, destacando como os principais o TSA, LBH589, SAHA e o PXD101. Cada medicamento tem seu mecanismo de ação exclusivo num ponto da enzima, mas podem-se observar que a maioria destes compostos, tem a função de interferir no sítio catalítico desta molécula.

O quimioterápico Vorinostat (VOR) foi um dos principais inibidores da HDAC a ter aprovação pela US FDA para aplicação clínica, utilizado principalmente para o linfoma subcutâneo das células T [13]. O VOR tem se mostrado uma importante linha de estudo para cientistas que procuram a sonhada erradicação do vírus, mostrando-se eficiente tanto nos ensaios *in vitro* como *in vivo* para a estimulação da expressão gênica viral do HIV e sua retirada da fase de latência [14]. O tratamento apresentado pelos cientistas mostra que o VOR liga-se ao sítio ativo das enzimas histonas deacetilase (HDACs), inibindo a deacetilação do DNA da célula infectada e ativa

regiões promotoras do DNA proviral do vírus HIV-1, permitindo o ciclo de replicação viral [15]. Em consequência da inibição enzimática pelo VOR há uma hiperacetilação dos nucleossomos, permitindo o HIV-1 entrar no seu ciclo de replicação viral, estimulando o mesmo a sair do reservatório latente. Um possível efeito adicional é a ativação de células T que se encontram reguladas ou desligadas, mais uma vez estimulando a transcrição viral, no qual o vírus ativado fica sujeito ao ataque dos antirretrovirais convencionais [16]. Um experimento clínico está sendo desenvolvido para provar a hipótese de que a dose aceitável de VOR poderá induzir a expressão do HIV, nas células TCD4+ *in vivo*, este experimento tem como objetivo apurar a segurança, a qualidade e aspectos de efeitos adversos de uma apresentação limitada ao Vorinostat, mas devido aos efeitos colaterais causados pela exposição a longo prazo o FDA aprovou apenas estudos a curto prazo com este medicamento [17]. A figura 1 mostra o mecanismo de dos inibidores da enzima HDACs e a estimulação viral em reservatórios “de esconderijo” viral.

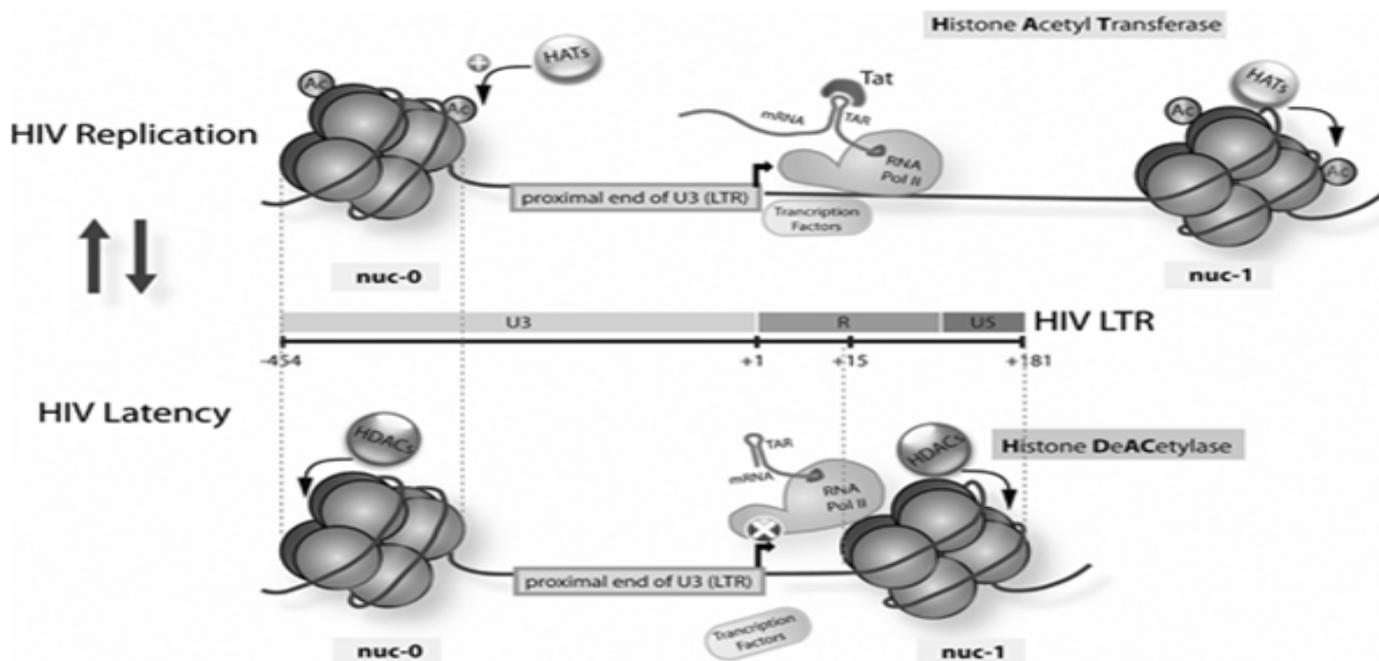


Figura 1. Organização de cromatina da LTR do HIV na configuração da replicação ativa do HIV e latência do HIV. Nas células T CD4 + ativadas, as histonas acetiltransferases (HAT) hiperacetilam o nuc-1, resultando em remodelação da estrutura da cromatina. Isso permite o recrutamento de Tat para o elemento de resposta de transativação (TAR), fatores de transcrição relevantes e a RNA polimerase II (RNA Pol II), permitindo uma transcrição viral eficiente. Na latência do HIV, o recrutamento de HDACs leva a uma redução na acetilação do nuc-1 e à inibição da transcrição viral.

INIBIDORES DE BROMODOMÍNIOS

A família de proteínas contendo Bromodomínios (BETs), são proteínas epigenéticas composta por um conjunto de proteínas denominadas Brd2, Brd3, Brd4, BRDT, Drosophila FSH, levedura BDF1,

que foram elucidadas em meio a decorrências de doenças hepatológicas malignas. A parada da enzima RNA polimerase II (RNA pol II), que regula a abertura e fechamento da dupla fita de DNA para formação de RNA mensageiro e consequente síntese

proteica, é regulada pelas BETs, sendo a sua principal reguladora e supressora a Brd4. Essa proteína auxilia a acetilação da cromatina e é essencial no crescimento celular e no controle de seu ciclo [19]. Ao longo dos anos cientistas se atentaram também para outra característica desta família, que seria a tentativa de reativar o vírus HIV-1 da latência, tendo como destaque as classe de drogas : JQ1, I-Bet, I-Bet 151 e MS417 [18].

Estudos mostram que a pouco tempo o Brd4 foi encontrado em vários complexos de transcrição, podendo citar o fator de alongamento b (P-TEFb), que é capaz de estimular a transcrição do DNA viral de um modo tat- independente, servindo como um alvo molecular para os inibidores de BET [20]. Interessantemente, recentes estudos mostram que a inibição das BETs proteínas ativam a clones latentes do vírus HIV-1, elucidando que as BETs estão envolvidas na repressão de formação de novas partículas virais e contribuem para a manutenção das células reservatórios de latência. Dentre todas as classes de drogas que interferem nas proteínas BETs, destacamos o inibidor JQ1 que ao ser associado com o

uso da terapia antirretroviral ativa, estimula a transcrição do vírus HIV-1 em modelos de infecção de células T in vitro, fazendo com haja uma possível varredura de células infectadas pelo sistema imunológico. O JQ1 também tem se mostrado um potente regulador e modificador dos genes da cromatina, reorganizando-a e induzindo a expressão da histona deacetilase (HDAC), além de promover a atividade da Tat, com consequente estimulação do ciclo de replicação do HIV-1 [21].

O Brd4 interage diretamente nas subunidade do P-TEFb, permitindo este fator de enlongamento competir com a Tat na enzima RNA polimerase II, regulando e pausando a mesma de entrar nos mecanismos moleculares de replicação celular. O inibidor JQ1 entra nessa disputa estimulando a desassociação da atividade entre o Brd4 com o co-fator P-TEFb, permitindo o livre acesso da proteína Tat do HIV-1 para se ligar e ativar a RNA pol II. Com o livre acesso da proteína viral Tat viral, a célula entra em mecanismo de transcrição celular e a com concomitante ativação da transcrição desencadeando a saída de latência do HIV-1 [22].

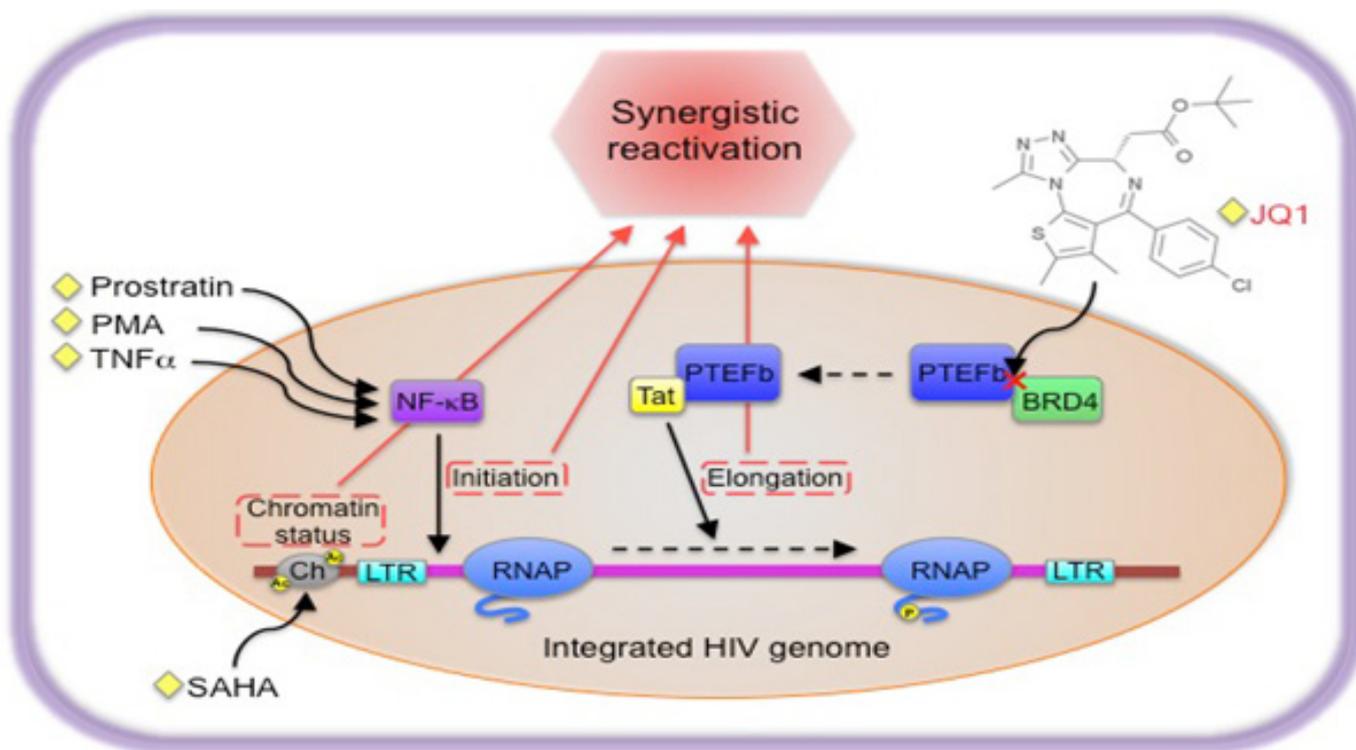


Figura 2: Organização da cromatina na região LTR do HIV no local de replicação e ativação do HIV e no local de latência do HIV. Nas células T CD4 + ativadas, as histonas acetiltransferases (HATs) hiperacetilam o nuc-1, resultando em remodelação da estrutura da cromatina. Isso permite o recrutamento de Tat para o elemento de resposta de transativação (TAR), assim como fatores de transcrição relevantes e a RNA polimerase II (RNA Pol II), permitindo uma transcrição viral eficiente. Na latência do HIV, o recrutamento de Histonas desacetilases (HDACs) leva a uma redução na acetilação do nuc-1 e à inibição da transcrição viral.

A proteína quinase C refere-se a um grupo de enzimas que estão associadas a eventos de transdução de sinalização, por dependerem de sinais como aumento da concentração de diacilglicerol e íons de cálcio para serem ativadas [23].

Os agonistas da proteína quinase c (PKC) podem ser uma linha de estudo promissora para erradicação do vírus HIV-1, pela sua ampla capacidade de induzir sua replicação em monócitos, macrófagos e linfócitos T, os ativadores da PKC tem a capacidade de ativar o fator nuclear kappa B (NF-Kb) induzindo assim a replicação viral [24].

A fosforilação e inativação da proteína IKb é um dos mecanismos proposto para regulação do HIV-1 por PKC. Alguns estudos evidenciaram que o mitogénio Phorbol-12-miristato-13-acetato (PMA) ou fito-hemaglutinina (PHA) tem a capacidade de estimular a expressão do HIV em células T envolvidas na ativação do Long Terminal Repeats (LTR) por meio da sinalização PKC-NF-kB. Os medicamentos mais estudados como antagonistas da proteína quinase são a prostatina e a briostatina [25].

A prostatina é um ativador de PKC que vem sendo estudado pela capacidade de induzir a replicação do vírus latente, porém por ser uma droga muito tóxica há uma limitação do seu uso terapêutico [26].

A briostatina 1 é um potente ativador de PKC, pertence a um grupo de macrolídeos de lactona e tem a capacidade de regular negativamente a expressão do receptor CD4 e do có-receptor CXCR4 do vírus HIV-1 impedindo assim a infecção das células TCD4 [27].

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Tendo em vista os aspectos observados conclui-se que o desenvolvimento de novas drogas a fim de purgar os reservatórios latentes do HIV ainda apresenta enormes desafios dos pesquisadores e da ciência por ser um mecanismo complexo necessita ainda de estudos e testes mais aprofundados, porém os fármacos epigenéticos vêm se mostrando uma linha confiável e promissora na busca da erradicação do vírus HIV, visto que já se tem medicamentos que tem por alvo o epigenoma aprovados pela FDA para uso em doenças oncológicas, a busca de novos fármacos para erradicação do vírus vem avançando cada vez mais com o passar do tempo, mais ainda não se tem uma confirmação concreta de que esses medicamentos podem trazer a cura definitiva aos pacientes portadores do vírus.

[1] FERREIRA, Paula Darliny S.; DEL SARTO, Rafael Perseghini //TRATAMENTOS EXPERIMENTAIS NA BUSCA DA CURA DA AIDS- Artigo Científico- 3º Congresso de Iniciação Científica do Centro Universitário do Distrito Federal- UDF, 2013- Vol. 01.

[2] GIR, Eucir; VAICHULONIS, Carla Gisele; OLIVEIRA, Marcela Dias - ADESÃO A TERAPÊUTICA ANTI-RETROVIRAL POR INDIVÍDUOS COM HIV/AIDS ASSISTIDOS EM UMA INSTITUIÇÃO DO INTERIOR PAULISTA- Artigo acadêmico- Interior Paulista- 2005.

[3] ANAYA, Eliuth David Arcia; GUARÍN, Carlos Julio Montoya; LÓPEZ, María Teresa -RESERVÓRIOS DEL VIRUS DE INMUNODEFICIENCIA HUMANA TIPO 1 (VIH-1): MECANISMOS DE LATENCIA Y ESTRATEGIAS TERAPÉUTICAS- Artigo Académico- USA- 2012.

[4] LIMA, Mariana Leão; JANINI, Luiz Mário Ramos; SANTOS, Lucilene Delazari - EPIGENÉTICA E HIV-1: A PARTICIPAÇÃO DAS HISTONAS NA INFECÇÃO E NO TRATAMENTO- Artigo acadêmico// São Paulo: Tendências em HIV/AIDS, 2010 -Vol. 5.

[5] TIPPING, PETER G.- TOLL-LIKE RECEPTORS: THE INTERFACE BETWEEN INNATE AND ADAPTATIVE IMMUNITY- Artigo acadêmico-American-2006

[6] IMUNOLOGIA CELULAR E MOLECULAR- ABUL K. ABBAS; ANDREW H. LICHTMAN, SHIV PILLAI - 279 e 288

[7] HERNÁNDEZ, JUAN CARLOS; MONTOYA, CARLOS JULIO; INCHIMA-URCUQUI, SILVIO- PAPEL DE LOS RECEPTORES TIPO TOLL EM LAS INFECCIONES VIRALES-COLOMBIA-2007.

[8] MAISONNEUVE, CHARLES; BERTHOLET, SYLVIE; PHILPOTT, DANA J.; GREGORIO, ENNIO- UNLEASHING THE POTENTIAL OF NOD- AND TOLL LIKE AGONISTS AS VACCINE ADJUVANTS-USA- 2014.

[9]

[10] ARCHIN, NANCIE M.; ESPESETH, AMY; PARKER, DANIEL; CHEEMA, MANZOOR; HAZUDA, DARIA; MARGOLIS, DAVID M.- EXPRESSION OF LATENT HIV INDUCED BY THE POTENT HDAC INHIBITOR SUBEROYLANILIDE HYDROXAMIC ACID-PEN-

NSYLVANIA-2009.

[11]PILI, ROBERTO; ELLIS, LEIGH- HISTONE DEACETYLASE INHIBITORS:ADVANCING THERAPEUTIC STRATEGIES IN HEMATOLOGICAL AND SOLID MALIGNANCIES-USA-2010

[13]MANN, BHUPINDER S.; JHONSON, JHON R.; COHEN, MARTIN H.; JUSTICE, ROBERT; PAZDUR, RICHARD- FDA APPROVAL SUMMARY: VORINOSTAT FOR TREATMENT OF ADVANCED PRIMARY CUTANEOUS T-CELL LYMPHOMA-USA-2007.

[14] KE, RUIAN; LEWIN, SHARON R.; ELLIOTT, JULIAN H.; PERELSON, ALANS.- MODELING THE EFFECTS OF VORINOSTAT IN VIVO REVEALS BOTH TRASIENT AND DEL. AYED HIV TRANSCRIPTIONAL ACTIVATION AND MINIMAL KILLING OF LATENTLY INFECTED CELLS- 2015.

[15,16] SHIRAKAWA, KOTARO; CHAVEZ, LEONARD; HAKRE, SHWETA; CALVANESE, VINCENZO; VERDIN, ERIC- REACTIVATION OF LATENT HIV BY HISTONE DEACETYLASE INHIBITORS- SAN FRANCISCO-2013.

ARCHIN, N. M.; LIBERTY, A. L.; KASHUBA, A. D.; CHOUDHARY, S. K.; KURUC, J. D. ; CROOKS, A. M., et al- ADMINISTRATION OF VORINOSTAT DRIRUPTS HIV-1 LATENCY IN PATIENTS ON ANTIRETROVIRAL THERAPY-USA- 2012.

[18] BOEHM, Daniela; CALVANESE, Vincenzo; DAR, Roy D.; XING, Sifei; SCHROEDER, Sebastian, MARTINS, Laura; AULL, Katherine; LI, Pao- Chen, PLANELLES, Vicente; BRADNER, James E.; ZHOU, Ming-Ming; SILICIANO, Robert F., WEIBERGER, Leor; VERDIN, ERIC – BET BROMODOMAIN-TARGETING COMPOUNDS REACTIVATE HIV FROM LATENCY VIA A TAT-INDEPENDENT MECHANISM Artigo acadêmico- USA- 2013.

[19] MING CHIANG, SHWU-YUAN WU AND CHENG- THE DOUBLE BROMODOMAIN CONTAINING CHROMATIN ADAPTOR BRD4 AND TRANSCRIPTIONAL REGULATION- CLEVELAND-2007

[20] BISGROVE, DWAYNE A.; MAHMOUDI, TOKAMEH; HENKLEIN, PETER; VERDIN, ERIC- CONSERVED P-TEFb- INTERACTING DOMAIN OF BRD4 INHIBITS HIV TRANSCRIPTION- SAN FRANCISCO- 2007.

[21] BANERJEE, CAMELLIA; ARCHIN, NANCIE; MICHAELS, DANIEL; BELKINA, ANNA C.; DENIS, GERALD V.; BRADNER, JAMES; SEBASTIANI, PAOLA; MARGOLIS, DAVID M.; MONTANO, MONTY- BET BROMODOMAIN INHIBITION AS A NOVEL STRATEGY FOR REACTIVATION OF HIV-1- USA- 2012

[22]LI, ZICHONG; GUO, JIA; WU, YUNTAO, ZHOU, QIANG- THE BET BROMODOMAIN INHIBITOR JQ1 ACTIVATES HIV LATENCY THROUH ANTAGONIZING BRD4 INHIBITION OF TAT- TRANSACTIVATION-USA-2012

[23, 24] ANAYAL, ELIUTH DAVID ARCIA; GUARIN, CARLOS JUNIO; LÓPEZ, MARIA TERESA RUHELES- RESERVATORIOS DEL VIRUS DE INMUNODEFICIENCIA HUMANA TIPO 1 (VIH-1): MECANISMOS DE LATENCIA Y ESTRATEGIAS TERÁPEUTICAS-COLOMBIA- 2013

[25] DANDEKAR, SATYA; JIANG, GUOCHUN- TARGETIN NF-Kb SIGNALING WITH PROTEIN KINASE C AGONISTS AS NA EMERGING STRATEGY FOR COMBATING HIV LATENCY- CALIFORNIA-2015

[26] ANAYAL, ELIUTH DAVID ARCIA; GUARIN, CARLOS JUNIO; LÓPEZ, MARIA TERESA RUHELES- RESERVATORIOS DEL VIRUS DE INMUNODEFICIENCIA HUMANA TIPO 1 (VIH-1): MECANISMOS DE LATENCIA Y ESTRATEGIAS TERÁPEUTICAS-COLOMBIA- 2013

[27] MEHLA, RAJEEV; BIVALKAR, SHALMALI; ZHANG, RUONAN; HANDY, INDHIRA; ALBRECHT, HELMUT; GIRI, CHAILENDRA; NAGARKATTI, PRAKASH; NAGARKATTI, MITZI; CHAUHAN, ASHOK- BRYOSTATIN MODULATES LATENT HIV-1 INFECTION VIA PKC AND AMPK SIGNALIG BUT INHIBTS ACUTE INFECTION IN A RECEPTOR INDEPENDENT MANNER- 2010.