

Esperança contra o zika

Em testes iniciais, formulações imunizantes e medicamentos contra outras enfermidades protegeram células e camundongos do vírus

Ricardo Zorzetto

Depois que pesquisadores da Bahia confirmaram a presença do zika no Nordeste há um ano, o vírus avançou para quase todo o país. Pegos de surpresa, os pesquisadores e autoridades de saúde tiveram de se mobilizar e direcionar esforços para conhecer o vírus e buscar formas de detê-lo. Os primeiros resultados começam a aparecer e são promissores.

Ao longo de junho, vieram a público resultados de estudos importantes que ajudam a compreender as reações que o vírus desperta no sistema de defesa em uma situação de especial interesse para a população brasileira: os casos em que o zika infecta pessoas que já entraram em contato com alguma das quatro variedades do vírus da dengue (90% das pessoas já tiveram dengue em certas áreas do Nordeste). Publicado na revista *Nature Immunology* por pesquisadores da Inglaterra, da França, da Polinésia e da Tailândia, esse trabalho confirma que os anticorpos que protegem da dengue também atuam contra o vírus zika – é o que os imunologistas chamam de reação cruzada –, mas não são capazes de neutralizá-lo completamente. O que se

verificou para o zika em relação aos anticorpos contra a dengue também pode ocorrer com a dengue em relação aos anticorpos antizika.

Essa imunização parcial, sugerem os pesquisadores, poderia ocorrer porque os anticorpos produzidos contra um vírus não existiriam em número suficiente ou não seriam eficientes o bastante contra o outro vírus. O mais complicado é que, segundo uma hipótese chamada incremento dependente de anticorpos (ADE, em inglês), a imunização incompleta parece facilitar a entrada do vírus nas células em que ele se reproduz, aumentando, assim, o número de cópias no organismo e a gravidade da infecção. Esses dados, corroborados dias mais tarde por outro trabalho apresentado na revista *Proceedings of the National Academy of Sciences (PNAS)*, podem ajudar a explicar a gravidade dos casos de zika no Brasil e influenciar o desenvolvimento de vacinas, já que vacinar uma população contra apenas uma das enfermidades poderia levar a casos mais graves da outra.

Também há notícias animadoras. No final do mês surgiram indícios de que é possível conter o vírus por meio de me-

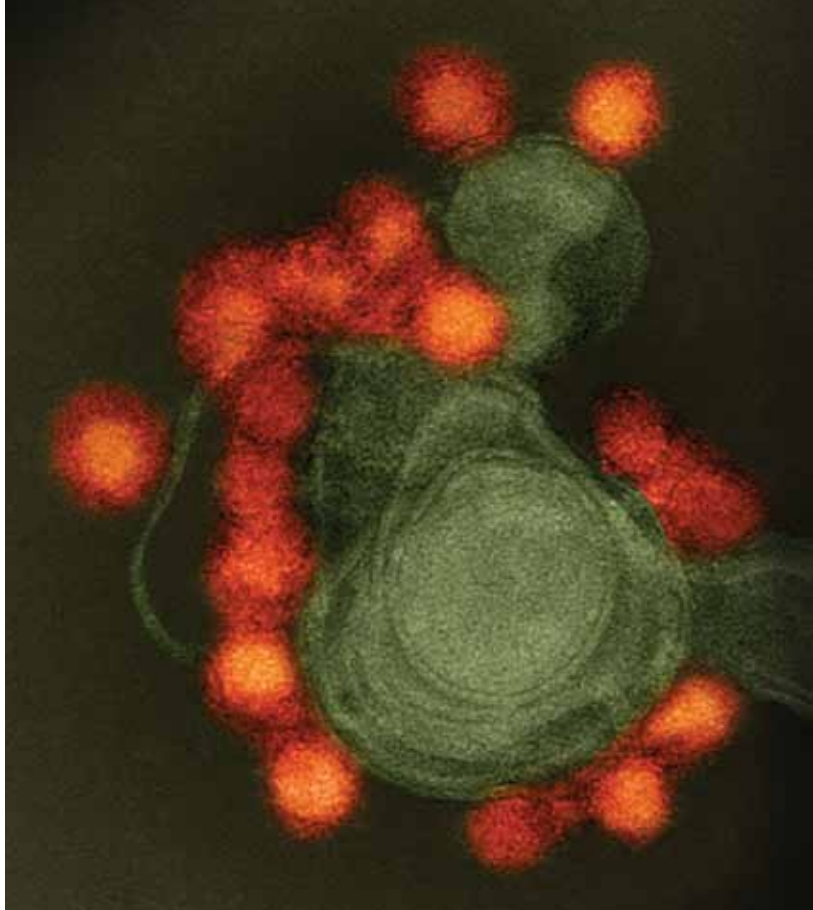


Invasão em curso:
exemplares do
vírus zika (rosa)
interagem com
receptores (verde)
de uma célula

dicamentos em uso há bastante tempo ou até mesmo por meio de uma vacina, o que seria mais desejável do ponto de vista da saúde pública, por seu caráter preventivo. O neurologista Arnold Kriegstein e sua equipe na Universidade da Califórnia em São Francisco investigaram como o zika penetra em células da placenta e do tecido cerebral e observaram que a azitromicina, um antibiótico produzido no início dos anos 1980 e amplamente usado contra uma série de infecções, inclusive por gestantes, impediu a proliferação do vírus e evitou danos celulares nos testes em laboratório. Esses dados se somam ao do trabalho coordenado pelo virologista Amílcar Tanuri na Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ). Tanuri e sua equipe já haviam observado que um dos compostos mais usados para combater a malária, a cloroquina, descoberta em 1934, também era capaz de conter o zika em experimentos feitos com células.

Na última semana de junho pesquisadores do Brasil e dos Estados Unidos deram o primeiro passo efetivo para demonstrar que é possível produzir uma vacina contra o zika, ainda que seu desenvolvimento demore algum tempo. No Centro de Virologia e Pesquisa em Vacina (CVVR) da Escola Médica Harvard, nos Estados Unidos, duas formulações candidatas a vacina passaram com sucesso pelos primeiros testes com animais de laboratório. Cada uma delas, aplicada em dose única, protegeu os camundongos da infecção por zika, relataram os pesquisadores em artigo publicado em 28 de junho na revista *Nature*. Nos experimentos com roedores, os dois candidatos a vacina se mostram efetivos tanto contra a variedade do vírus em circulação no Brasil como contra a linhagem encontrada em Porto Rico, no Caribe.

“Mostramos que é possível produzir uma vacina antizika”, conta o imunologista brasileiro Rafael Larocca, primeiro autor, ao lado do colega Peter Abbink, do estudo desenvolvido no CVVR. “Os re-



sultados são fortes e convincentes, mas temos de ser cautelosos e aguardar a realização de mais testes com animais e dos ensaios com seres humanos”, pondera. “Até onde se sabe, essa é a primeira demonstração em modelo animal de proteção contra o zika por meio de vacina”, afirma o médico norte-americano Dan Barouch, coordenador do laboratório em que Larocca trabalha e diretor do CVVR.

Nos experimentos, os pesquisadores trabalharam com duas classes de vacina. Uma delas é uma formulação contendo cópias do vírus quimicamente inativadas. Ela foi desenvolvida pelo Instituto de Pesquisa Walter Reed, do Exército norte-americano, que usou o zika circulante em Porto Rico. No CVVR, Larocca e Abbink adotaram outra estratégia. Eles analisaram o genoma do vírus e produziram uma cópia sintética do trecho contendo a sequência do complexo proteico que recobre externamente o zika: a proteína pré-membrana (prM) e a proteína do envelope (E), a partir das quais as células de defesa identificam o vírus. No primeiro contato do vírus com o organismo, um tipo especial de célula de defesa – as células apresentadoras de antígenos – detecta essas proteínas, as processa e exhibe partes delas para os linfócitos B, produtores dos anticorpos

Em testes com camundongos, a vacina de DNA e a feita com vírus inativo detiveram o zika do Brasil e de Porto Rico

que neutralizam o vírus quando o organismo volta a ser exposto a ele.

Os pesquisadores transferiram esse gene sintético para bactérias e deixaram que elas atuassem como máquinas copadoras, produzindo um número elevado de réplicas usadas depois para imunizar os camundongos – essas cópias são o que os pesquisadores chamam de vacina de DNA. “Criamos seis formulações da vacina de DNA, mas apenas uma, aquela em que expressou o complexo proteico

completo, funcionou”, conta Larocca, que fez mestrado e doutorado na Universidade de São Paulo (USP) com apoio da FAPESP. Ele foi orientado, respectivamente, pelos imunologistas Luis Vicente Rizzo e Niels Olsen Saraiva Câmara e desde 2012 trabalha no CVVR.

Larocca e seus colaboradores usaram separadamente as duas formulações para imunizar os camundongos e, dias depois, injetaram nos animais o zika brasileiro ou o zika porto-riquenho para verificar se as vacinas ofereciam proteção. Nenhum roedor imunizado desenvolveu sinais de infecção nem apresentou quantidades detectáveis de vírus no sangue, enquanto o zika se proliferou em abundância nos camundongos não vacinados.

MECANISMO DE AÇÃO

Uma bateria de testes posterior ajudou a identificar o que parece ser a principal forma de proteção contra o zika. Larocca e Abbink coletaram amostras de sangue dos animais vacinados, extraíram os anticorpos específicos contra o vírus e transferiram apenas esses anticorpos para camundongos que não haviam sido imunizados. Ao injetar o zika do Brasil ou o de Porto Rico nesses animais, os pesquisadores verificaram que os roedores não foram infectados.

“Esse experimento mostra que os anticorpos produzidos contra o vírus são suficientes para proteger da infecção”, explica o neuroimunologista Jean Pierre Peron, da USP, que, ao lado do virologista Paolo Zanotto, é coautor do estudo da *Nature* e integrante da Rede Zika, o consórcio de pesquisadores de São Paulo que investigam o vírus com apoio da FAPESP. “Isso não elimina a possibilidade de que uma formulação capaz de produzir imunidade funcione também por outra via, estimulando células de defesa, chamadas linfócitos T, a produzirem compostos que dificultem a replicação do vírus.” Experimentos feitos por outras equipes já sugeriram que a produção de uma molécula sinalizadora chamada interferon dificulta a multiplicação do zika.

“Tínhamos alguma indicação de que uma vacina poderia produzir imunidade contra o zika”, diz o biólogo Paulo Lee Ho, diretor da Divisão de Desenvolvimento Tecnológico e Produção do Instituto Butantan, que trabalha, com financiamento do governo norte-ame-



Ao lado, cópias do zika (vermelho) isoladas de criança do Ceará; acima, meio de cultura em que exemplares do vírus se multiplicam em células de macaco

ricano, no desenvolvimento de um candidato a imunizante contra zika usando o vírus inativado. Na USP de Ribeirão Preto, o imunologista Benedito Fonseca e sua equipe já haviam realizado uma versão mais simples do experimento. Eles extraíram o soro de roedores imunizados com vírus inativado e adicionaram a células cultivadas em laboratório. Os resultados dos testes ainda não foram publicados, mas indicam que o zika não conseguiu infectar as células tratadas com soro. “O estudo da *Nature* é importante porque mostra que não é necessária uma resposta imunológica tão complexa para proteger contra o vírus e nos dá dicas de como superar algumas barreiras que estávamos encontrando para inativá-lo”, diz Ho.

“Esse trabalho é relevante e mostra que o desenvolvimento de uma vacina contra zika é tecnicamente viável”, afirma o veterinário Marcos da Silva Freire, vice-diretor de Desenvolvimento Tecnológico do Instituto de Tecnologia em Imunobiológicos da Fundação Oswaldo

Cruz (Fiocruz), no Rio de Janeiro. “Mas, como os próprios autores mencionam, é difícil extrapolar os resultados dos testes com camundongos para uma potencial eficácia clínica em humanos.”

Freire também trabalha no desenvolvimento de uma vacina e aposta em duas abordagens: uma com vírus inativado e outra com vírus vivo recombinante que usa o vírus da febre amarela para expressar as proteínas do zika. Ambos devem começar a ser testados em animais em setembro. Ele lembra que ainda há muitas dúvidas a serem respondidas antes que se consiga chegar a uma vacina segura e eficaz e que não é desejável criar uma falsa percepção de proteção, principalmente entre as mulheres em idade reprodutiva. “Ainda não sabemos se as formulações testadas no estudo da *Nature* seriam seguras para serem aplicadas em adultos e crianças, principalmente em mulheres em idade fértil e grávidas, nem qual o tempo de proteção que oferecem ou se há necessidade de doses de reforço”, diz Freire. “Essas questões só serão verificadas nos estudos clínicos.”

Outra questão em aberto, reforçada por causa da reação cruzada entre anticorpos contra dengue e anticorpos contra zika, é se o desenvolvimento de uma vacina contra apenas uma das enfermi-

dades não agravaria a outra. “Será que uma vacina contra zika não aumentaria o número de casos de dengue e a gravidade deles e vice-versa?”, pergunta Ho, do Butantan. Talvez, completa o pesquisador, a saída seja uma vacina pentavalente, que proteja contra os quatro sorotipos do vírus da dengue e contra o zika, como a que o Butantan tenta desenvolver em colaboração com os Institutos Nacionais de Saúde dos Estados Unidos.

A busca por uma vacina contra o zika tornou-se prioridade mundial de saúde após surgirem evidências de que o vírus infecta o feto de gestantes e causa microcefalia. De outubro de 2015 a 18 de junho, o Ministério da Saúde registrou no Brasil 8.039 casos suspeitos de microcefalia, dos quais 1.616 foram confirmados (233 com resultado positivo para infecção por zika). Enquanto os grupos brasileiros trabalham para obter formulações diferentes e desenvolver, em escala industrial, estratégias de produção de vacinas seguras para o uso em humanos, os experimentos seguem em Harvard.

Larocca e seus colegas já usaram as duas formulações para imunizar macacos e aguardam os resultados para os próximos meses. Em parceria com o grupo de Jean Pierre Peron, da USP, eles devem começar em breve os testes de imunização de fêmeas de camundongo prenhes, a fim de verificar se as formulações realmente protegem contra a microcefalia. “Nossos resultados nos deixam otimistas de que o desenvolvimento de uma vacina segura e eficaz para seres humanos contra o vírus zika provavelmente será bem-sucedida”, conta Dan Barouch, da CVVR. “Os ensaios clínicos devem começar o mais rápido possível.” ■

Projetos

1. O papel do eixo triptofano-kinureninas na regulação da resposta imune através de receptores de glutamato tipo NMDA na encefalomielite experimental autoimune e na lesão por isquemia e reperfusão cerebral (nº 2011/18703-2); **Modalidade** Programa Jovens Pesquisadores; **Pesquisador responsável** Jean Pierre Schatzmann Peron (ICB-USP); **Investimento** R\$ 1.077.384,82.
2. Abordagem sistêmica no estudo da permissividade do *Anticarsia gemmatalis* múltiplo nucleopoliedrovírus (AgMNPV) (nº 2014/17766-9); **Modalidade** Auxílio à Pesquisa – Regular; **Pesquisador responsável** Paolo Marinho Zanotto (ICB-USP); **Investimento** R\$ 500.009,45.

Artigos científicos

- LAROCCA, R. A. *et al.* Vaccine protection against Zika virus from Brazil. *Nature*. 28 jun. 2016.
- DEJNIRATTISAI, W. *et al.* Dengue virus sero-cross-reactivity drives antibody-dependent enhancement of infection with zika virus. *Nature Immunology*. 23 jun. 2016.



As Olimpíadas e o risco de exportar doenças

Probabilidade de turista se infectar com dengue ou zika é baixa, mas críticos veem irresponsabilidade na realização do evento

Já era de esperar que o assunto seria lembrado. Com a aproximação dos Jogos Olímpicos e o auge da epidemia de zika no país – de janeiro ao início de maio houve 138 mil casos, 27,5% no estado do Rio de Janeiro –, seria natural que surgissem questionamentos sobre os riscos para a saúde dos 10 mil atletas e 500 mil turistas aguardados para o evento. E surgiram.

Em fevereiro, dois professores da Universidade de Nova York (NYU), Lee Igel, especialista em fisiologia do esporte, e Arthur Caplan, chefe da divisão de bioética da escola médica da universidade, escreveram um artigo de opinião para a revista *Forbes* sugerindo que os jogos deveriam ser cancelados, adiados ou transferidos de local. Eles apontavam mazelas sociais e econômicas do Rio e do país e afirmavam que não seria seguro ir à Olimpíada em meio à epidemia de zika.

Na época, a epidemia atingia o ápice. Segundo dados do Ministério da Saúde, em fevereiro houve 53 mil casos de zika e o estado do Rio apresentava um dos índices mais altos de incidência da infecção. Em seguida, a epidemia arrefeceu.

Em maio, Igel e Caplan se uniram ao biólogo e advogado Amir Attaran, da Universidade de Ottawa, no Canadá, e ao historiador e geógrafo Christopher

Gaffney, da Universidade de Zurique, na Suíça, e encaminharam uma carta aberta à diretora-geral da Organização Mundial da Saúde (OMS), Margaret Chan. Quase 230 pesquisadores de vários países subcreveram o documento, que recomendava o adiamento ou a mudança de local dos Jogos Olímpicos e Paralímpicos.

Além da preocupação com a saúde dos atletas, os autores manifestavam receio com a disseminação do vírus brasileiro, mais agressivo, para outros países. Mesmo sabendo que os jogos ocorrerão no inverno, o período de mais baixa atividade do mosquito transmissor do zika, Attaran e seus colegas argumentavam que existia o risco de visitantes serem infectados e retornarem a seus países com o zika brasileiro, o que seria um problema em países do hemisfério Norte, onde será verão. Eles concluem a carta dizendo que não revisar a posição sobre os jogos era uma “atitude irresponsável”.

O documento provocou a reação de autoridades da saúde nacionais e internacionais. Na Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz) do Rio de Janeiro, a equipe da epidemiologista Claudia Codeço preparou um artigo em resposta a Attaran e seu grupo. No trabalho, publicado na edição de junho da revista *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, os pesquisadores

reavaliaram estudos sobre a dinâmica de doenças transmitidas por mosquitos, em especial a dengue, e ratificaram a posição da OMS de que o risco de disseminação da zika seria baixo e não justificaria alterar a data ou lugar do evento. Em agosto o tempo no Rio é seco e a temperatura fica entre 19 e 26 graus Celsius – com a mínima inferior a 22 graus, cai muito a capacidade do mosquito *Aedes aegypti* de transmitir dengue. Além disso, lembram os pesquisadores, testes em laboratório mostraram que o *Aedes* transmite o vírus da febre zika com menos eficiência que o da dengue.

“O mosquito continua existindo, mas a quantidade diminui porque muda a dinâmica natural e a taxa de reprodução”, explica o físico Marcelo Gomes, da Fiocruz, coautor do artigo e especialista em modelos computacionais de propagação de mosquitos. Os dados disponíveis sobre zika, conta Gomes, indicam que o número de casos está em queda na capital fluminense. “Baixaram de 2.100 na terceira semana de fevereiro para 208 na primeira semana de maio”, afirma. “Essa redução sustentada é condizente com a dinâmica observada para a dengue.”

Tão logo souberam da carta de Attaran, o médico e epidemiologista Eduardo Massad e o físico Francisco Bezerra Cou-



Rio 2016: inverno seco e temperaturas baixas devem reduzir a transmissão de dengue e zika

tinho, ambos professores da Universidade de São Paulo (USP) e especialistas em modelos matemáticos que simulam a disseminação de doenças, prepararam uma resposta. Com Annelies Wilder-Smith, professora de infectologia na Universidade Tecnológica Nanyang, em Cingapura, eles escreveram uma carta, publicada em junho na revista *Lancet*, na qual argumentam que o risco individual de um visitante ser infectado com o vírus zika nas três semanas das Olimpíadas é muito baixo.

APENAS 15 CASOS

Se os 500 mil turistas esperados realmente forem ao Rio, é provável que apenas 15 peguem zika e só três manifestem seus sintomas, segundo as projeções feitas por Massad, Coutinho e outros dois colaboradores, o médico Marcelo Burattini e o físico Raphael Ximenes, e apresentadas na carta da *Lancet*. Já o risco de ter dengue é 17 vezes maior. Se os cálculos se confirmarem, cerca de 250 visitantes devem ser infectados pelo vírus e 50 devem apresentar sinais de dengue. Massad é um dos pesquisadores principais da Zika Plan, rede europeia de investigação do vírus zika, e já havia

calculado o risco de os turistas pegarem dengue durante a Copa de 2014. Ele e seu grupo chegaram aos números sobre zika levando em consideração a estimativa de casos que já houve no país (cerca de 1,5 milhão), a dinâmica da dengue no Rio nos anos de epidemia mais grave e o que já se conhece sobre o comportamento do *Aedes aegypti*, transmissor dos vírus das duas enfermidades. “O risco individual de pegar zika é muito baixo, mas cada pessoa deve decidir por si mesma se vai aos jogos”, afirma Coutinho. “Os atletas devem se proteger e usar repelente, porque o preço de adoecer seria muito alto.”

“Não há razão de saúde pública para cancelar ou adiar as Olimpíadas”, disse Tom Frieden, diretor do Centro e Controle de Prevenção de Doenças (CDC) dos Estados Unidos, à imprensa. A visita de 500 mil turistas ao Rio representaria apenas 0,25% dos 200 milhões de viagens internacionais que rotineiramente acontecem para regiões com zika e contribuiria pouco para disseminar o vírus brasileiro para outros países, concluíram epidemiologistas norte-americanos.

Esses argumentos não mudaram a opinião de Attaran e seus colegas. Em um memorando enviado por e-mail à *Pesquisa FAPESP*, e, segundo Attaran, também à OMS, o grupo rebate todos os

argumentos de que os riscos são baixos, diz que os resultados dos modelos não são confiáveis porque há poucos dados precisos sobre zika e estimam que a participação no evento contribua para o surgimento de até 10 novos focos de transmissão em outros países. “Os jogos não serão adiados ou cancelados, mas isso é um infortúnio, uma vez que poderiam ser realizados em outro momento, com menos perigo, medo e desorganização”, disse Caplan. Em um ponto, todas as vertentes do debate concordam: mulheres grávidas ou que querem engravidar não devem ir ao Rio. Se os seus companheiros forem, durante seis meses elas devem fazer sexo usando proteção. ■

Projeto

Risco de dengue para turistas no Brasil na Copa do Mundo FIFA 2014 e nos Jogos Olímpicos Rio 2016, utilizando modelagem matemática (nº 2012/18463-4); Modalidade Doutorado direto; Beneficiário Raphael Ximenes; Pesquisador responsável Eduardo Massad (FM-USP); Investimento R\$ 116.689,66.

Artigos científicos

MASSAD, E.; COUTINHO, F. A.; WILDER-SMITH, A. Is Zika a substantial risk for visitors to the Rio de Janeiro Olympic Games? *Lancet*. 17 jun. 2016.

CODEÇO, C. et al. Zika is not a reason for missing the Olympic Games in Rio de Janeiro: Response to the open letter of Dr Attaran and colleagues to Dr Margaret Chan, Director-general, WHO, on the Zika threat to the Olympic and Paralympic Games. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, jun. 2016.