



A LONGA BUSCA DE UMA CURA

Microscopia eletrônica de linfócito T CD4, responsável por ativar outras células de defesa, infectado pelo HIV (esferas verdes)

Tratamento experimental que combina o uso de medicamentos com uma vacina personalizada permitiu controlar o HIV por seis meses após suspensão dos antirretrovirais

Ricardo Zorzetto

Em São Paulo, dois homens portadores do HIV – um de 24 anos e outro de 49 – conseguiram controlar espontaneamente o vírus após a interrupção do uso de medicamentos antirretrovirais. Eles integravam um grupo de cinco pessoas que receberam um tratamento experimental concebido pela equipe do virologista Ricardo Sobhie Diaz, da Universidade Federal de São Paulo (Unifesp). Perspicaz e inovadora, a terapia foi avaliada em um ensaio clínico inicial, concluído em meados de 2020 e realizado com financiamento da FAPESP e do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq). Os resultados preliminares estão em um artigo publicado na revista *Aids Research and Therapy* em janeiro deste ano. “Quando surgiram os primeiros sinais de que o vírus poderia voltar a se reproduzir no organismo desses dois pacientes, possivelmente porque alguns reservatórios virais tenham restado intactos, retomamos preventivamente o uso do coquetel antirretroviral”, conta Diaz. “Alguns pesquisadores acharam que poderíamos ter aguardado mais tempo para verificar se o vírus realmente voltaria a se reproduzir. Decidimos não arriscar”, explica o virologista.

Ainda distante de se tornar disponível para uso clínico, essa estratégia terapêutica tem dois objetivos: reduzir a quantidade de HIV no organismo ao menor nível possível e, com o auxílio de uma vacina, ensinar as células do sistema de defesa a encontrar os vírus remanescentes, em geral ocultos em esconderijos, e destruí-los. Assim, espera-se chegar ao que alguns especialistas vêm chamando de cura funcional da infecção: o controle da replicação do HIV sem a necessidade de medicamentos antirretrovirais, algo impensável nas primeiras décadas da pandemia de Aids, que matou 36,3 milhões de pessoas no mundo desde o início dos anos 1980. Até hoje apenas três casos de cura total são reconhecidos, obtidos por meio de um tratamento bem mais agressivo. Eram indivíduos com câncer hematológico que passaram por quimioterapia e depois receberam

transplante de medula óssea. Se os efeitos obtidos pelo grupo da Unifesp se confirmarem em testes futuros, essa abordagem pode ser mais vantajosa que a anterior porque, em princípio, poderia ser usada para tratar qualquer portador de HIV, e não apenas aqueles com câncer.

A terapia proposta pela equipe de São Paulo envolve basicamente duas etapas. A primeira consiste no emprego de um coquetel reforçado com dois antirretrovirais – totalizando cinco ou seis medicamentos dessa categoria, em vez dos três ou quatro usuais – e visa controlar de forma mais rigorosa a replicação do vírus. É a parte mais simples da história, em geral já dominada pelos médicos que cuidam dos infectados pelo HIV.

Desde a identificação dos primeiros casos de Aids nos Estados Unidos, em 1981, pouco mais de 50 compostos já foram aprovados para combater o HIV. Eles interferem em estágios distintos da replicação do vírus, da entrada na célula à montagem de novas cópias, e costumam ser usados em combinações de dois, três e até quatro medicamentos (*ver box na página 52*). O uso adequado e contínuo dessas associações, os chamados coquetéis antirretrovirais, atualmente permite a cerca de 90% das pessoas em tratamento reduzir a concentração do vírus no organismo a níveis tão baixos – em geral, inferiores a 50 cópias por mililitro (mL) de sangue – que chegam a se tornar indetectáveis para alguns testes laboratoriais. Os indivíduos que alcançam essa condição podem permanecer saudáveis por décadas, sem transmitir o HIV para outras pessoas nem sofrer os danos ao sistema de defesa que caracterizam a síndrome da imunodeficiência adquirida (Aids). Isso, claro, desde que a terapia não seja interrompida.

A grande dificuldade está na segunda fase do tratamento. Muitos especialistas suspeitam que ainda não se tenha encontrado uma forma eficiente de aniquilar o agente causador da Aids porque uma pequena proporção de vírus (algo como uma cópia em cada 10 mil ou 100 mil) permanece oculta, em uma espécie de estado de dormência, no interior das células de defesa. Os alvos prediletos costumam ser os linfócitos T do

tipo CD4, considerados maestros do sistema imune por coordenarem a ação de outras células de defesa. Esses reservatórios virais surgem quando, após a invasão, o HIV consegue inserir seu material genético em trechos do DNA dos linfócitos que não são normalmente lidos pela maquinaria celular. Apelidadas de deserto genômico, essas regiões do DNA permanecem silenciosas a maior parte do tempo. Como o vírus não se multiplica, a célula não dá sinais de que está infectada e passa despercebida pelo sistema de defesa. Situações específicas, porém, podem reativar essas regiões do genoma e acionar a produção do HIV, que volta a se espalhar.

A segunda etapa de combate ao vírus consistiu justamente em tentar erradicar esses reservatórios. “Essa é uma estratégia muito relevante”, afirmou o bioquímico Carl Dieffenbach, diretor da Divisão de Aids dos Institutos Nacionais de Saúde (NIH) dos Estados Unidos, a *Pesquisa FAPESP*. “O conceito havia sido tentado antes, com sucesso limitado.

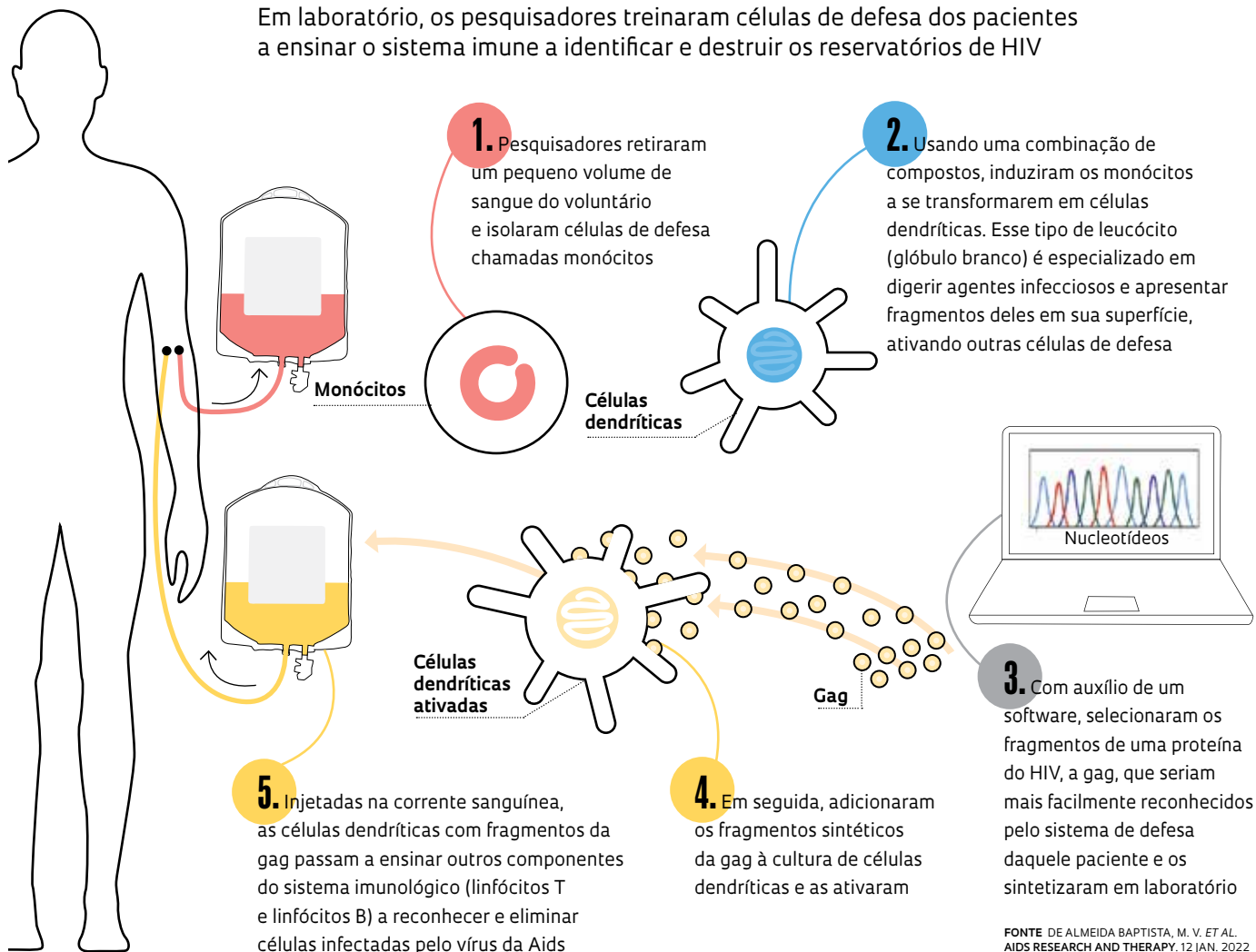
Os métodos agora são melhores e esse grupo está realizando um teste muito importante.”

Em parceria com pesquisadores da Universidade de São Paulo (USP), no Brasil, e do Instituto Superior de Saúde (ISS), na Itália, a equipe de Diaz planejou outras três ações contra as células infectadas. “Sabíamos que intervenções únicas não produziam bons resultados e decidimos somar as que mostravam maior potencial de reduzir os santuários virais”, afirma Diaz.

A primeira foi incluir no tratamento doses de nicotinamida, a vitamina B3. Os voluntários, homens com idades entre 18 e 60 anos atendidos no ambulatório da Unifesp, eram convidados para integrar o estudo depois de manter por seis meses a carga viral estável e inferior a 50 cópias por mL. Passavam então a receber doses da vitamina por 48 semanas, em paralelo ao coquetel antirretroviral reforçado. É que, para conseguir eliminar os vírus latentes, é preciso, primeiro, despertá-los de modo que se tornem aparentes para o sistema imune.

PASSO A PASSO DE UMA VACINA PERSONALIZADA

Em laboratório, os pesquisadores treinaram células de defesa dos pacientes a ensinar o sistema imune a identificar e destruir os reservatórios de HIV



FONTE: DE ALMEIDA BAPTISTA, M. V. ET AL. AIDS RESEARCH AND THERAPY. 12 JAN. 2022

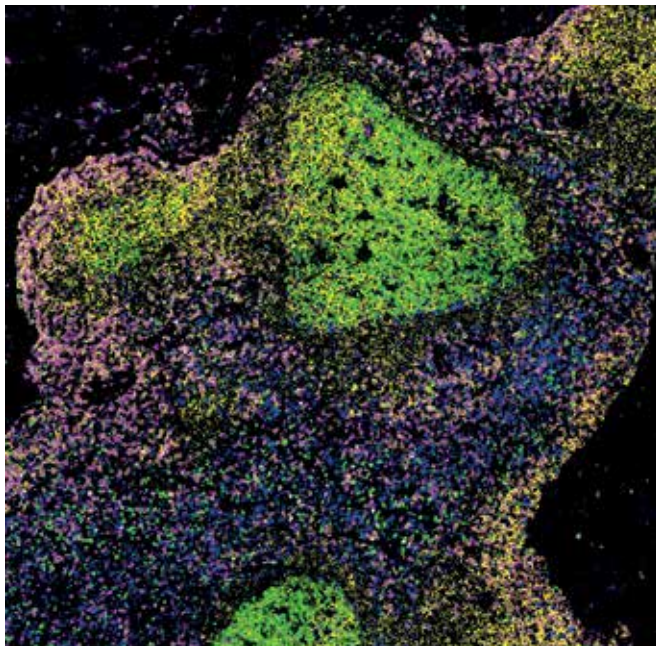
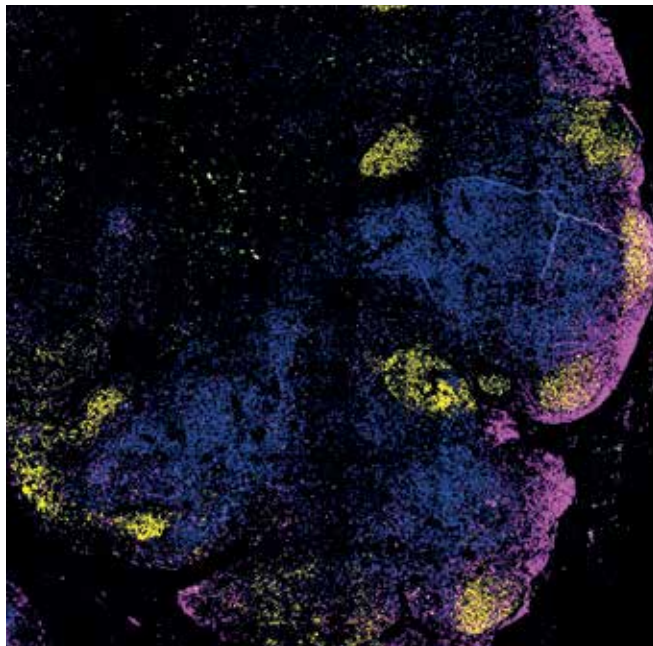


Imagem de linfonodo de pessoa com HIV (à esq.) e sem o vírus (à dir.): a infecção desorganiza a distribuição das células de defesa na estrutura do sistema imune



Em testes anteriores, a equipe de Diaz havia constatado que esse composto é um potente ativador do HIV em hibernação. No núcleo das células, a vitamina B3 bloqueia a ação da enzima histona deacetilase, que auxilia trechos da molécula de DNA a se enovelarem ao redor de proteínas e se tornarem silenciosos – esse empacotamento impede que a maquinaria celular os leia. Com a deacetilase fora de ação, o material genético permanece estendido, pronto para ser transcrito e gerar proteínas (inclusive as virais). Resultado: os linfócitos que antes funcionavam como esconderijo passam a produzir cópias do vírus e a atrair a atenção de outras células de defesa. Os imunologistas apelidaram essa estratégia de *shock and kill*, algo como perturbar e matar. “Esse ensaio clínico foi uma das primeiras tentativas de usar a abordagem *shock and kill* para tratar pessoas”, contou o imunologista italiano Andrea Savarino, do ISS, a *Pesquisa FAPESP*.

Para forçar a eliminação dos reservatórios, os pesquisadores acrescentaram doses de auranofina, um sal contendo ouro usado por anos no combate ao inchaço e à dor nas articulações causados pela artrite reumatoide. Em Roma, Savarino e sua equipe haviam observado que a auranofina eliminava de modo eficaz certos reservatórios do vírus, em especial os linfócitos T CD4 de memória. Administrado ao longo de 24 semanas, o sal de ouro induziu a morte dessas células, que, do contrário, poderiam viver por anos, preservando santuários de HIV dormente no organismo. “A auranofina elimina os linfócitos de memória, mas poupa os *naïve*, que nunca tiveram contato com

o vírus”, relata o virologista ítalo-albanês Iart Luca Shytaj, pesquisador visitante da Unifesp (com apoio da FAPESP) e participante do estudo.

O golpe final para tentar debelar os reservatórios também foi o mais sofisticado. Envolveu o desenvolvimento de uma vacina terapêutica individualizada, elaborada a partir de células de defesa saudáveis do próprio paciente (*ver infográfico*). Esse tipo de imunizante não evita a infecção pelo vírus, mas ajuda a combatê-la. Os pesquisadores selecionaram componentes imaturos (monócitos) do sistema de defesa e, em laboratório, os induziram a se transformarem em células dendríticas.

Essas células desempenham uma função especial no organismo: são os batedores do sistema imune. Encontradas em maior quantidade na pele, nos pulmões e nos intestinos, tecidos que têm contato mais direto com o meio externo, elas vasculham o terreno e, quando encontram estruturas que não pertencem ao organismo, por exemplo, um vírus ou uma bactéria, englobam-nas e as digerem antes de apresentar seus fragmentos para outras células de defesa. Assim, ensinam os linfócitos a reconhecer o invasor e a combatê-lo mais rapidamente.

No ensaio clínico realizado pela equipe da Unifesp, o treinamento das células dendríticas também foi personalizado. Os pesquisadores expuseram as células de cada participante a fragmentos (peptídeos) de uma proteína do HIV extraído do próprio indivíduo. No caso, a proteína escolhida foi a gag, a única que aparece na superfície dos linfócitos T CD4 contendo o HIV dormente. O objetivo era preparar as células da vacina para sinalizar aos outros componentes do sistema imune o que deveriam procurar e combater.

Usando um programa de análise de peptídeos disponível na internet, Savarino e o imunologista Edecio Cunha-Neto, da USP, selecionaram aqueles com maior probabilidade de serem reconhecidos pelo sistema de defesa de cada participante. Mesmo que dois indivíduos sejam portadores de vírus idênticos, os fragmentos da gag que ficam expostos em suas células de defesa podem ser diferentes. Os peptídeos foram depois sintetizados – o total variou de 2 a 6 em cada caso – no laboratório da bioquímica Maria Aparecida Juliano, da Unifesp, e colocados em contato com as células dendríticas antes que fossem reinfundidas nos participantes. Cada voluntário recebeu três doses da vacina celular, administradas com 15 dias de intervalo, após a interrupção do uso dos antirretrovirais, da vitamina B3 e da auranofina. “Como as células haviam sido retiradas do próprio indivíduo, a vacina praticamente não causou efeitos colaterais”, conta Shytaj, que também colaborou no desenvolvimento do

Custommune, uma versão aprimorada do programa de análise de peptídeos.

O desempenho do tratamento foi acompanhado por meio de exames de sangue e de biópsias do intestino. Duas pessoas controlaram temporariamente o vírus: uma identificada com a sigla P27, um homem de 24 anos de idade infectado três anos antes; e outra codificada como P29, um indivíduo de 49 anos que convivia com o vírus fazia oito. Análises do DNA de linfócitos do intestino, um importante reservatório do HIV, deixaram de detectar o material genético viral por ao menos seis meses.

Os outros três integrantes do grupo também apresentaram redução na quantidade de reservatórios do vírus, mas a queda não foi suficiente para eliminar esses santuários. “Talvez a duração do tratamento ou a dosagem não tenha sido adequada, por isso pretendemos fazer alterações em um próximo ensaio clínico”, explica Diaz.

DE SENTENÇA DE MORTE A DOENÇA CRÔNICA

Em junho de 1981 surgiram nos Estados Unidos relatos médicos de uma forma incomum de pneumonia e de um câncer de pele raro e agressivo em homens gays de São Francisco e Nova York. Eram os primeiros sinais de uma doença que mais tarde viria a ser chamada de síndrome da imunodeficiência adquirida, a Aids, causada por um vírus identificado apenas em 1983 pela virologista francesa Françoise Barré-Sinoussi e seu mentor à época, o também virologista francês Luc Montagnier (1932-2022), ambos do Instituto Pasteur, em Paris, e confirmado independentemente no ano seguinte pela equipe de Robert Gallo, então pesquisador do Instituto Nacional do Câncer dos Estados Unidos. Pela descoberta, Barré-Sinoussi e Montagnier dividiram metade do Nobel de Medicina de 2008 (a outra metade foi para a pesquisa do vírus HPV).

Naqueles primeiros anos dessa pandemia, o diagnóstico de infecção por HIV praticamente correspondia à pena capital: metade dos adultos e das crianças morria até 15 meses após o surgimento dos primeiros sinais da doença. Hoje, uma pessoa com HIV pode viver tanto quanto os indivíduos que nunca tiveram contato com o vírus e chegar à casa dos 70 anos. A principal razão dessa mudança foi o desenvolvimento dos antirretrovirais, que transformaram uma infecção altamente letal em uma doença crônica e controlável.

A primeira medicação aprovada pela agência de controle de medicamentos dos Estados Unidos (FDA) para tratar a infecção foi a azidotimidina (AZT). Também conhecido como zidovudina, esse composto inibe o funcionamento da enzima transcriptase reversa, necessária para a replicação viral.

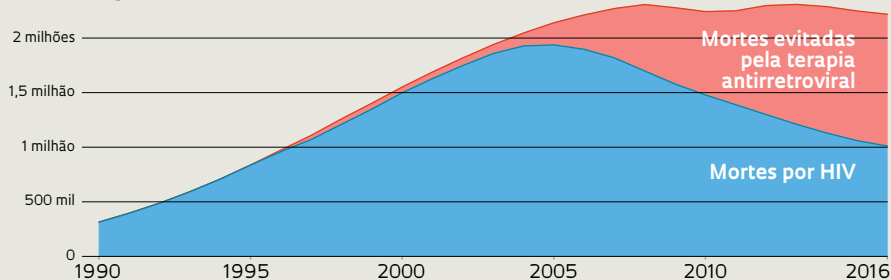
O HIV é um retrovírus. Seus genes estão codificados em uma molécula de RNA e só são lidos pela maquinaria celular depois de convertidos em DNA pela transcriptase reversa. Sozinho, porém, o medicamento se mostrou insuficiente para debelar o vírus.

A partir dos anos 1990 novos compostos foram incorporados quase anualmente ao arsenal anti-HIV. Hoje existem mais de 50 medicamentos usados no combate ao vírus. Eles pertencem a nove famílias de antirretrovirais e interferem em quatro

estágios da replicação do HIV: a entrada na célula, a conversão do RNA em DNA, a inserção do DNA viral no DNA celular e a montagem de novas cópias do vírus. O tratamento costuma se valer do uso de associações de dois ou três desses compostos (os coquetéis).

Em quatro décadas de pandemia, quase 80 milhões de pessoas foram infectadas pelo HIV no mundo, e ao menos 36,3 milhões morreram. Dados do Programa Conjunto sobre HIV e Aids das Nações Unidas (Unaids) indicam que, em meados de 2021, 37,7 milhões de pessoas viviam com o vírus no organismo, dos quais 28,2 milhões recebiam terapia antirretroviral. Em 2016, a Aids causou 1 milhão de mortes (*ver gráfico*). Naquele ano, os antirretrovirais impediram que outro 1,2 milhão morresse.

A EVOLUÇÃO DOS ÓBITOS



FONTES: UNAIDS E OURWORLDINDATA.ORG

VACINA TERAPÊUTICA TREINOU CÉLULAS DE DEFESA A DESTRUIR OS RESERVATÓRIOS DO HIV, COMPLEMENTANDO A AÇÃO DOS MEDICAMENTOS

“O trabalho da equipe da Unifesp é um dos que deram mais certo com essa estratégia. Teoricamente, o grupo conseguiu uma cura funcional temporária, de seis meses. É um resultado muito bom”, afirma o virologista Amílcar Tanuri, da Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ), estudioso da diversidade genética do HIV e da resistência do vírus aos medicamentos, que não participou do ensaio clínico. “A estratégia funciona. Agora é preciso ajustá-la para tentar aumentar o tempo de remissão. Será uma batalha para obter o máximo de efetividade com a menor toxicidade possível”, completa o pesquisador, que em 2018

coordenou um estudo mostrando que compostos extraídos do arbusto janaúba (*Euphorbia umbellata*) eram capazes de reativar o HIV latente.

A vacina terapêutica ativou algum nível de resposta imune em todos os participantes: os cinco que receberam o tratamento completo (mesmo nos indivíduos que não eliminaram totalmente os reservatórios do vírus) e outros cinco que tomaram só o coquetel reforçado e a vacina (sem uso da vitamina B3 e auranofina). Os linfócitos T desses indivíduos passaram a produzir compostos químicos liberados para combater o vírus, um sinal de que haviam sido ativados pelas células dendríticas, relatam os pesquisadores no artigo da *Aids Research and Therapy*. O ensaio clínico contou ainda com outros quatro braços, cada um com cinco integrantes, submetidos a diferentes combinações de antirretrovirais mais a vitamina ou o sal de ouro. “Os melhores resultados foram obtidos no grupo em que somamos todas as terapias”, conta Diaz.

“É uma ideia fascinante treinar células dendríticas para atingir o reservatório de HIV”, afirmou o hematologista alemão Gero Hütter a *Pesquisa FAPESP*. “Atualmente é uma estratégia bem conhecida, especialmente no tratamento do câncer. As células dendríticas são ‘milagrosas’, fazem coisas que não entendemos bem. O treinamento dessas células descrito no artigo parece ser uma abordagem promissora e menos arriscada do que outras.”

Atualmente diretor médico de uma empresa de terapias imunológicas e celulares, a Cellex Cell, Hütter se tornou internacionalmente conhecido no final dos anos 2000 por ter coordenado o pro-

cedimento que levou ao primeiro caso conhecido de cura do HIV. Em fevereiro de 2007, ele e sua equipe no Hospital Charité, em Berlim, realizaram um transplante de medula óssea em Timothy Ray Brown (1966-2020), um norte-americano que vivia na Alemanha e, além de ser portador do HIV, tinha leucemia, um câncer da medula óssea. Depois de ter seu sistema imune aniquilado por quimioterapia, Brown recebeu a medula óssea de um doador com uma característica especial: suas células não apresentavam a versão funcional de uma proteína, a CCR5, usada pelo vírus para invadir os linfócitos. Conhecido inicialmente apenas como o paciente de Berlim, Brown permaneceu livre do vírus até sua morte em 2020, por leucemia. Um ano antes, um segundo caso de cura do HIV foi noticiado: o do venezuelano Adam Castillejo, paciente tratado em Londres, que também havia recebido quimioterapia e um transplante de medula com a versão alterada da CCR5 para tratar um linfoma. Neste ano, foi reportado um terceiro caso, de uma norte-americana com leucemia que recebeu o transplante de células-tronco de cordão umbilical.

O caso de Brown (reforçado depois pelos outros), a identificação de pessoas (poucas) que naturalmente controlam o vírus e o reconhecimento de que muitos portadores do HIV não têm acesso ou não conseguem aderir ao uso prolongado de antirretrovirais levaram a comunidade científica internacional a priorizar na última década a busca de intervenções capazes de alcançar a remissão duradoura do vírus ou mesmo a cura da infecção. Em um artigo de revisão publicado em dezembro de 2021 na *Nature Medicine*, um grupo liderado pelo imunologista norte-americano Steven Deeks, da Universidade da Califórnia em São Francisco, enumerou uma série de técnicas em desenvolvimento. Elas incluem das vacinas celulares ao uso de anticorpos sintéticos; das terapias com células manipuladas em laboratório à edição gênica. Várias promissoras, mas nenhuma com grandes resultados. “Todas as novas estratégias têm desafios”, lembrou Dieffenbach, dos NIH, a *Pesquisa FAPESP*. E afirmou ainda: “Penso que uma cura funcional será possível em algum momento”.

O ensaio clínico realizado na Unifesp foi classificado como sendo de fase I/II e serve como indicação de que a estratégia pode funcionar – é a chamada prova de conceito. Apesar de animadores, os resultados devem ser vistos com cautela. Apenas estudos com um número bem maior de pessoas permitirão confirmar a segurança da abordagem e verificar sua eficácia. Diaz e seus colaboradores já preparam o próximo passo. Planejam iniciar em alguns meses o teste em 60 indivíduos de uma versão aprimorada do tratamento. ■

Os projetos e os artigos científicos consultados para esta reportagem estão listados na versão on-line.