

## PERSPECTIVA – Série “Desmistificando a ciência”

### Tratamento para cura do HIV-1: “O paciente de Berlim”

*Treatment for cure of HIV-1: “The Berlin patient”*

Thaís Louvain de Souza<sup>1</sup>, Regina Célia de Souza Campos Fernandes<sup>2</sup>, Enrique Medina-Acosta<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Mestre em Biociências, doutoranda em Biociências pela Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, RJ, Brasil.

<sup>2</sup> Médica pediatra, Mestre em Pediatria, Doutora em Doenças Infecciosas, Professora da Disciplina de Pediatria da Faculdade de Medicina de Campos, Programa Municipal de DST/Aids de Campos dos Goytacazes.

<sup>3</sup> Mestre e doutor em Parasitologia Médica e Molecular, Professor da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Coordenador do Núcleo de Diagnóstico e Investigação Molecular, Campos dos Goytacazes, RJ, Brasil.

A cura do HIV-1 pode ser: funcional, definida como a remissão permanente da doença e das suas consequências, na ausência de terapia antirretroviral (TARV) (carga viral indetectável ou <50 cópias/mL); ou por esterilização com a eliminação de todas as células infectadas pelo HIV-1<sup>1</sup>.

A cura funcional tem sido descrita com o uso da TARV precoce na infecção aguda que reduz o número de células infectadas latentes, ocasionando ausência de perda de células T CD4+ e de defeitos imunológicos; a não progressão; e a incapacidade de transmissão do HIV-1. Outras abordagens para redução das células infectadas latentes têm incluído drogas, tais como inibidores da histona deacetilase<sup>2</sup>, inibidores da metilação<sup>3</sup>, prostratina<sup>4</sup>, citocinas como a IL-7<sup>5</sup> e outros agentes ativadores da expressão do HIV-1 latente como disulfiram<sup>6</sup>, anticorpos contra PD-1<sup>7</sup>, que visam eliminar os reservatórios celulares e/ou anatômicos do HIV-1 latente. Intervenções que reduzem a ativação imune e reforçam a imunidade HIV-1 específica podem também desempenhar papel importante.

A cura de HIV-1 por esterilização tem sido largamente citada e comemorada após o bem sucedido caso conhecido como “O paciente de Berlim”<sup>8,9</sup>. Trata-se de um paciente americano, morador de Berlim, do sexo masculino com diagnóstico de infecção pelo HIV-1 em 1995, diagnosticado em 2006 com leucemia mielóide aguda (LMA) subtipo FAB M4. O paciente estava em uso de TARV,

com o esquema Efavirenz, Emtricitabine e Tenofovir nos 4 anos antes do diagnóstico de LMA sem carga viral detectável durante esse tempo (estágio CDC A2). As análises de genotipagem do vírus indicaram que o receptor utilizado pela cepa viral do paciente era R5, sendo que pelo sequenciamento Ultra Deep, 2,9% dos vírus exibiam tropismo para CXCR4 ou para ambos (R5/X4)<sup>8</sup>. Em perspectiva, no início da infecção, as cepas de HIV-1 sexualmente transmitidas geralmente utilizam o correceptor de superfície CCR5 e assim são denominadas R5 trópicas<sup>10</sup>. O polimorfismo CCR5Δ32, de deleção de 32 nucleotídeos no gene CCR5, é deletério funcional, resultando em uma proteína defeituosa que não é expressa na membrana citoplasmática<sup>11</sup>. Indivíduos homozigotos (CCR5Δ32/+) para este polimorfismo são resistentes à infecção por HIV-1 R5 trópicos<sup>12</sup>. Indivíduos heterozigotos (CCR5Δ32/−) são suscetíveis à infecção, e quando infectados apresentam progressão lenta para a AIDS<sup>13</sup>. O CCR5 não é o único correceptor utilizado pelo HIV-1, algumas cepas de HIV-1 utilizam alternativamente o correceptor CXCR4 para entrada nas células, e assim são denominadas de X4 trópicas.

“O Paciente de Berlim” exemplifica a estratégia de cura tanto da leucemia mielóide aguda quanto da AIDS em paciente HIV-1 positivo utilizando transplante de células tronco de doador compatível e homozigoto para a mutação CCR5Δ32. A evidência

**Autor para correspondência:** Thaís Louvain de Souza, Núcleo de Diagnóstico e Investigação Molecular, sede Hospital Escola Álvaro Alvim, Rua Barão da Lagoa Dourada 409, Prédio novo, 1º andar, Pelinca, Campos dos Goytacazes CEP 28035-010, Tel/Fax: (022) 2726 6758; E-mail: thaislsouza@gmail.com

experimental desse caso foi descrita em dois artigos<sup>8,9</sup>. O primeiro relatou a ausência da replicação viral no paciente transplantado em 2007 mesmo na ausência de uso de antirretrovirais<sup>8</sup>. O segundo caracterizou biópsias de tecidos reservatórios e avaliação da resposta imune anti-HIV-1 após os 3,5 anos do transplante<sup>9</sup>. Esses estudos demonstraram que: o paciente não tinha mais células infectadas pelo HIV-1; novos linfócitos eram resistentes ao HIV-1 R5 trópico; o paciente não apresentava resposta humoral e celular anti-HIV-1.

O tratamento da LMA no paciente consistiu de duas etapas: indução e consolidação da quimioterapia. O paciente desenvolveu toxicidade hepática e renal durante a primeira etapa da quimioterapia, exigindo a interrupção da TARV, com rebote na replicação viral. Com a reintrodução da TARV, 3 meses depois, sua carga viral foi indetectável. O paciente ainda apresentava LMA, portanto foi indicado transplante alógênico de células tronco, onde células portadoras do marcador CD34+ foram selecionadas e retiradas do sangue periférico de um doador HLA-identico. Foram encontrados 80 doadores compatíveis no Centro Germânico de Doadores de Medula Óssea, destes 62 foram genotipados para determinação da portabilidade do alelo CCR5Δ32 e apenas um doador foi homozigoto para o alelo CCR5Δ32.

Três dias antes do primeiro transplante, o paciente começou a receber profilaxia contra a doença enxerto versus hospedeiro e a TARV foi administrada até um dia antes do procedimento. Até o 13º dia após o transplante, o paciente recebeu a profilaxia contra rejeição. Durante o primeiro ano de acompanhamento após o transplante o paciente não apresentou toxicidade nem infecções graves, mas a LMA recidivou 332 dias após o procedimento, com quimerismo diminuindo para 15%.

O paciente retornou para a terapia de profilaxia contra a rejeição, recebeu uma dose de irradiação no corpo inteiro (200cGy) e um segundo transplante foi realizado com as células do mesmo doador. O procedimento teve sucesso com remissão da LMA e o paciente fez uso do tratamento imunossupressor durante 38 meses após o transplante<sup>9</sup>.

Juntamente com o sucesso do segundo transplante contra o câncer, o paciente permaneceu durante os 20 meses de acompanhamento sem carga viral detectável, mesmo na ausência de TARV<sup>8</sup>. Os linfócitos T do paciente foram totalmente eliminados da periferia e em dois anos o número de linfócitos T CD4+ derivados do doador estava com valor normal. Os níveis de células T CD4+ do paciente transplantado CCR5Δ32 +/- foram equivalentes aos controles transplantados, a diferença sendo que no paciente infectado pelo HIV-1 transplantado foi encontrado só o alelo CCR5Δ32.

Em relação à expressão de CXCR4 nas células T CD4+ não foi encontrada nenhuma diferença no nível da expressão e na disponibilidade. Ou seja, de nenhuma forma o transplante tornou as células T CD4+ resistentes à infecção pelos vírus X4 detectados pelo sequenciamento. No entanto, evidências recentes do seguimento clínico deste paciente sugerem que ele está curado da infecção<sup>8,9,14</sup>, sendo uma possível explicação a eliminação das células reservatórias dos vírus X4 pelo procedimento de irradiação feito antes do segundo transplante.

Considerando a baixa a frequência na população humana de homozigotos CCR5Δ32 +/- e a dificuldade de encontrar doadores compatíveis, o transplante de células tronco CCR5Δ32 +/- é impraticável em média e grande escala para a cura do HIV-1. Estratégias experimentais visando à cura buscam a diminuição da expressão de CCR5 em células tronco autólogas ex vivo utilizando siRNA, ribozimas específicas para CCR5 e nucleases dedos de zinco<sup>14</sup>. Neste último caso, recentes estudos têm enfatizado sua eficácia no controle da replicação viral e na obtenção da cura funcional em pacientes infectados pelo HIV-1<sup>15,16</sup>.

## CONCLUSÃO

A obtenção da cura do HIV-1 por esterilização foi um dos maiores avanços na última década e significou uma mudança de paradigma na luta contra o HIV-1. Cinco anos após o caso do "Paciente de Berlim", a comunidade científica aguarda relatos de procedimentos mais simples e viáveis para a cura do HIV-1 e que possam ser disponíveis inclusive e principalmente para os pacientes de baixa renda.

## Sumário

### Entendendo a estratégia de tratamento para cura do HIV-1 no "Paciente de Berlim"

- O objetivo do transplante de células tronco de doador compatível e homozigoto para a mutação CCR5Δ32 visou à cura de duas doenças graves no paciente: a leucemia e a Aids.
- A intervenção é de alto risco, além de cara. Contudo, a obtenção da cura do HIV-1 por esterilização foi um dos maiores avanços na última década e significou uma mudança de paradigma na luta contra o HIV-1.
- Considerando a baixa a frequência na população humana de homozigotos CCR5Δ32 +/- e a dificuldade de encontrar doadores compatíveis, o transplante de células tronco CCR5Δ32 +/- é impraticável em média e grande escala para a cura do HIV-1.

## REFERÊNCIAS

1. Johnston R and Barre-Sinoussi F. Controversies in HIV cure research. *J Int AIDS Soc* 2012; 15: 16.
2. Matalon S, Rasmussen TA, and Dinarello CA. Histone deacetylase inhibitors for purging HIV-1 from the latent reservoir. *Mol Med* 2011; 17: 466-72.
3. Kauder SE, Bosque A, Lindqvist A, Planelles V, and Verdin E. Epigenetic regulation of HIV-1 latency by cytosine methylation. *PLoS Pathog* 2009; 5: e1000495.
4. Lewin SR and Rouzioux C. HIV cure and eradication: how will we get from the laboratory to effective clinical trials? *Aids* 2011; 25: 885-97.
5. Archin NM and Margolis DM. Attacking latent HIV provirus: from mechanism to therapeutic strategies. *Curr Opin HIV AIDS* 2006; 1: 134-40.
6. Doyon G, Zerbato J, Mellors JW, and Sluis-Cremer N. Disulfiram reactivates latent HIV-1 expression through depletion of the phosphatase and tensin homolog (PTEN). *Aids* 2012; [Epub ahead of print]:
7. Macatangay BJ and Rinaldo CR. PD-1 blockade: A promising immunotherapy for HIV? *Cellscience* 2009; 5: 61-65.
8. Hutter G, Nowak D, Mossner M, Ganepola S, Mussig A, et al. Long-term control of HIV by CCR5 Delta32/Delta32 stem-cell transplantation. *N Engl J Med* 2009; 360: 692-8.
9. Allers K, Hutter G, Hofmann J, Loddenkemper C, Rieger K, et al. Evidence for the cure of HIV infection by CCR5Delta32/Delta32 stem cell transplantation. *Blood* 2011; 117: 2791-9.
10. De Rossi A, Ometto L, Masiero S, Zanchetta M, and Chieco-Bianchi L. Viral phenotype in mother-to-child HIV-1 transmission and disease progression of vertically acquired HIV-1 infection. *Acta Paediatr Suppl* 1997; 421: 22-8.
11. Carrington M, Kissner T, Gerrard B, Ivanov S, O'Brien SJ, et al. Novel alleles of the chemokine-receptor gene CCR5. *Am J Hum Genet* 1997; 61: 1261-7.
12. Samson M, Libert F, Doranz BJ, Rucker J, Liesnard C, et al. Resistance to HIV-1 infection in caucasian individuals bearing mutant alleles of the CCR-5 chemokine receptor gene. *Nature* 1996; 382: 722-5.
13. Meyer L, Magierowska M, Hubert JB, Rouzioux C, Deveau C, et al. Early protective effect of CCR-5 delta 32 heterozygosity on HIV-1 disease progression: relationship with viral load. The SEROCO Study Group. *Aids* 1997; 11: F73-8.
14. Holt N, Wang J, Kim K, Friedman G, Wang X, et al. Human hematopoietic stem/progenitor cells modified by zinc-finger nucleases targeted to CCR5 control HIV-1 in vivo. *Nat Biotechnol* 2010; 28: 839-47.
15. Autologous CCR5-modified CD4 T-cells effective in HAART nonresponders. *AIDS Patient Care STDS* 2011; 25: 693.
16. Positive results with autologous transplant of ZFN-modified CD4 T-cells: a step toward a practical, functional cure for HIV. *AIDS Patient Care STDS* 2011; 25: 693.