

VIRUS Y ENFERMEDAD VIRAL.

ALGUNAS SINGULARIDADES

Dr. Patricio Berríos Etchegaray (MV, Ph. D)

INTRODUCCIÓN

Según Lederberg (1988) la mayor amenaza individual para el dominio continuado del ser humano sobre el planeta son los virus. Y las preguntas que surgen ¿Cuál es el sentido de las enfermedades infecciosas? ¿Cómo se puede prever su evolución? ¿Dónde encajan el hombre y los animales en este plan o esquema?

El estudio de los virus emergentes puede contribuir a alejar a los biólogos de la reverencia que muestran hacia la biología molecular, con su visión cada vez más reduccionista del gen como explicación de todo, y acercarlos hacia una biología de carácter más general y multidisciplinaria.

Sir Macfarlane Burnet, virólogo australiano, y Premio Nobel (compartido) por la hipótesis sobre la tolerancia inmunológica adquirida, alguna vez en su vida escribió que los últimos años del siglo XX serían testigos de la “eliminación virtual de las enfermedades infecciosas como factor significativo de la vida social”. Burnet agregó algo más errado aún, “escribir sobre enfermedades infecciosas es casi escribir sobre algo que ha pasado a la historia”...

DEFINICIÓN DE VIRUS

En cualquier intento de definir a los virus hay que considerar la infecciosidad viral, su capacidad de existir en un estado no celular y el obligado parasitismo que exhiben en un nivel genético. De hecho básicamente presentan tres características definitorias: Poseen un solo ácido nucleico con capacidad infectiva, lo que asegura la continuidad genética de las estirpes virales. Presentan un grado de parasitismo absoluto lo que im-

plica una gran dependencia de la célula hospedadora. Tienen un tamaño muy pequeño, una organización estructural simple y una composición genómica elemental.

Lwoff define a los virus como “entidades estrictamente intracelulares y potencialmente patógenas, con una fase infecciosa, que poseen un solo tipo de ácido nucleico, se multiplican exclusivamente a partir de su material genético, están desprovistos de sistemas enzimáticos para producir energía, y no son capaces de crecer ni de reproducirse por división binaria”.

Luria y Darnell definen a los virus como: “entidades cuyo genoma es ADN o ARN, que se reproducen dentro de células vivas usando la maquinaria metabólica celular para dirigir la síntesis de partículas especializadas que conformarán el virión que contiene el genoma viral y que será, en último término, transferido de una célula a otra. Esta definición funcional se basa en el obligado parasitismo intracelular en un nivel genético.

S. Harrison describe a las partículas virales como “estructuras que transfieren ácido nucleico de una célula a otra”. Para otros autores modernos los virus son paquetes de ácido nucleico envueltos por proteínas que los protegen y les permiten ingresar específicamente a una célula. Según Meter y Jane Medawar los virus son genes envueltos en proteínas que alteran las actividades normales de una célula. Los virus serían programas genéticos que llevan un mensaje muy simple de una célula a otra, el que dice: ¡reprodúceme!

Los virus han sido considerados como genes de vida libre o fragmentos de ácido nucleico extraviados. En 1957, Roberto Donoso Barros, profe-

sor de Biología en la Escuela de Medicina Veterinaria de la Universidad de Chile, sostenía que los virus eran genes aberrantes. En el mismo año el Premio Nobel A. Lwoff establecía que “**Los virus deben ser considerados como virus, porque los virus son virus**”.

SINGULARIDADES DE LOS VIRUS

Los virus no son verdaderos microorganismos. Desde un punto de vista infectológico y epidemiológico, los virus se comportan como agentes infecciosos semejantes a las bacterias, sin embargo, se diferencian netamente en cuanto a su unidad estructural, composición química y naturaleza de su replicación y crecimiento. Los virus tienen un solo tipo de ácido nucleico, escasas proteínas, hidratos de carbono, lípidos y enzimas. Y su crecimiento es por síntesis independiente de sus componentes. Los virus al igual que clamydias y rickettsias no crecen en medios artificiales y son por lo tanto parásitos intracelulares obligados. Los virus no son sensibles a los antibióticos de acción farmacológica, y junto a las clamydias son sensibles al interferón.

Los virus no son seres vivos. Los virus están en el umbral entre lo vivo y lo inanimado. Al ingresar a una célula suplantando a los genes celulares y bloqueando la síntesis de macromoléculas celulares, reemplazándola por la producción de ácidos nucleicos y proteínas virales, constituyéndose de este modo en la forma más perfecta de parasitismo. Los virus serían verdaderos parásitos genéticos. La continuidad fenotípica de los virus está dada por la información codificada en su genoma; sin embargo, los virus presentan una gran plasticidad en su capacidad de variar o evolucionar, espe-

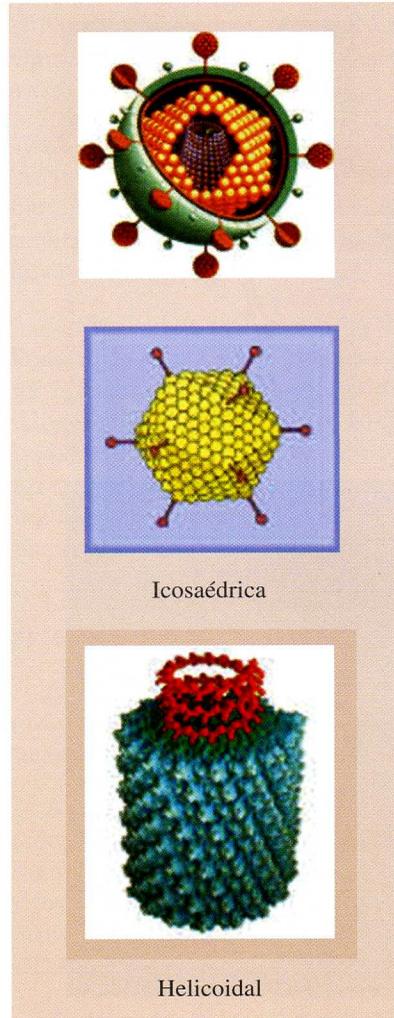
cialmente los virus ARN que no tienen enzimas correctoras de errores en la replicación del ácido nucleico.

Según H. Maturana los virus no serían seres vivos porque no son autopoieticos. (**Autopoiésis: Capacidad de un sistema para organizarse de tal manera que el único producto resultante es él mismo. No hay separación entre el productor y el producto. El ser y el hacer de una unidad autopoietica son inseparables y esto constituye un modo específico de organización.**)

Ubicación de los virus en la Naturaleza. Los virus no son protistas inferiores (Bacterias, clamydias, rickettsias y mycoplasmas). Los virus son acelulares. No tienen capacidad para generar ATP. No tienen ribosomas. Sólo los arenavirus tienen ribosomas afuncionales de origen celular. Después de los virus vienen los priones que son sólo proteínas, y los viroides constituidos solamente por ARN.

El virus hepatitis delta es considerado como “**satélite subviral del virus de la hepatitis B**” al que necesita para replicarse. Estos virus son considerados como los virus más pequeños que se conocen. Son virus ARN (circular) que codifican una sola proteína (Ag HD). Son parecidos a los viroides. Se sugiere que el virus hepatitis delta puede haber evolucionado de un viroide ARN por medio de la captura de una copia celular. Estos virus pueden causar la muerte en seres humanos en 2-20% por superinfección y hacerse crónicos. Se contagian por la sangre.

Tamaño de los virus. Son tan pequeños que pueden pasar a través de los filtros que retienen a las bacterias. Alguna vez se llamaron **virus filtrables**. Su tamaño se expresa en **nanómetros (nm)**, unidad que corresponde a una millonésima de milímetro (0,000001 mm). Los virus más pequeños miden unos 20 nm, los grandes 300 nm.



Morfología viral. Está dada por la conformación espacial de sus estructuras:

Nucleoproteína (ácido nucleico más proteínas), cápside proteica formada por capsómeros, envoltura lipídica y proyecciones de superficie o espículas.

El conjunto de ácido nucleico y cápside se denomina nucleocápside, estructura que se organiza en dos simetrías icosaédrica y helicoidal.

Los virus tienen formas isométricas esferoidales, alargadas o tubulares y mixtas

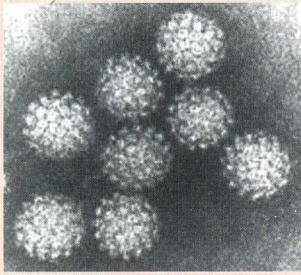
Ácido nucleico viral. Los virus tienen ADN o ARN, según sea el caso se llaman **desoxyrribovirus o ribovirus**. A nivel de ácido nucleico existen singularidades, se describen

virus con ADN de una hebra o monoténicos (parvovirus) y ADN circulares (virus polioma); virus ARN de doble hebra o biténicos (reovirus), virus ARN segmentados (virus influenza y rotavirus). El PM es de 2 a 160 millones de saltones. El ARNv tiene entre 2 y 18 kb; el ADNv tiene entre 4,5 y 200 kbp. Genomas tan pequeños sólo contienen entre 4 y 200 genes.

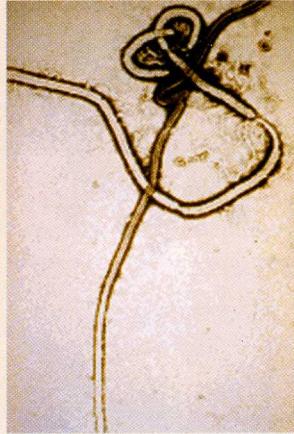
El ácido nucleico viral es corresponsable de la infecciosidad viral junto a proteínas virales de superficie.

Proteínas virales. Son codificadas por el ácido nucleico viral y producidas por la célula infectada. Su número es escaso debido al pequeño tamaño del ácido nucleico viral. La mayoría son glicoproteínas. Se describen proteínas estructurales y no estructurales. Las no estructurales se producen en el inicio del ciclo replicativo viral y tiene como función bloquear la síntesis de proteínas celulares y liberar al ácido nucleico viral de sus envolturas proteicas. Las proteínas estructurales que se ubican en todas las estructuras virales cumplen las siguientes funciones: protegen al ácido nucleico viral y le dan forma al virus; actúan como **antígenos y receptores**. Los receptores le confieren la especificidad al virus, y este tropismo celular es responsable de la marcada especificidad por determinadas células, lo que en último término determina la localización de la infección viral tanto en órganos como en especies afectadas. La **barrera interespecies** impide el paso de virus de una especie a otra.

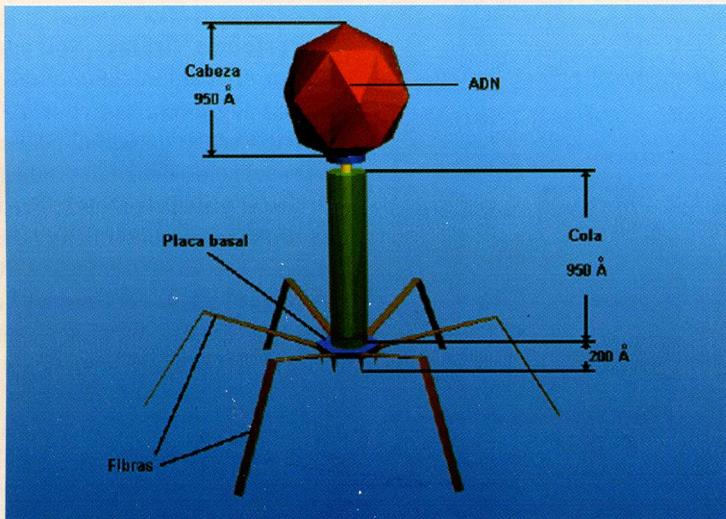
Las enzimas virales son variadas y propias de cada familia viral. Las principales enzimas virales tienen que ver con la replicación del ácido nucleico viral (ARN polimerasa ADN dependiente; ADN polimerasa ARN dependiente o transcrita reversa, entre otras). La neuroaminidasa de los virus influenza actúa a nivel de la interacción entre superficies de virus y células. Otras enzimas virales son



Forma isométrica esférica



Forma tubular alargada



Bacteriófago con forma mixta: cabeza icosaédrica y cuello tubular.

proteínas, proteinquinasas, fosfohidrolasas, entre otras.

Mantenimiento de la infecciosidad viral. Los virus mantienen su funcionalidad en bajas temperaturas, en estas condiciones esperan a ser activados, lo que ocurre al ingresar a una célula. Las temperaturas óptimas son congelación a -70°C y en N líquido a -192°C . La inactivación viral en que el virus pierde la capacidad de ingresar a una célula o de replicar en su interior, ocurre cuando el virus es afectado por temperaturas altas, sustancias químicas y radiaciones, y el ácido nucleico o las proteínas virales son alterados.

REPLICACIÓN VIRAL

Cada familia viral tiene su propia

modalidad en su replicación, existiendo por lo tanto variadas estrategias en la replicación viral. Se describen 5 fases o etapas en la replicación viral:

1. Adsorción. La unión virus-célula es altamente específica. Se realiza a través de la unión de receptores virales con receptores complementarios de la célula blanco. El consecuente tropismo o afinidad de los virus por determinadas células de órganos o tejidos de diferentes especies animales, condiciona patologías localizadas en huéspedes específicos, lo que en último término determina la **barrera interespecies**.

2. Penetración (generalmente por endocitosis) y **desnudamiento** por acción de enzimas lisosomales.

3. Replicación del ácido nucleico viral y producción de proteínas virales

Ácido nucleico (genoma) ADN o ARN: Transcripción \ddagger ARN mensajero, y Traducción con producción de proteínas virales. En el proceso de transcripción se requieren enzimas (polimerasas, replicasas o transcriptasas) de origen viral o celular. Ejemplos: ARN polimerasa ADN dependiente de los virus Pox, o de origen celular la polimerasa celular II que utilizan los virus Herpes y Adenovirus; ADN polimerasa ADN dependiente de origen celular que utilizan los Parvovirus; ARN polimerasa ARN dependiente propia de los Reovirus, Orthomyxovirus y Calicivirus y ADN polimerasa ARN dependiente o transcriptara reversa o inversa de los Retrovirus.

Síntesis de proteínas virales. Las primeras proteínas (Tempranas) en producirse son las proteínas de desconexión y tienen como función suprimir la funcionalidad celular o actuar como enzimas polimerasas. Las proteínas tardías sintetizadas posteriormente son generalmente proteínas estructurales.

4.- Ensamblaje y maduración viral. La unión o ensamblaje de proteínas y ácidos nucleicos virales ocurre en el núcleo o citoplasma celular, lugar donde aparecerán posteriormente los **cuerpos de inclusión**. Ejemplos: en los virus icosaédricos sin envoltura que replican en el citoplasma celular, las proteínas estructurales se asocian espontáneamente para formar capsómeros, los que a su vez se autoensamblan para formar procápsides vacías, las que posteriormente incorporarán el ácido nucleico viral de progenie para formar nuevos **viriones** (virus completos). Los virus envueltos que replican en el núcleo adquieren la envoltura lipídica en la membrana nuclear, mientras que los que replican en el citoplasma lo hacen en la membrana citoplasmática.

5.- Salida de los virus de la célula. Los virus no envueltos se acumulan en el citoplasma o en el núcleo de la célula infectada y su salida ocurre cuando las paredes celulares se rompen. Algunos virus como los picornavirus salen rápidamente después de la maduración viral, otros como los parvovirus se acumulan y se liberan lentamente provocando una lenta degeneración y muerte celular. Los virus envueltos se liberan por gemación durante períodos prolongados sin causar daño a las células, incluso en algunos virus como el herpes causante de la enfermedad de Marek, gran parte del virus progenie no es eliminado al extracelular y se denomina "virus asociado a la célula".

QUIMIOTERAPIA ANTIVIRAL

Debido al extremo parasitismo de los virus existe una estrecha relación entre la replicación viral y los procesos metabólicos celulares, por lo cual la gran mayoría de las sustancias inhibitorias de la replicación viral también afectan a las células y son por lo tanto tóxicas para el organismo, como es el caso de la puromicina y cicloheximina que inhiben la síntesis de proteínas virales y celulares, siendo virostáticas y citotóxicas. Otras limitantes en la aplicación de drogas antivirales son el costo, tiempo de aplicación el que debe ser casi preventivo, y la aparición de cepas virales mutantes resistentes.

Drogas antivirales. Una droga antiviral debe ser selectiva y bloquear la replicación viral pero sin afectar a las células. Generalmente actúan en uno o varios niveles de la replicación viral:

1.- En nivel de adsorción entre virus y célula. Ej. **Amantadina** (Symmetrel) para virus influenza.

2.- En nivel de transcripción del ácido nucleico viral. Ej. **Actinomicina-D** inhibe la síntesis de ARNm al bloquear la polimerasa

ARNp ADN de los virus ADN. El **rifampin** es efectivo sobre el virus de la viruela humana.

3.- En nivel de traducción del ARNm. El **marborán** (Isatin -beta-thiosemicarbazone) que afecta el ensamblaje de virus viruela produciendo virus incompletos.

4. En nivel de replicación del ácido nucleico viral. Ejs. Análogos de las pirimidinas (nucleósidos halogenados) como el **5-yodo-2'-desoxiuridina** (5-IUDR) que se incorpora en el ADN viral en vez de timidina, produciendo moléculas no funcionales.

Los antivirales comerciales más efectivos son:

Aciclovir (9-(2-hidroxyethoxymethyl) guanina o Zovirax. ¡El mejor antiherpético!

Azidothymidine (AZT) o Zidovudine. Es transformado por enzimas celulares en un derivado trifosfatado que inhibe selectivamente a la transcriptasa reversa del virus del SIDA.

Zanamivir (Relenza) y GS 4104 (Oseltamivir, Tamiflu) que se unen al sitio activo de la neuroaminidasa del virus influenza impidiendo que se disemine en el organismo.

En el caso específico del SIDA se utilizan los siguientes antirretrovirales:

1. Inhibidores de la transcriptasa inversa (NRTI) análogos de nucleósidos. En que la inhibición puede ser a) Competitiva, en que el fármaco imita al sustrato natural para la síntesis de ácido nucleico viral y b) Por terminación de cadenas al impedir que se añadan nuevos nucleósidos a la cadena de ADN. Ejs. AZT (Retrovir, Zidovudina); 3TC (EpiVir, Lamivudina); Videx (ddl, Zalcitabina); Zerit (d4t, Estavudina); Combivir (Retrovir, Zidovudina + EpiVir, Lamivudina); Ziagen (Abacavir). Loviride.

2. Inhibidores de la proteasa (IP). En la replicación viral se producen cadenas largas de proteínas y su fragmentación es producida por proteasas. Los inhibidores de la proteasa impiden esta fragmentación produciendo copias defectuosas de virus que no pueden ingresar a otras células, por lo que la infección no se propaga dentro del organismo. Ejs. InVirase, Fortobase (Saquinavir, R0-31-8959); Crixivan (Indinavir, Ritonavir); Norvir (Ritonavir, AB T-538); Kaletra (Lopinavir, Ritonavir); Viracept (Nelfinavir, AG-1343); Agenerase (Amprenavir).

3. Análogos no nucleósidos (NNRTI). Corresponde a la tercera fase de tratamiento anti VIH. Son inhibidores de la transcriptasa inversa que actúan de un modo no competitivo sobre ella, causando una ruptura en el sitio catalizador de la enzima. Son activos sobre cepas resistentes a la AZT. Ejs. Viramune (Nevirapina); Rescriptor (Delavirdina); Stocrin (Efavirenza-Sustiva-DMP-266).

Interferones (INF) son proteínas asociadas con carbohidratos que son esenciales para su actividad. Se clasifican como citoquinas. La actividad antiviral del INF es estimada midiendo la inhibición que éste produce en la incorporación de uridina* radioactiva en el ARN viral en células infectadas por un togavirus. Su actividad es expresada como la cantidad de INF necesaria para reducir en 50% el nivel normal de síntesis de ARN viral. Esta cantidad es arbitrariamente definida como 1 unidad de interferón. Un mg de proteína de INF purificado tiene actividad antiviral de un orden de 10 elevado a 9.

Existen dos tipos de interferón: Tipo 1 INF alfa e INF beta (molecularmente semejantes) que participan en la respuesta inmune inespecífica. El INF alfa es producido por linfocitos infectados por virus; el INF beta lo es por fibroblastos infectados por virus. Tipo 2 corresponde al INF gama.

El INF alfa estimula la síntesis de proteínas clase I del complejo mayor de histocompatibilidad (CMH) que están presentes en las membranas de todas las células con núcleo y participan en la presentación de antígenos virales.

Un virus al infectar a una célula la induce a producir interferones contra varios tipos de virus, es más bien inespecífica en su accionar antiviral, aunque es especie específica. El INF distingue entre la síntesis de proteínas celulares y de proteínas virales. ¿Cómo? Se sabe que algunos ARNd_h aumentan la fosforilación de proteínas reguladoras lo que baja la síntesis de proteínas. Por otra parte se activa la ribonucleasa que degrada al ARNm lo que se traduce en disminución de la síntesis de proteínas.

Genes e interferón. Los genes que codifican a INF humano tipo 1 se ubican en el cromosoma 9, mientras que los que codifican al INF tipo 2 se ubican en el cromosoma 12. Se sabe que el INF actúa estimulando un estado de resistencia antiviral a través de su unión con receptores celulares. El gen que codifica para el receptor para el INF 1 se ubica en el cromosoma 21, y el gen para el INF 2 en el cromosoma 6.

Nueva tecnología de ARN de interferencia

El ataque o "knock out" de determinados genes celulares o virales, se consigue por acción de pequeños fragmentos sintéticos de 19 a 25 nucleótidos que son complementarios a la secuencia que se pretende inhibir o bloquear. Al ser introducidos en el interior de la célula por transfección o mediante vectores adecuados, estos AR de interferencia se acoplan y forman complejos con los ARNm del citoplasma que llevan la misma secuencia, impidiendo así que se traduzcan en proteínas.

Esta tecnología es una buena posibilidad para inhibir al retrovirus del SIDA en cultivos celulares tratando a

las células infectadas con ARN de interferencia dirigido contra determinados genes del VIH. Un ARN de interferencia dirigido contra el receptor celular CD4 bloquea al ARNm de este receptor disminuyendo la entrada de virus a la célula blanco. También se podría bloquear la expresión de correceptor CCR5 disminuyendo la entrada del VIH a la célula aunque en este caso sin afectar al sistema inmune. Incluso se podría bloquear al gen gag propio de los retrovirus.

VIRUS Y EVOLUCIÓN

En la exitosa secuenciación del genoma humano se han encontrado en él un poco más de 200 secuencias de origen bacteriano. Existiendo evidencias de transferencia horizontal de genes relativamente frecuentes posiblemente transmitidos por vectores como virus. De hecho el 8% del genoma, unos 450.000 nucleótidos, corresponden a secuencias retrovirales.

Las secuencias autónomas o retrotransposones contienen genes gag y pol que codifican la transcriptasa inversa. Los retrovirus exógenos parecen provenir de los retrotransposones endógenos que han adquirido un gen celular (env) para la cápside viral.

Mediante estudios moleculares de genomas animales y vegetales, se han identificado muchas secuencias de ADN de virus endógenos. Al menos 1000 secuencias génicas que se expresan en 37 tejidos humanos corresponden a retrovirus endógenos. Se piensa que estos virus endógenos han perdido sus zonas terminales lo que los hace perder su capacidad del punto de inserción.

La presencia de virus endógenos se explica en un contexto evolutivo, en el caso del embrión de *Drosophila* se han identificado 15 secuencias retrovirales implicadas en el control espacial y temporal del desarrollo de distintos tejidos.

Los provirus corresponderían a verdaderos mecanismos de adquisición de secuencias complejas de genes disponibles para su eventual utilización como respuesta a cambios ambientales.

Los virus endógenos se expresan en funciones tan significativas en que partículas retrovirales defectivas son responsables de los mecanismos de impronta paterna y materna que hacen posible la placentación. Otros antígenos retrovirales se han encontrado implicados en el proceso de diferenciación de células trofoblásticas de la placenta humana.

Según Sandín (1997) cada día se acumulan nuevos datos sobre actividades de virus endógenos los que, sin embargo, rara vez se interrelacionan ni se sitúan en un contexto evolutivo, que sería la forma de comprender el significado de su presencia en el genoma. Este autor plantea la posibilidad que los oncogenes sean en realidad secuencias de origen viral (oncovirus), cuya función sea actuar sobre la diferenciación y proliferación de un tejido celular concreto, y que la proliferación celular cancerosa sea el resultado de la activación de dichas secuencias en un momento inadecuado.

COLOFÓN

No debemos olvidar que los virus se estudian porque causan patologías infecciosas en el hombre, animales domésticos y silvestres, y vegetales, causando trastornos sociales (económicos y políticos) que han obligado a estudiar a los virus exhaustivamente, no solamente para conocer su biología, sino primordialmente para establecer adecuados métodos de diagnóstico y efectivos productos inmunizantes.

Dr. Patricio Berríos E. (MV, Ph. D)
Sociedad Chilena de
Infectología Veterinaria