

1

Biología viral

J.R. Arbiza

INTRODUCCIÓN

Hasta fines del siglo XIX se había avanzado en la etiología de muchas enfermedades infecciosas; sin embargo, quedaban muchas enfermedades en el hombre, animales y plantas, en las cuales no se identificaba un microorganismo causal. En el siglo XX, se descubrieron los virus como causantes de enfermedades infecciosas para las cuales no se había encontrado una bacteria, un hongo, o un protozoario como responsable. Fue el desarrollo de nuevas técnicas como los cultivos celulares, el avance en la microscopía, y el advenimiento a fines del siglo XX de técnicas de biología molecular, que han permitido aislar e identificar los virus. Además, han permitido un avance extraordinario en el conocimiento molecular de la biología de los mismos.

Sin embargo, los virólogos tienen un doble desafío para el futuro; controlar los virus que ya se conocen, para los cuales no existen fármacos o vacunas efectivas hasta el momento, y aislar, identificar, caracterizar, y controlar los virus emergentes o reemergentes (virus de la inmunodeficiencia humana, Ébola, Hantavirus, etc.).

CARACTERÍSTICAS GENERALES

Las primeras características que diferenciaron a los virus de otros microorganismos fueron: el tamaño, estimado por su capacidad de atravesar filtros que retienen a las bacterias, y la incapacidad para reproducirse en medios biológicos inertes como medios de cultivo para bacterias, requiriendo para su propagación de animales o cultivos celulares. Hoy se sabe que estas características no alcanzan para diferenciar a los virus de otros agentes biológicos, dado que existen bacterias cuyo tamaño puede ser similar al de los virus más grandes, y algunas bacterias como *Chlamydias* y *Rickettsias*, son parásitos intracelulares obligatorios.

La organización y composición de las partículas virales, ofrecen características que los diferencian de otros microorganismos. Los virus poseen un solo tipo de ácido nucleico de pequeño tamaño con respecto a otros agentes biológicos, rodeado por una cáscara o cápside, formada por numerosas copias de una proteína, o de un número limitado de ellas. Algunos grupos de virus presentan por fuera de la cápside, una envoltura lipídica de origen celular en la que se insertan glicoproteínas. No presentan sistemas enzimáticos propios, por lo tanto no son capaces de replicarse por sí solos, y requieren de células animales, vegetales o bacterias para cumplir su ciclo de reproducción; esto define su parasitismo celular obligatorio.

Este tipo de reproducción particular que tienen los virus, es la característica que justifica su lugar en la escala biológica. A diferencia de las células, en el momento de su multiplicación, los virus no aumentan de tamaño para su posterior división, por el contrario, la partícula viral se desintegra y luego se sintetizan cada uno de sus componentes, que se reúnen por ensamblaje. Esta forma de multiplicación en la cual se producen réplicas del virus progenitor, es conocida con el nombre de replicación viral, y se diferencia del proceso de división celular usado por células procariotas y eucariotas.

Se pueden citar dos definiciones de virus. La primera propuesta por Lwoff (1957): “entidad estrictamente celular y potencialmente patogénica con una fase infecciosa. Posee un solo tipo de ácido nucleico, es incapaz de crecer y reproducirse por fisión binaria, y carecen de enzimas para producir energía”. La segunda, pertenece a Luria y Darnell (1967): “los virus son entidades cuyo genoma se replica dentro de células vivas, usando su maquinaria de síntesis. Esto determina la formación de elementos especializados, que permiten la transferencia del genoma viral a otras células”.

Viroides

Son virus simples constituidos por ácido ribonucleico (RNA) circular de muy bajo peso molecular, sin cápside protectora. Producen enfermedades hasta el momento conocidos exclusivamente en plantas.

Provirus

El genoma viral se puede integrar al genoma celular por un proceso de recombinación genética, directamente en los virus DNA, o previa transcripción inversa en los virus RNA. El genoma viral integrado al celular recibe el nombre de provirus.

Priones

Ciertos agentes causantes de afecciones degenerativas del sistema nervioso central del hombre, han sido clasificados como virus no convencionales, dado que no ha sido posible determinar una estructura similar a la de los virus en el material infectante, ni el tipo de ácido nucleico de dichos agentes. Son extremadamente resistentes a sustancias que inactivan los virus comunes. Algunos autores han propuesto que corresponderían a viroides patógenos del hombre.

Los priones han sido descritos en los últimos años, como causantes de muchas enfermedades del sistema nervioso, comentadas anteriormente, principalmente el scrapie en el ganado ovino, y la encefalopatía espongiiforme bovina (B.S.E.), o comúnmente conocida como síndrome de la “vaca loca”. En el hombre serían los agentes relacionados con la enfermedad de Creutzfeld-Jacob y Kuru.

Son estructuralmente más simples que los virus, y están formados solo por proteínas. Cuando se descubrieron, parecía que se podía producir una gran revolución en el conocimiento de la biología, porque la idea de que una proteína pudiera autorreplicarse, sería opuesta al dogma central de que la información genética es transmitida desde el ácido nucleico a la proteína. El hallazgo de los priones y el avance en el conocimiento de su biología, podrán dilucidar muchas enfermedades aún sin resolver. Muchas son las investigaciones que se realizan en estos momentos, y las hipótesis propuestas para explicar la biología y permanencia de estas proteínas, extremadamente resistentes a sustancias que inactivan a los virus comunes.

MORFOLOGÍA Y ESTRUCTURA DE LOS VIRUS

Tamaño y forma

Existe gran variedad de tamaño y forma de los virus hasta hoy estudiados. Se puede observar un tamaño entre 28 nm en los virus más pequeños denominados picornavirus (pico de pequeño), hasta 300 nm en los virus más grandes que se conocen, como son los poxvirus (ver figura 1.1).

La forma también es muy variada, pudiéndose observar formas icosaédricas o helicoidales en virus que no tienen envoltura por fuera de la cápside, hasta formas esféricas, filamentosas o pleomórficas en los virus con envoltura o muy complejos como el virus de la rabia (ver figuras 1.2 y 1.6).

Estructura

Como ya se mencionó la estructura de un virus está basada en su simplicidad. A pesar de esto, existe cierta diversidad que es usada para la clasificación de estos microorganismos.

Virus desnudos

La estructura de los virus más simples está compuesta por un solo tipo de ácido nucleico (DNA o RNA), rodeado de una cáscara proteica que se denomina cápside (del griego capsas que significa caja). De la reunión de las subunidades proteicas codificadas por el genoma viral, que se ensamblan según principios geométricos, se forman diferentes tipos de simetrías, icosaédrica o helicoidal (ver figura 1.2 y 1.3b) Esta estructura

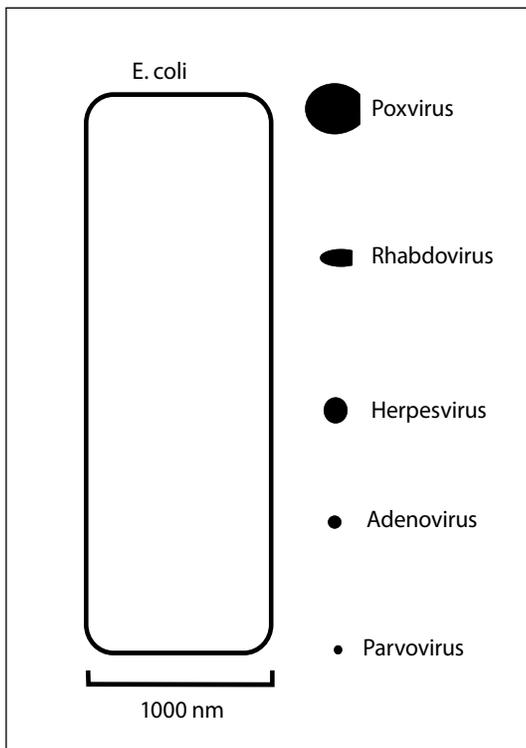
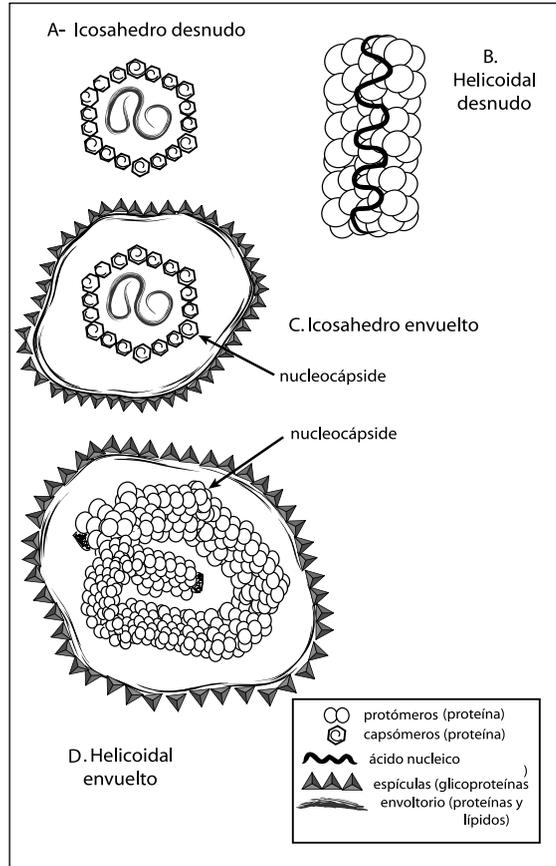


Figura 1.1

Figura 1.2.



básica de ácido nucleico y cápside, recibe el nombre de nucleocápside, y constituye en los virus desnudos la partícula viral completa o virus. Ésta se diferencia del término virión, que es usado para las partículas virales o virus potencialmente infecciosas.

Cuando se observa al microscopio electrónico una cápside viral, pueden observarse estructuras morfológicas denominadas capsómeros, que resultan de la unión por enlaces de las subunidades proteicas. La forma de distribución de los capsómeros así como el número de ellos, depende de cada tipo de virus.

Virus envueltos

La estructura de las partículas virales de los virus denominados envueltos, está formada además de la nucleocápside, por una envoltura de origen celular que la rodea (ver figuras 1.2 y 1.3a). Dicha envoltura se obtiene en el proceso de liberación por gemación (brotamiento), como se esquematiza en la figura 1.4. En ésta se insertan glicoproteínas de origen viral, que reciben el nombre de espículas o glicoproteínas de superficie, y que tienen un papel importante en el reconocimiento de receptores específicos de la superficie celular, durante el paso inicial de relación con la célula huésped para la multiplicación viral.

Ácidos nucleicos

El ácido nucleico que lleva la información genética y que constituye el genoma viral, puede tener varias formas. Como ya se mencionó, una partícula viral tiene en su es-

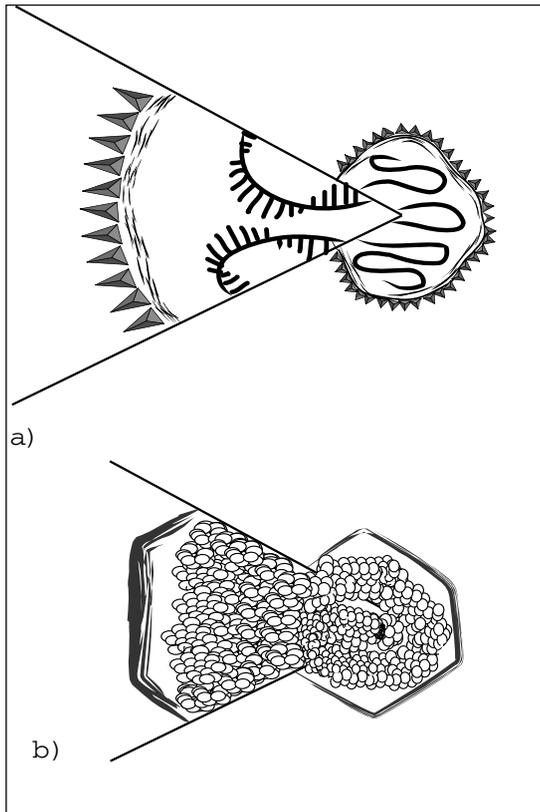


Figura 1.3.

estructura un solo tipo de ácido nucleico (DNA o RNA), pero la forma de estos puede ser de doble o simple cadena, segmentado o no, circular o lineal, determinando una gran diversidad de utilidad en la taxonomía viral (ver figura 1.5).

En la figura 1.6, se representa un cuadro con los principales virus animales, con sus diferentes estructuras (con envoltura o sin ella, con simetría helicoidal o icosaédrica) y la composición del ácido nucleico. Estas dos características se combinan de diferentes maneras para determinar varios grupos de virus.

MULTIPLICACIÓN VIRAL

Una partícula viral puede encontrarse en dos estados: activa o inactiva. Para demostrar el estado inactivo, basta incluir una suspensión de virus en un medio de cultivo, y observar que son incapaces de cumplir actividades metabólicas necesarias para su multiplicación. Se deduce de ello, que los virus carecen como ya se mencionó anteriormente, de maquinaria enzimática que les permita autorreplicarse, aún cuando se les brinde nutrientes que serían adecuados para la propagación de las bacterias más exigentes.

Pero si una partícula viral es incorporada a células vivas sensibles, se comporta en forma activa, y por lo tanto tomará el comando de la maquinaria enzimática de la célula huésped, logrando así su replicación.

La multiplicación de los virus animales, vegetales y bacteriófagos, es similar en sus principios, pero cada una de ellas tiene sus particularidades. Esto se basa principalmente en las diferencias entre las células que infectan.

Figura 1.4.

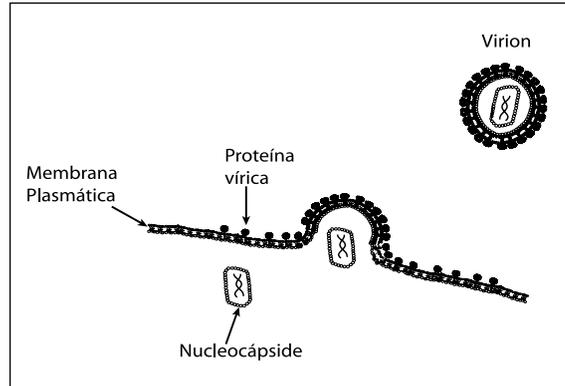
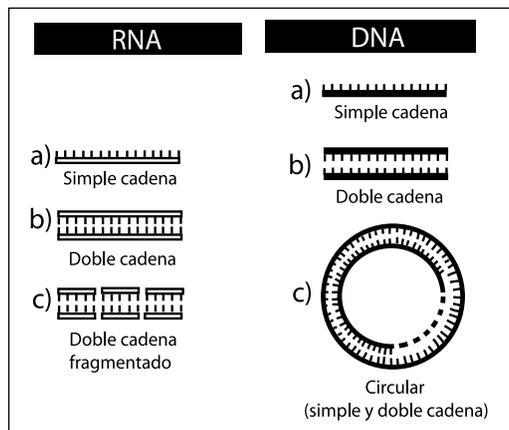


Figura 1.5.

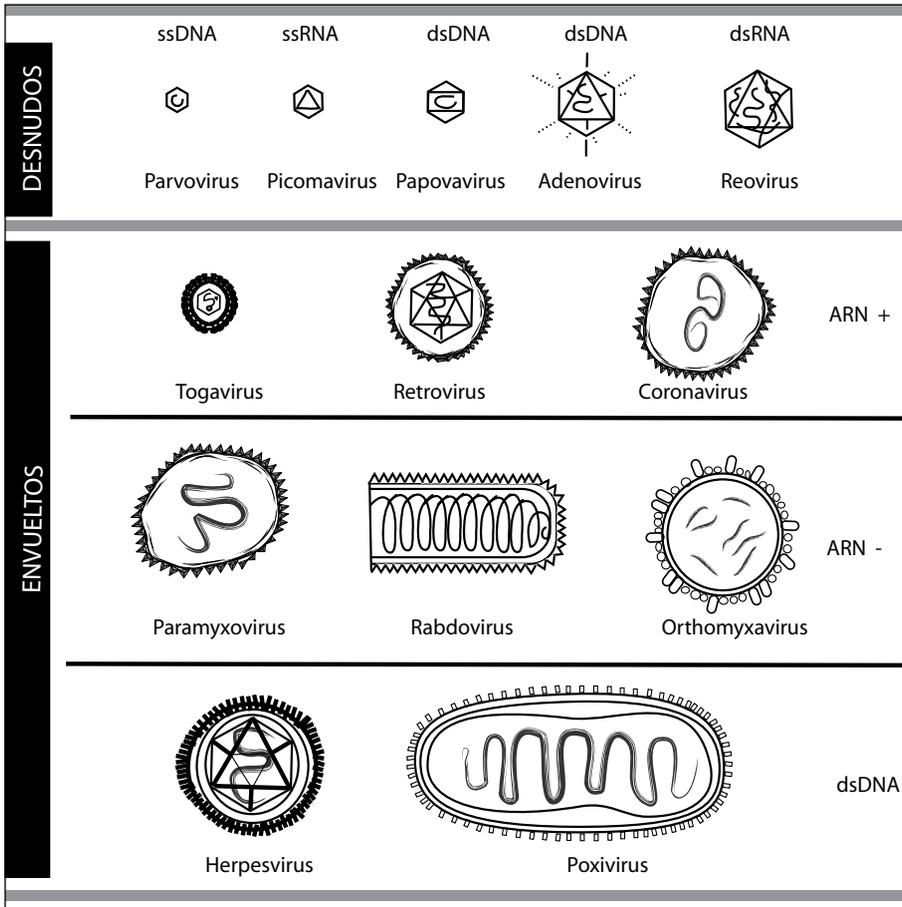


El desarrollo del conocimiento sobre la multiplicación de los virus animales, ha sido posible por el uso en el laboratorio, de muchos sistemas de aislamiento de virus en los cuales se puede estudiar el proceso de multiplicación viral. En un principio fueron animales y huevos embrionados los sistemas más usados, pero actualmente se han sustituido por cultivos celulares, que ha favorecido el conocimiento de las etapas de la multiplicación viral. Existe una gran variedad de cultivos de células, cultivos primarios o líneas celulares, que pueden ser subcultivadas indefinidamente. Dichas líneas se asemejan mucho a las células transformadas, debido a su gran potencial de crecimiento y a su aneuploidía. Habitualmente se las usa para aislar virus, pero no se recomiendan para la producción de vacunas virales humanas, dado que los virus propagados en esas líneas pueden adquirir características genéticas oncogénicas. Los cultivos primarios, resultan de la dispersión de células diploides de un tejido, por digestión enzimática de la sustancia intercelular. También son poco recomendadas para la producción de vacunas, ya que pueden tener virus latentes propios de la especie de la que provienen. Los embriones de gallina y sus anexos siguen siendo muy usados, porque ofrecen diferentes tipos celulares, a los que se puede llegar por diferentes vías (intra-amniótica, intra-alantoidea, en saco de yema, etc.).

Infección viral

La infección viral puede ser productiva, o en oposición abortiva. Esta última cumple un ciclo incompleto en el que no se forman partículas virales infecciosas.

Figura 1.6.



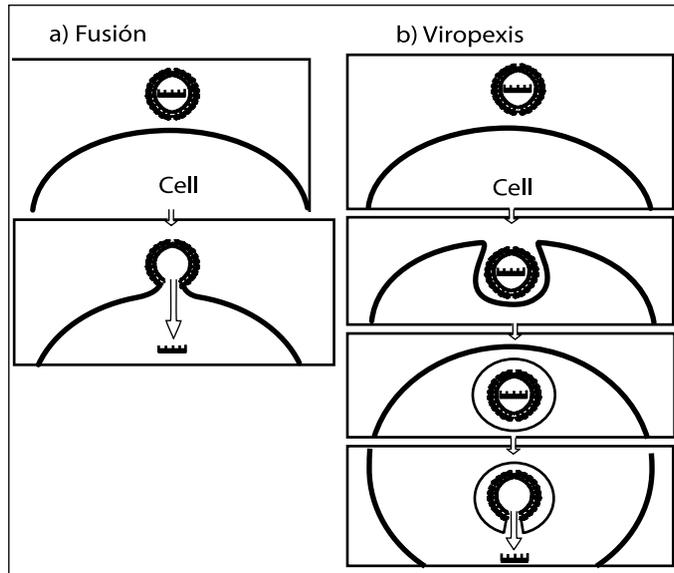
Una infección productiva, culmina con la generación de una progenie viral infecciosa. Este proceso requiere una serie de pasos o etapas, que son diferentes en los distintos tipos de virus. Las etapas fundamentales de la infección viral son: adsorción, penetración, denudación, eclipse, replicación, maduración y liberación.

Adsorción

En la adsorción intervienen muchos factores. En principio existe una atracción por fuerzas iónicas. Dado que a pH neutro los virus y las células tienen cargas negativas, para que exista atracción son necesarios iones positivos. Dicho requerimiento lo cumplen los iones de magnesio.

Otro factor importante en esta etapa, es la interacción de sitios específicos de la partícula viral con receptores celulares específicos. Esto determina la especificidad de algunos virus para crecer en células de origen específico; por ejemplo el virus de la poliomielitis solo puede crecer en células humanas y de primates. Otros virus presentan estructuras en su superficie que les permiten cumplir con esta etapa de forma muy especializada. Estas estructuras son glicoproteínas, que reconocen receptores celulares específicos. Hoy se pueden aislar esos elementos como complejos virus y célula.

Figura 1.7.



Luego de adsorbidos a una célula, los virus pueden ser recuperados conservando sus caracteres de partícula libre, potencialmente infectante. Los poliovirus, pueden ser separados de las células con soluciones salinas a altas concentraciones, o con detergentes; los mixovirus (virus de la gripe), que usan también una estructura especializada, se separan de las células huéspedes por acción de la enzima neuraminidasa.

Penetración

La penetración de los virus una vez adsorbidos, puede realizarse de diferentes maneras, por: viropexis, penetración o fusión (ver figura 1.7).

VIROPEXIS

Es un proceso de fagocitosis, en el que se produce una invaginación de la membrana plasmática; así el virus queda englobado en una vesícula dentro del citoplasma celular. Es el mecanismo más común de penetración de los virus.

PENETRACIÓN

En algunos virus, la penetración acontece por simple cruce de la membrana plasmática; así la partícula viral queda directamente incluida en el citoplasma.

FUSIÓN

Otro tipo de penetración se da por fusión de la envoltura viral con la membrana plasmática. También en este caso el virus es directamente incorporado al citoplasma.

Denudación y eclipse

En esta etapa el virus se desintegra, dejando libre su ácido nucleico que comanda su propia replicación, además de la síntesis de las proteínas necesarias para integrar nuevas partículas.

La manera en la que un virus pierde la cápside y su envoltura si la tiene, es característico de cada grupo viral. En los poliovirus parece existir una integración con los

constituyentes celulares tales como los receptores. En otros virus como los poxvirus y los reovirus, el proceso es más complejo. Los poxvirus pierden parte de su envoltura en las vacuolas fagocíticas, mientras que un RNA mensajero (RNAm) es sintetizado por una transcriptasa, que termina con la producción de una enzima nueva que completa la denudación. Los reovirus penetran en los lisosomas donde las enzimas proteolíticas eliminan la cápside, y promueven la transcripción del genoma.

Los fenómenos descritos (adsorción, penetración y denudación) finalizan con la desintegración de las partículas virales, pero no siempre el proceso progresa hasta la replicación viral. Si interrumpimos el ciclo en esta etapa llamada eclipse, el ácido nucleico liberado de sus envolturas puede recobrase por disrupción de la célula huésped, pero habría perdido su capacidad de infectar (algunos autores opinan que aún puede recobrase intacto). Si el proceso normal continúa, comienza la replicación del ácido nucleico y la síntesis de las proteínas estructurales y no estructurales, necesarias para la producción de virus.

Replicación del ácido nucleico

La replicación es un fenómeno muy heterogéneo porque existe mucha variedad de ácidos nucleicos de origen viral; los hay de DNA y de RNA, de una o dos hebras, segmentados o no, etc. Siempre el genoma viral es el elemento capaz de gobernar su auto-replicación, y de transmitir la información estructural y funcional a la progenie resultante de una infección. No obstante la diversidad señalada, en la replicación intervienen elementos comunes que vale la pena destacar, tales como la formación de un RNAm, capaz de traducir en el ribosoma celular las proteínas codificadas por el genoma viral. Además, sea cual sea el ácido nucleico, siempre se diferencian dos conjuntos de genes, los precoces y los tardíos. Los primeros serían los encargados de codificar proteínas necesarias para la copia de la molécula de ácido nucleico, y los tardíos serían los encargados de codificar las proteínas estructurales y las proteínas para el ensamblaje.

La replicación puede producirse en el núcleo o en el citoplasma de la célula, dependiendo del tipo de ácido nucleico que constituya el genoma viral. Los virus que contienen RNA se replican en el citoplasma, mientras que los que tienen DNA se replican en el núcleo; excepto el virus de la viruela, que aunque son virus DNA, su replicación se realiza en el citoplasma.

Los virus DNA sintetizan RNAm por medio de una polimerasa, y éste pasa al citoplasma donde se producirá la síntesis proteica. De estas proteínas algunas tienen funciones estructurales, y formarán los capsómeros que al unirse entre sí, constituirán la cápside. Otras proteínas tendrán funciones enzimáticas, de polímeros, y se introducirán en el ácido nucleico promoviendo la replicación del DNA viral. El tipo de replicación es semiconservativa, y los intermediarios replicativos serán lineales o cíclicos, dependiendo si la molécula de DNA es lineal o cíclica respectivamente.

Como ejemplo de virus DNA podemos citar al grupo de los herpesvirus, quienes pierden la cápside en el citoplasma, y penetran al núcleo iniciando la replicación del ácido nucleico. En el núcleo se realiza la síntesis de RNAm inducido por el virus, y encontramos enzimas relacionadas a la síntesis, y fragmentación del DNA. Los pasos biosintéticos descritos pueden relacionarse con el desarrollo de cuerpos de inclusión nucleares, y la formación de partículas virales.

Los virus RNA generan un interés especial, por la diversidad de formas de replicación que presentan; esto depende de que el RNA pueda actuar como mensajero,

lo que se denomina RNA de polaridad positiva. De lo contrario, al RNA que posea la secuencia de bases complementarias a las del RNAm, se le denomina de polaridad negativa.

Cuando consideramos un RNA con polaridad positiva, éste actúa como mensajero entrando en el ribosoma celular, e iniciando una traducción de polimerasas, necesarias para iniciar la replicación del ácido nucleico. Luego actuará la parte tardía del RNA traduciendo proteínas para la formación de la cápside, y ensamblaje de la partícula viral. Un ejemplo de este tipo de replicación son los poliovirus, que tienen como genoma un RNA de hebra única, con ácido poliadenílico en un extremo. Dicho ácido sirve inicialmente como molécula de RNAm, para la síntesis de replicasa de RNA. Se produce así, el intermediario replicativo de RNA, útil para la síntesis de moléculas de RNA virales de los descendientes. La replicación del RNA viral, es independiente de las síntesis de DNA de la célula huésped.

Por el contrario, si el RNA es de polaridad negativa, la molécula no tiene función mensajera, y por lo tanto sintetiza una molécula complementaria a la original con función mensajera, que entra al ribosoma. En este grupo de virus aparece un nuevo concepto en la estructura viral, porque para sintetizar una copia se necesita una transcriptasa RNA dependiente, que no se encuentra en las células. Por consiguiente, en estos virus además del genoma y las proteínas estructurales, son sintetizadas otras proteínas que luego serán incorporadas a la partícula viral.

Maduración y liberación

Hay virus cuya única cubierta es la cápside, virus desnudos, en oposición a los que poseen envoltura por fuera de la cápside, virus envueltos. Es conveniente considerarlos por separado en esta etapa, que es la finalización de la formación de una progenie viral.

Para los virus desnudos, el fenómeno de maduración consiste en la unión de los capsómeros para formar la cápside, y la posterior unión de ésta con el genoma. Parece existir una diferencia en la maduración de este grupo de virus, dependiendo si el ácido nucleico del genoma es DNA o RNA. Para los primeros, la síntesis del DNA se realiza con anticipación a la aparición de los elementos estructurales, mientras que para los segundos, se ha demostrado con aminoácidos radioactivos, que las cadenas polipeptídicas se reúnen rápidamente en capsómeros y éstos en cápside. Además se destaca que existe concordancia con la síntesis de la molécula de RNA.

La liberación en este grupo de virus depende mucho del tipo de virus, y de las características de la célula huésped. Los poliovirus son liberados rápidamente de las células HeLa o HEP-2; dicha liberación se realiza por rotura de vacuolas superficiales. En los virus DNA que maduran en el núcleo, el tiempo de liberación es mayor que en el ejemplo anterior, porque la liberación se produce por autólisis celular.

En los virus con envoltura, la maduración es más compleja (ver 1. 4). Además de la unión del ácido nucleico con la cápside, el virus debe rodearse de la envoltura. Luego de haberse formado la cápside, la partícula se aproxima a la membrana plasmática, se produce la evaginación de la membrana, y luego el desprendimiento del brote. El brotamiento puede ser explicado por relación entre las proteínas de la membrana plasmática y la nucleocápside. Generalmente, la liberación de la partícula se produce al finalizar el brotamiento de la membrana celular.

Alteraciones celulares producidas por infección viral

Las células pueden responder de diferentes formas ante una infección viral: sin alteración aparente; con efecto citopático, es decir muerte de la célula por lisis celular e hiperplasia como en los poxvirus; o solo con hiperplasia, como en la transformación viral en células malignas.

Efecto citopático

El efecto citopático consiste en alteraciones morfológicas de las células, que resultan en la muerte celular. Este efecto es diferente dependiendo el tipo de virus. En cultivos infectados con adenovirus, las células se redondean y se agrupan como un racimo de uvas. En cambio, las células infectadas con poliovirus también se redondean, pero se retraen y se lisan liberando muchos virus. El virus sincicial respiratorio, produce fusión de las membranas celulares, originando grandes sincicios.

Cuerpos de inclusión

Los cuerpos de inclusión son acúmulos intracelulares de material nuevo. Algunos se producen por acumulación de viriones o de subunidades virales no reunidas. Estos cuerpos de inclusión pueden romper la estructura celular, o cambiar la función y producir la muerte celular. Otros corpúsculos pueden desarrollarse en lugares donde existe síntesis viral, pero no tienen viriones detectables; por ejemplo los corpúsculos eosinófilos intranucleares en las células infectadas por virus del herpes simple.

Transformación celular

Algunos virus son productores de tumores o de leucemia. Pueden presentar muchos efectos en las células, como la estimulación de la síntesis de DNA celular (virus del polio), alteraciones de la superficie evidenciadas por especificidades antigénicas nuevas (distintas de aquellas pertenecientes a las subunidades de los viriones), aberraciones cromosómicas y alteraciones del crecimiento celular. Este cambio de una célula normal a una maligna, ha sido llamado transformación.

BIBLIOGRAFÍA

- Davis B, Dulbecco R, Ginsberg H. Microbiología. 3ra ed. Brasil, San Pablo: Harper and Row; 1985.
- Fields B, Knipe D. Virology 2ª ed. New York: Raven Press: 1990.
- Joklik WK, Willett H P, Amos DB, Wilgert CM, Zinsser editores. Microbiología. 20ª ed. BsAs: Panamericana; 1994.