

BIOLOGIA DE LOS VIRUS

Juan R. Arbiza

INTRODUCCION

Hasta fines del siglo XIX se había avanzado en la etiología de muchas enfermedades infecciosas, sin embargo, quedaban una gran cantidad de enfermedades en el hombre, animales y plantas sin identificar el agente causal. A lo largo del siglo XX se descubrieron a los virus como causantes de enfermedades infecciosas para las cuales no se había encontrado una bacteria, hongo o protozooario como agente responsable. Fue el desarrollo de nuevas técnicas como los cultivos celulares, el mejoramiento en microscopía y el advenimiento a fines del siglo XX de técnicas de Biología Molecular, que han permitido no sólo aislar e identificar agentes virales, sino además un avance extraordinario en el conocimiento a nivel molecular en detalle de la biología de los mismos.

A pesar de esto, parece ser que los virólogos tienen un doble desafío para el futuro: por un lado controlar los agentes virales que ya se conocen, para los cuales no existen drogas o vacunas efectivas hasta el momento, y además, aislar, identificar, caracterizar y controlar los agentes virales emergentes o reemergentes (HIV, Ebola, Hantavirus, etc.) que aparecen continuamente.

CARACTERISTICAS GENERALES

Las primeras características diferenciales de los virus con otros agentes 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 cultivos para bacterias), requiriendo para su propagación de animales o cultivos celulares. Hoy día se sabe que estas características no alcanzan para diferenciar a los virus de otros agentes biológicos, ya que existen bacterias cuyo tamaño puede ser similar al de los virus más grandes, y que otros agentes como **Chlamydia** y **Rickettsias**, también son parásitos intracelulares obligatorios.

La organización y composición de las partículas virales ofrecen por sí características diferenciales importantes con otros agentes.

Los virus poseen un solo tipo de ácido nucleico de tamaño relativamente pequeño 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 que por sí solos no son capaces de replicarse y requieren para su propagación y mantenimiento de células

animales, vegetales o bacterias para cumplir su ciclo de reproducción, lo que define su parasitismo celular obligatorio.

Además de su estructura tan simple y particular el modo de reproducción de los virus tal vez sea la característica que justifica que tengan un lugar propio en la escala biológica. A diferencia de lo que sucede con las células, en el momento de su multiplicación, los virus no aumentan de tamaño para su posterior división, por el contrario, la partícula viral es desintegrada y luego sintetizada en cada uno de sus componentes para luego reunirse por ensamblaje. Esta forma tan peculiar de multiplicación en la cual se producen réplicas del virus progenitor es conocida con el nombre de replicación viral, y diferencia claramente a este fenómeno del proceso de división celular utilizado por procariotas y eucariotas.

Se pueden citar como resumen dos definiciones de virus:

La primera, propuesta por Lwoff (1957), establece: "Entidad estrictamente celular y potencialmente patogénica con una fase infecciosa y, que posee:

1. un solo tipo de ácido nucleico,
2. incapaz de crecer y reproducirse por fisión binaria,
3. carente de enzimas para producir energía".

La segunda definición pertenece a Luria y Darnell (1967): "Los virus son entidades cuyo genoma son elementos de ácido nucleico que se replican dentro de células vivas usando la maquinaria de síntesis celular, determinado la formación de elementos especializados que permiten la transferencia del genoma viral a otras células".

Viroides

Son virus extremadamente simples constituidos por ARN circular de muy bajo peso molecular, sin cápside protectora. Producen enfermedades hasta el momento exclusivamente en plantas.

Provirus

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

Virus no convencionales, Priones.

Ciertos agentes de afecciones degenerativas del sistema nervioso central del hombre han sido clasificados como

virus no convencionales, ya que no ha sido posible determinar la presencia de estructura similar a virus en el material infectante ni el tipo de ácido nucleico de estos agentes. Son agentes extremadamente resistentes a sustancias que inactivan los virus comunes, y algunos 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 llamado scrapie en el ganado ovino y la encefalopatía espongiforme bovina BSE o comúnmente conocida como síndrome de la "vaca loca". En el hombre serían los agentes relacionados con la enfermedad de Creutzfeld-Jacob y Kuru. Estos agentes son estructuralmente más simples que los virus aun, pues estarían formados únicamente por proteínas. Cuando se descubrieron estos agentes, parecía que se podía producir una gran revolución en el conocimiento de la Biología ya que la idea de que una proteína pudiera autorreplicarse estaría en contradicción con el dogma central de que la información genética es transmitida en el sentido ácido nucleico a proteína. El hallazgo de los priones y el avance en el conocimiento de su biología podrán dilucidar probablemente 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 los virus comunes.

MORFOLOGIA Y ESTRUCTURA DE LOS VIRUS

TAMAÑO Y FORMA

La caracterización de los virus que han sido estudiados ha permitido observar la gran variedad en el tamaño y forma que estos poseen.

Es así, que se puede observar un tamaño entre 28 nm en los virus mas pequeños denominados precisamente picornavirus (pico de pequeño) hasta 300 nm en los virus más grandes que se conocen como son los poxvirus (Fig 1).

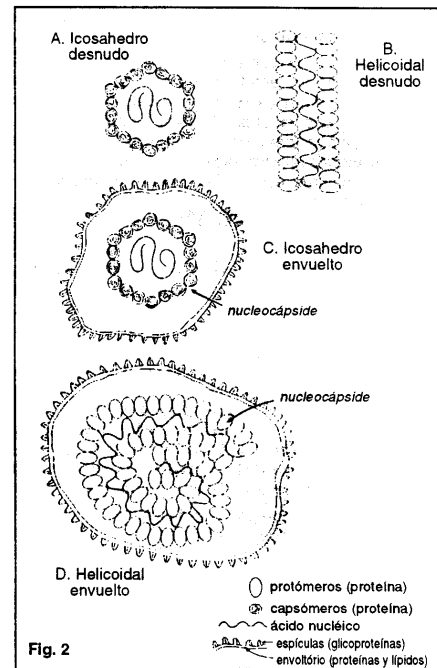
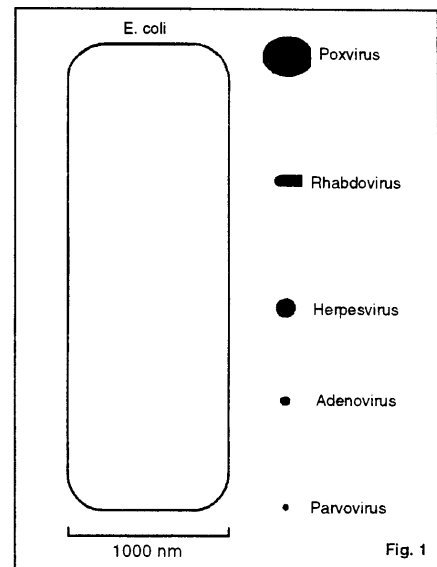
La forma es también muy variada entre los diferentes virus, pudiéndose observar formas icosaédricas o helicoidales en virus que no tiene envoltura por fuera de la cápside hasta formas esféricas, filamentosa o pleomórficas en los virus con envoltura o muy complejos como el virus de la rabia (Fig. 2 y 6).

ESTRUCTURA

Como ya se mencionó anteriormente la estructura de un virus está basada en su simplicidad, a pesar de esto existe diversidad, lo que es utilizado para la clasificación de los virus.

Virus desnudos: La estructura de los virus más simples está compuesta por un solo tipo de ácido nucleico (ADN o ARN) rodeado de una cáscara proteica que se denomina cápside (del griego *capsa* que significa caja) que resulta de la reunión de subunidades proteicas codificadas por el genoma viral que se ensamblan basados en principios geométricos y pueden determinar diferentes tipos de simetrías (icosahédrica o helicoidal, principalmente) (Fig. 2 y 3b). Esta estructura básica de ácido nucleico y cápside recibe el nombre de nucleocápside y constituye en los virus desnudos la partícula viral completa o virus que se diferencia del término virión el cual es utilizado para aquellas 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.

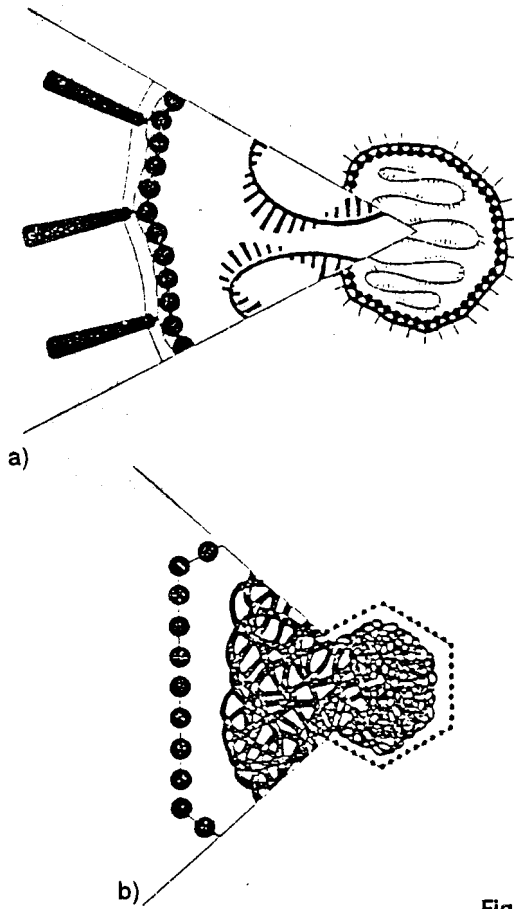


Fig. 3

Virus envueltos: La estructura de las partículas virales del grupo de virus denominados envueltos, está formada además de la nucleocápside por una envoltura que la rodea de origen celular (Fig. 2 y 3a), y que los virus envueltos obtienen en el proceso de liberación por brotamiento como se esquematiza en la Figura 4. En dicha envoltura se insertan glicoproteínas de origen viral que reciben el nombre de espículas o glicoproteínas de superficie y que tienen un importante papel de reconocimiento de receptores específicos de la superficie celular en el paso inicial de relación con la célula huésped para la mutiplicación viral.

Acidos 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 estructura un solo tipo de ácido nucleico ADN o ARN, pero la forma de estos puede ser de doble o simple cadena, segmentado o no, circular, lineal (Fig.5) determinando, pues, una gran diversidad, lo cual también es ampliamente

utilizado en la taxonomía viral.

En la Figura 6 se representa un cuadro con los principales virus animales, en el que se puede observar que la diversidad de estructura (con envoltura o sin ella, con simetría helicoidal o icosaédrica) y composición del ácido nucleico pueden combinarse de diferentes maneras para determinar varios grupos de virus.

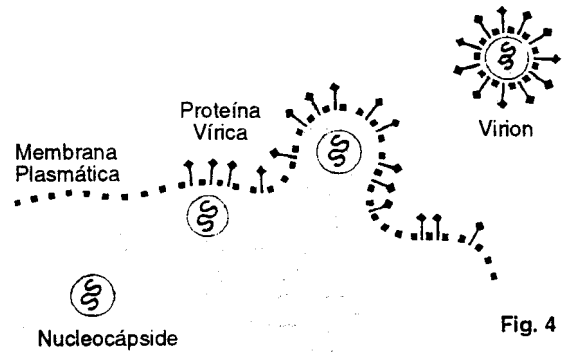


Fig. 4

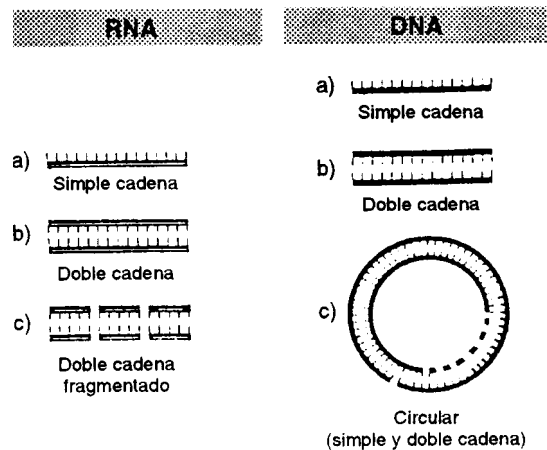


Fig. 5

MULTIPLICACION VIRAL

Una partícula viral puede encontrarse en dos estados: inactiva o activa. 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, aun 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

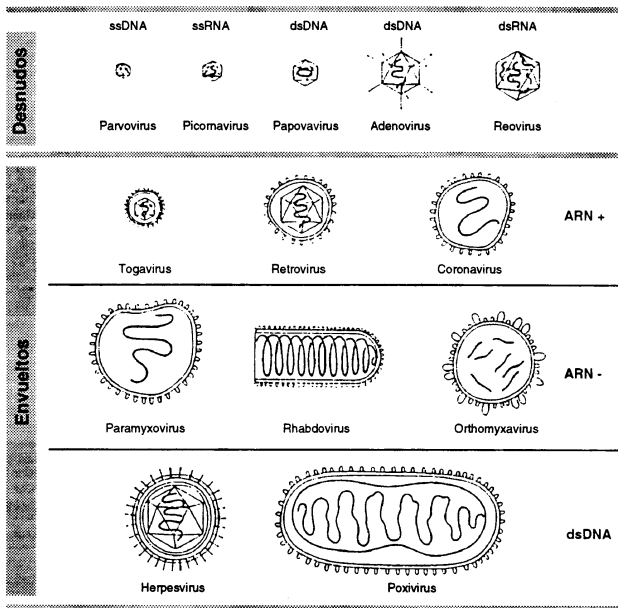


Fig. 6

el comando de la maquinaria enzimática de la célula huésped logrando así su replicación.

La multiplicación de los virus animales, vegetales y bacteriófagos resulta similar en sus principios pero, cada una de ellas tiene particularidades; esto basado principalmente en las diferencias entre las células que infectan.

El desarrollo del conocimiento sobre la multiplicación de los virus animales ha sido posible por la utilización en el laboratorio de varios 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 comúnmente usados, pero actualmente esto ha sido casi totalmente sustituido por cultivos celulares, que ha favorecido el conocimiento de las etapas de la multiplicación viral. Existe gran variedad de cultivos de células, ya sea en forma de cultivos primarios o como líneas celulares que pueden ser subcultivadas indefinidamente. Estas líneas se asemejan mucho a células transformadas debido a su gran potencial de crecimiento y a su aneuploidía. Se las usa corrientemente para aislar virus, pero no se las recomienda para la producción de vacunas virales humanas al menos, ya que los virus propagados en esas líneas pueden adquirir determinantes genéticos oncogénicos. Los cultivos primarios resultan de la dispersión de células diploides de un tejido por digestión enzimática de la sustancia intercelular, son poco recomendadas también para la producción de vacunas ya que pueden tener virus latentes propios de la especie de la cual provienen. Los embriones de gallina y sus anexos siguen siendo bastante utilizados ya que ofrecen diferentes tipos celulares, a los que se puede llegar por diferentes vías (intramniótica, intralantoidea, en saco de yema, etc.).

INFECCION VIRAL

A un tipo de infección viral productiva se contraponen una forma abortiva. Esta cumple un ciclo incompleto en el cual no se forman partículas virales infecciosas.

Una infección productiva culmina con la generación de una progenie viral infecciosa; este proceso requiere una serie de pasos o etapas, las cuales tienen diferencias en los distintos tipos de virus. Las etapas fundamentales de la infección viral son:

- **Adsorción**
- **Penetración**
- **Denudación**
- **Eclipse**
- **Replicación**
- **Maduración**
- **Liberación**

1. Adsorción

Intervienen varios factores. Hay una atracción por fuerzas iónicas. A pH 7 los virus y las células tienen cargas negativas de modo que es necesario la presencia de iones positivos, cumpliendo muy eficazmente este requerimiento 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 polio sólo puede crecer en células de origen humano y de primates. Otros virus presentan estructuras especializadas en su superficie que les permiten cumplir con esta etapa de forma muy especializada. Estas estructuras son glicoproteínas las cuales reconocen receptores celulares específicos y se pueden aislar hoy día esos elementos en forma de complejos virus-célula.

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 altas concentraciones salinas o detergentes, y los mixovirus (virus de gripe) que utilizan una estructura especializada se separan de las células hospederas por acción de la neuraminidasa.

2. Penetración

La penetración de los virus una vez adsorbidos, puede realizarse de varias maneras (Fig. 7):

a. Por viropexis

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

b. Por penetración

En algunos, la penetración acontece por un simple cruce de

la membrana plasmática, así la partícula viral queda directamente incluida en el citoplasma.

c. Por 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.

3. Denudación y eclipse

En esta etapa se produce la desintegración del virus, dejando libre al ácido nucleico, que comanda su propia replicación y la de las proteínas necesarias para integrar nuevas partículas. La forma en que un virus pierde la cápside y su envoltura, en el caso de tenerla, es característico de cada grupo de virus. 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, en tanto que un ARNm es sintetizado por una transcriptasa lo que culmina con la producción de una nueva enzima que completa la denudación. Los reovirus penetran en los lisosomas: allí enzimas proteolíticas eliminan la cápside y promueven la transcripción del genoma.

Los fenómenos descritos (adsorción, penetración y denudación) culminan con la desintegración de las partículas, 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

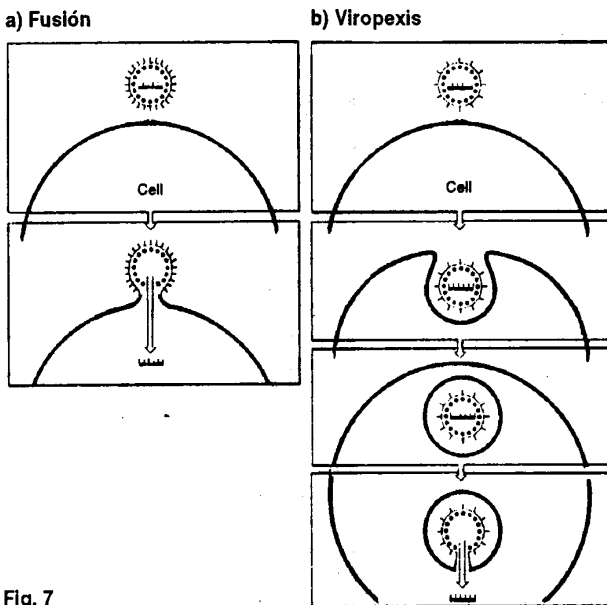


Fig. 7

habría perdido su infectividad (a pesar que algunos autores opinan que aún puede recobrase intacto). Si el proceso normal continúa, comienza la replicación del ácido nucleico y síntesis de las proteínas estructurales y no estructurales

necesarias para la producción de virus.

4. Replicación del ácido nucleico

La replicación es un fenómeno muy heterogéneo por cuanto existe mucha variedad en los ácidos nucleicos de origen viral; se recordará que hay ADN y ARN muy diferentes, de una o dos hebras, segmentados o no, etc. En todos los casos, el genoma viral es el elemento capaz de gobernar su autorreplicación y de transmitir la información estructural y funcional a la progenie resultante de una infección. No obstante, la diversidad señalada, intervienen en la replicación elementos comunes que vale la pena destacar, tales como la formación de un ARN mensajero 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 encargados de codificar proteínas estructurales y proteínas para el ensamblaje.

La replicación puede producirse en el núcleo o en el citoplasma de la célula, y eso dependerá del tipo de ácido nucleico que constituye el genoma viral. Los virus que contienen ARN se replican en el citoplasma, mientras que aquellos que tienen ADN se replican en el núcleo, excepto en el caso del grupo del virus de la viruela, que a pesar de tener ADN su replicación se realiza en el citoplasma.

Los virus ADN sintetizan un ARN mensajero por intermedio de una polimerasa que pasa al citoplasma donde se producirá la síntesis proteica; de estas proteínas algunas tienen funciones estructurales y formarán los capsómeros que al unirse constituirán la cápside. Otras proteínas tendrán funciones enzimáticas, de polímeros, y se introducirán en el ácido nucleico promoviendo la replicación del ADN vírico. El tipo de replicación es semiconservadora, y los intermediarios replicativos, serán lineales o cíclicos dependiendo de que la molécula de ADN sea lineal o cíclica respectivamente.

Como ejemplo de virus ADN podemos citar al grupo de los herpesvirus, quienes en el citoplasma pierden la cápside y penetran al núcleo iniciando la replicación del ácido nucleico. Hay síntesis de ARN mensajeros inducidos por el virus, enzimas relacionadas a la síntesis y quiebra de ADN. Los pasos biosintéticos descritos pueden relacionarse con el desarrollo de cuerpos de inclusión nucleares y la formación de partículas virales.

Los virus con ARN revisten un interés especial por la diversidad de formas de replicación que existen: esto depende de que ARN pueda actuar como mensajero y se le denomina convencionalmente de polaridad positiva o, por el contrario, que posea una secuencia de bases

complementarias del mensajero y se le denomina de polaridad negativa.

Cuando consideramos un ARN con polaridad positiva, el ARN actúa como mensajero, entrando en el ribosoma celular e iniciando una traducción de proteínas polimerasas, necesarias para iniciar la replicación del ácido nucleico, luego actuará la parte tardía del ARN 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 ARN de hebra única, con ácido poliadenílico en un extremo que sirve inicialmente como molécula de ARN mensajero para la síntesis de replicasa de ARN, produciéndose el intermediario replicativo de ARN que sirve para la síntesis de moléculas de ARN virales de los descendientes. La replicación del ARN viral es independiente de las síntesis de ADN de la célula hospedadora.

En el caso de ARN con polaridad negativa, por el contrario, la molécula no tiene función mensajera, de modo que sintetiza una molécula complementaria de la original para poder esta copia entrar en el ribosoma con función mensajera. En este grupo de virus, aparece un nuevo concepto en la estructura viral, ya que para sintetizarse la copia se necesita una ARN transcrita ARN dependiente que no se encuentra en las células y, por consiguiente, vemos que en estos virus además de su genoma y proteínas estructurales son sintetizadas otras proteínas que luego son incorporadas a la partícula viral.

5. Maduración y liberación

Hay virus cuya única cubierta es la cápside, son virus desnudos, en contraposición a aquellos que poseen envoltura por fuera de la cápside que son los virus envueltos. Es conveniente considerarlos por separado en este punto que significa la culminación en la formación de una progenie viral.

Para los virus desnudos, el fenómeno de maduración consiste simplemente en la unión de los capsómeros para formar la cápside y la posterior unión de esta con el genoma. Parece existir una diferencia en la maduración de este grupo de virus dependiendo de que el ácido nucleico sea ADN o ARN.

Para los que tiene ADN, la síntesis del ADN se realiza con anticipación a la aparición de elementos estructurales, mientras que para los virus ARN se ha demostrado con aminoácidos radioactivos que las cadenas polipeptídicas son reunidas muy pronto en capsómeros y rápidamente estas en cápsides, y que existe concordancia con la síntesis de la molécula de ARN.

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; la liberación se realiza por rotura de vacuolas superficiales.

En los virus ADN que maduran en el núcleo, el tiempo de liberación es mayor que el ejemplo anterior, ya que la liberación se lleva a cabo por autólisis celular.

En los virus que poseen envoltura, la maduración es más compleja (Fig. 4), ya que 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, produciéndose la evaginación de la membrana con el posterior desprendimiento del brote. El brotamiento puede ser explicado por una relación entre las proteínas de la membrana plasmática y la nucleocápside. Por lo general, la liberación de la partícula se da al culminar el brotamiento de la membrana celular.

ALTERACIONES CELULARES PRODUCIDAS POR INFECCION VIRAL

Las células pueden responder de varias formas frente a una infección viral:

1. no se observa ninguna alteración aparente,
2. efecto citopático, es decir muerte de la célula por lisis celular, hiperplasia, seguida de muerte, como en el caso de los poxviurs,
3. solamente hiperplasia como la transformación viral para células malignas.

1. Efecto citopático

El efecto citopático consiste en alteraciones morfológicas de las células teniendo como resultado la muerte celular. El efecto citopático es muy diferente debido al tipo de virus. En cultivos infectados con adenovirus, las células se redondean y se agrupan como un racimo de uvas, los poliovirus también se redondean pero se retraen y se lisan, liberando mucha cantidad de virus. El virus respiratorio sincicial, produce la fusión de membranas celulares dando como resultado grandes sincicios.

2. 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. Esos cuerpos de inclusión pueden romper la estructura celular o cambiar la función de tal modo que produce la muerte celular. Otros corpúsculos pueden desarrollarse en sitios de antiguas síntesis virales pero no contienen viriones detectables, son ejemplos los corpúsculos eosinófilos intranucleares en células infectadas por virus del herpes simple.

3. Transformación celular

Una alteración resultante de ciertos virus es la producción de tumores o de leucemia. Dichos virus pueden presentar varios efectos sobre las células: estimulación de síntesis de ADN celular (virus del poliovirus), alteraciones de superficie que pueden ser evidenciadas por nuevas especificidades antigénicas (distintas de aquellas pertenecientes a las subunidades de los viriones); aberraciones cromosómicas, y alteraciones de las propiedades de crecimiento de las células. El cambio de una célula normal a una célula maligna ha sido llamado transformación.

Los esquemas y figuras de este trabajo fueron diseñados por el autor o extraídos y modificados de libros consultados que se detallan a continuación:

BIBLIOGRAFIA CONSULTADA

- Celia Coto y Ramón A. de Torres. NATURALEZA Y ESTRUCTURA DE LOS VIRUS ANIMALES. Serie Virología. Edigem S.A. Argentina.**
- S.E. Luria, J.E. Darnell, D. Baltimore and A. Campbell. GENERAL VIROLOGY. John Wiley-Sons. New York.**
- Bernard Davis, Renato Dulbecco, Harold Ginsberg. MICROBIOLOGIA DE DAVIS. Volumen VIROLOGIA. Harper and Row. San Pablo, Brasil.**
- Robert G. Webster, Alan Granoff. ENCYCLOPEDIA OF VIROLOGY. Volúmenes 1, 2 y 3. Academic Press.**
- Bernard Fields, David Knipe. VIROLOGY. Volúmenes 1 y 2. Raven Press. New York.**
- W. Joklik, H. Willett, B. Amos, C. Wilfert. ZINSSER MICROBIOLOGIA. Ed. Médica Panamericana. Buenos Aires, Argentina.**