RESUMEN DE LA CLASE TEÓRICA "LATENCIA VIRAL"
Prof. Dr. Norberto Sanjuan

Las infecciones virales pueden ser clasificadas en agudas, crónicas y latentes (dejando de lado aquellas que inducen transformación celular). En las agudas hay replicación viral y una respuesta inmune celular y humoral que, de acuerdo a la rapidez y eficiencia con que se desarrolle, podrá revertir la infección o no. En las infecciones crónicas hay replicación viral a bajos títulos y una respuesta inmune existente pero incapaz de terminar de erradicar la infección. Por último, en las latentes, que es el tema que nos compete hoy, **NO HAY** replicación viral (el genoma viral se encuentra circularizado y en forma episomal pero no se sintetizan proteínas aunque sí algunos transcriptos) y SÍ existe una respuesta inmune eficiente, tanto mediada por linfocitos T CD8+ como por anticuerpos neutralizantes. Justamente por eso, la "latencia" es un mecanismo de evasión empleado por el virus.

Los únicos virus que provocan infecciones latentes pertenecen a la familia Herpesviridae. Un virus es clasificado dentro de esta familia por su ultraestructura y por su cualidad de provocar infecciones latentes. Los miembros de esta familia son los virus Herpes simplex (del tipo 1 y del tipo 2), el virus Varicela-Zóster, el Citomegalovirus, el Epstein-Barr, el Herpes Humano 6 (HHV-6) A y B, el Herpes Humano 7 (HHV-7) y el Herpes Humano 8 (HHV-8). Todos ellos tienen una ultraestructura similar compuesta por una envoltura que contiene espículas, por dentro de ella una zona amorfa denominada "tegumento" y finalmente una nucleocápside icosaédrica con DNA de doble cadena. Esta familia de virus es la única que tiene un "tegumento" que es una zona amorfa fbrilar compuesta por varios péptidos. Los genomas de los distintos tipos de Herpes también tienen 2 características en común: físicamente están compuestos por un fragmento "Único Largo" y un fragmento "Único Corto" flanqueados, cada uno de ellos, por secuencias palindrómicas (es decir, repetitivas pero inversas) que hacen que durante la latencia el DNA viral pueda circularizarse y permanecer en forma episomal. La segunda característica compartida es que hay 3 tipos de genes en cualquiera de los virus Herpes: inmediatamente tempranos (del idioma inglés "IE"), tempranos ("E") y tardíos ("L") o, como también se los denomina, "alfa", "beta" y "gamma", respectivamente. Los Alfa son críticos porque, una vez transcriptos inducen la transcripción de los Beta y de los Gamma, activando así al genoma viral completo en forma irreversible. Los Beta se transcriben antes de la duplicación del DNA viral y los Gamma codifican péptidos estructurales virales. La expresión de estos 3 grupos de genes se da "en cascada", es decir, los Alfa activan a los Beta y luego a los Gamma, mientras que estos últimos regulan negativamente a los Alfa.

Ahora desarrollaremos las características más importantes de cada uno de estos virus, tomando como paradigma al mejor conocido de los mismos, el Herpes simplex.

VIRUS HERPES SIMPLEX

Tienen las características de la familia ya mencionadas arriba. Las glicoproteínas más importantes presentes en la envoltura son gB, gC y gD porque interactúan con un receptor celular (una variante del heparán sulfato) y con 3 co-receptores. También importa la gG, ya que es distinta la del tipo 1 con la pertenciente al Herpes simplex del tipo 2, permitiendo de esta forma titular anticuerpos específicos para uno u otro de estos dos virus, por ELISA. En este virus, de las varias proteínas del tegumento, la importante es VP-16 ya que ella regula el inicio del ciclo de replicación viral. Cuando el virus

reconoce al receptor celular a través de sus glicoproteínas de envoltura, esta se fusiona con la membrana plasmática y, lo que penetra al citoplasma es la nucleocápside por un lado y las proteínas del tegumento por otro. Ambos componentes migran al núcleo celular en forma independiente, es decir las nucleocápsides quedan en el borde de la envoltura nuclear y sólo entra al núcleo el DNA viral, mientras que los péptidos del tegumento migran solos y de manera independiente a las cápsides. La proteína VP-16 (del tegumento) interactúa con una proteína celular denominada "HC" y con otra denominada "Oct-1". Este trímero migra al núcleo celular donde, a través de VP-16 interactúa con los genes IE alfa 0 y alfa 4, disparando la replicación del DNA viral y su expresión en mensajeros y en proteínas que luego ensamblarán y formarán nuevas nucleocápsides. Estas adquirirán la envoltura, primero de la membrana nuclear de la célula, y luego de la membrana plasmática, es decir, va cambiando la composición de la envoltura a medida que el virus madura. Finalmente los viriones abandonan las células por brotación, provocando un marcado efecto citopático (redondeamiento celular, formación de sincicios, formación de núcleos en "vidrio esmerilado", etc.

La patogenia, tanto del herpes labial como del genital es que la primoinfección viral ocurre por microtraumas presentes en las semimucosas y por contacto directo de persona a persona. El virus replica inicialmente, por ejemplo, en el labio (aunque no necesariamente con vesículas macroscópicamente visibles sino microscópicas) y luego entra por un terminal axónico y migra como nucleocápsides hacia el núcleo de la neurona a la que pertenece ese axón que, en el caso de un herpes labial, está ubicada en el ganglio de Gasser, y en el caso de uno genital, en algún ganglio de la raíz posterior de los nervios raquídeos. Al llegar allí sólo está presente el DNA viral, circularizado y NO integrado al genoma celular, es decir, en forma episomal. En ese momento comienza la **infección latente.**

Durante la latencia los únicos transcriptos detectables son 3 moléculas de RNA -de bajo peso molecular y que no tienen polaridad de mensajeros-, denominados LATs ("Latency-Associated-Transcripts"). Los LATs también se sintetizan durante el ciclo lítico pero, en cambio, son la **única** expresión del genoma viral durante la latencia; de allí su nombre. Los LATs son codificados por la cadena de DNA viral complementaria a alfa 0 y a alfa 4, lo que tendría implicancias en el fenómeno de latencia, según algunos autores. Los LATs también intervienen inhibiendo la apoptosis neuronal, determinando en parte el tropismo de los virus Herpes simplex 1 y 2 (por ejemplo las quimeras entre ambos virus, si son hechas con los LATs hacen que el virus del tipo 2 se comporte como el del tipo 1 y viceversa) y muy recientemente se identificó en su secuencia un "Micro RNA" como se verá más adelante. Otros genes de importancia son el TK (por "Timidina Kinasa") que favorece la neurovirulencia y es sobre el que actúa la droga antiviral "aciclovir", y el GRE ("elemento de respuesta a los glucocorticoides"). Este último importa porque está ubicado muy cerca de uno de los orígenes de replicación del genoma viral. Si una molécula del receptor de glococorticoides llega al núcleo celular acoplada a su ligando e interactúa con el "GRE", entonces, de alguna forma esta secuencia de DNA viral le "ordena" al genoma viral "replicar" y se produce un aumento en el número de viriones. Esta sería la explicación molecular de por qué **NO** se deben administrar glucocorticoiodes en pacientes infectados con Herpes simplex.

¿Cómo se explica la "latencia" a nivel molecular?: 1. Inicialmente se planteó que, dado que los LATs están codificados en la cadena anti-complementaria de alfa 0 y alfa 4, su síntesis actuaría como anti-mensajeros de esos genes esenciales para comenzar la replicación del DNA viral. Esa explicación cayó en desuso hasta que el año pasado se encontró que dentro de la secuencia de los LATs hay un "Micro RNA". Los "Micro RNAs" son secuencias de 20-23 pares de bases con polaridad anti-mensajero. Son

frecuentes en las células eucarióticas y, como los virus evolucionaron a partir de esas células, también se los ha encontrado en **TODOS** los Herpes. Es decir, la teoría de la "anti-complementariedad" vuelve a tener vigencia.

2. Hay proteínas celulares (sobre todo en las neuronas) que inhiben al complejo VP16-HC-Oct-1 para pasar al núcleo e inducir la transcripción de los genes IE alfa 0 y alfa 4, haciendo que, entonces, el DNA viral no se pueda transcribir. Una de esas proteínas fue encontrada en 2005 en cultivos de neuronas humanas y se la denominó **"Zanghfei"** (el autor de estas líneas ruega que no le pregunten el por qué de ese nombre).

3. La existencia de "Micro RNAs" anti-mensajeros que inhiben la traducción de proteínas virales esenciales para la replicación del genoma viral.

4. Fenómenos "epigenéticos". Se entiende por "Epigenética" al estudio de la regulación de la expresión génica más allá de los controles transcripcionales, traduccionales o post-traduccionales (glicosilación, fosforilación, etc). Se trata de una idea basada en el estado del viejo concepto de "cromatina". Brevemente, esa "cromatina" (formada por DNA asociado a Histonas) puede estar "activa", cuando está "relajada" porque sus Histonas han sido acetiladas, o "inactiva", cuando sus Histonas no están acetiladas y, en consecuencia, adquiere una estructura conformacional "condensada" y no permite la expresión de los genes contenidos en ella.

Hoy existe una marcada expansión de ideas acerca de la "latencia" viral, como no ha ocurrido en los últimos 20 años, pero todavía sin un criterio único.

De cualquier manera, **LO QUE TODAVÍA SE DESCONOCE ES LA BASE MOLECULAR DEL FENÓMENO DE REACTIVACIÓN VIRAL**. Es decir, los médicos sabemos que si un paciente está infectado por el virus Herpes simplex-1, por ejemplo, a nivel labial, y ese paciente se somete a la radiación ultravioleta (toma sol), padece una extracción dentaria lo que lleva a una neurectomía (o sea que se le amputa el filete nervioso inervante del sector), o recibe frío o calor local, o está influenciada por cambios hormonales (ciclo menstrual) o está sometido/a a "stress" psicológico, el virus Herpes simplex se reactiva y provoca una infección productiva en el mismo sitio por donde entró (labial, cutáneo, oftálmico, genital, etc). Estas son observaciones clínicas viejísimas. Lo que no sabemos es de qué manera un estímulo inespecífico provoca un mensaje molecular que haga que los genes Alfa, en estado latente, comiencen a transcribir e induzcan a la expresión de los genes Beta y Gamma, produciendo subunidades virales que luego migrarán por vía intra-axonal hasta el epitelio, donde se producirán partículas virales infectivas. A esto lo denominamos "reactivación" o, mejor aún **"RECURRENCIA"**, que puede darse en forma periódica o no ocurrir nunca, aunque el paciente esté infectado. Esporádicamente el virus puede recurrir hacia los lóbulos temporales, a través de los nervios tentoriales y provocar una encefalitis herpética, que es la encefalitis esporádica más común entre los adultos inmunocompetentes. En este caso, la infección en la sustancia gris de los lóbulos temporales es productiva, no latente, y este episodio puede ser mortal o dejar al paciente conserias secuelas neurológicas.

VIRUS VARICELA-ZOSTER

1. CARACTERÍSTICAS GENERALES: Las de la familia Herpesviridae. Hay un solo serotipo del virus. No es fácilmente cultivable. Dejan inmunidad de por vida.
2. INFECCIÓN PRODUCTIVA: Ingreso por vía inhalatoria a través de las gotas de Pflügge. Posterior replicación en la faringe. Luego, una primera viremia corta

cuando alcanza a los órganos del sistema retículo-endotelial. Más tarde una segunda viremia donde alcanza a la piel y replica en la epidermis formando vesículas que están repletas de virus (esto puede ocurrir en dos "oleadas" cuyas características se verán en los módulos de "Microbiología Médica").

3. LATENCIA: Ocurre tanto en las neuronas de los ganglios raquídeos como en las células satelitales (esto último está en discusión). Durante la latencia se expresan varios "ORFs", es decir "marcos abiertos de lectura ú "Open Reading Frames", es decir que en este caso es posible que se sinteticen proteínas.
4. REACTIVACIÓN: Ocurre como consecuencia (ahora sí) de episodios de inmunodepresión transitoria o debidos a leucemias, linfomas, etc. El virus migra por los axones de los nervios raquídeos y provoca lesiones productivas en las metámeras que estos inervan provocando el cuadro clínico de "Zóster", al que comúnmente se le llama "culebrilla" que, de hecho, está liberando al virus de la varicela.
5. Los demás contenidos están en el "Power point" preparado para la clase y depositado en la página Web del Departamento.

CITOMEGALOVIRUS Y VIRUS EPSTEIN-BARR

Toda la información esencial para entender estos temas está expresada en las filminas de la clase.

HERPESVIRUS HUMANOS 6 Y 7 (HHV-6 y HHV-7)

Ambos son muy "ubicuos", es decir, están ampliamente diseminados en la población general, causando latencia en linfocitos T periféricos. El HHV-6 es el agente causal del "exantema súbito" enfermedad muy común en niños pequeños que será tratada en los módulos IV y V) aunque también fue asociado a linfomas, a transmisión materno-fetal, a integración de su genoma con el genoma de los telómeros celulares y al "síndrome de fatiga crónica", así como a algunos linfomas. Nada de todo esto (con excepción de la "sexta enfermedad" o "exantema súbito" parece tener consistencia.

El HHV-7 estaría relacionado con la etiología de la "Pitiriasis Rosada de Gibert", enfermedad exantemática que produce un eritema con picazón (prurito) y descamación y que dura más o menos un mes o hasta 40 días. No se ha establecido todavía una relación etiológica. Hace latencia también en linfocitos T periféricos.

HERPESVIRUS HUMANO 8 (HHV-8)

Es un virus que se descubrió aplicando una ingeniosa técnica de PCR sobre tejidos de sarcomas de Kaposi, con cuya etiología está asociado. Las características básicas de este virus son aquellas de la familia Herpesviridae. Aparte, tuvo evolutivamente la capacidad de hacer lo que se definió irónicamente como "piratería genética", es decir, incorporó en su genoma un gen casi idéntico al que regula la expresión de Ciclina D en la célula eucariótica, otro relacionado con la inhibición de la apoptosis celular y un tercero (por poner solamente un ejemplo) que codifica para IL-6. Este virus se transmite por vía sexual en conjunto, probablemente, con el HIV y no por vía percutánea, de allí su

epidemiología particular. Y de manera sinérgica con el HIV está asociado a la inducción del sarcoma de Kaposi que, antes de la era del SIDA constituía una neoplasia muy infrecuente, pero que luego del descubrimiento del HIV forma parte de uno de sus componentes clínicos.