

# Teórico

## Mecanismos de evasión viral a la respuesta inmune

José Raúl Oubiña  
Cátedra I de Microbiología y Parasitología  
Facultad de Medicina. UBA.

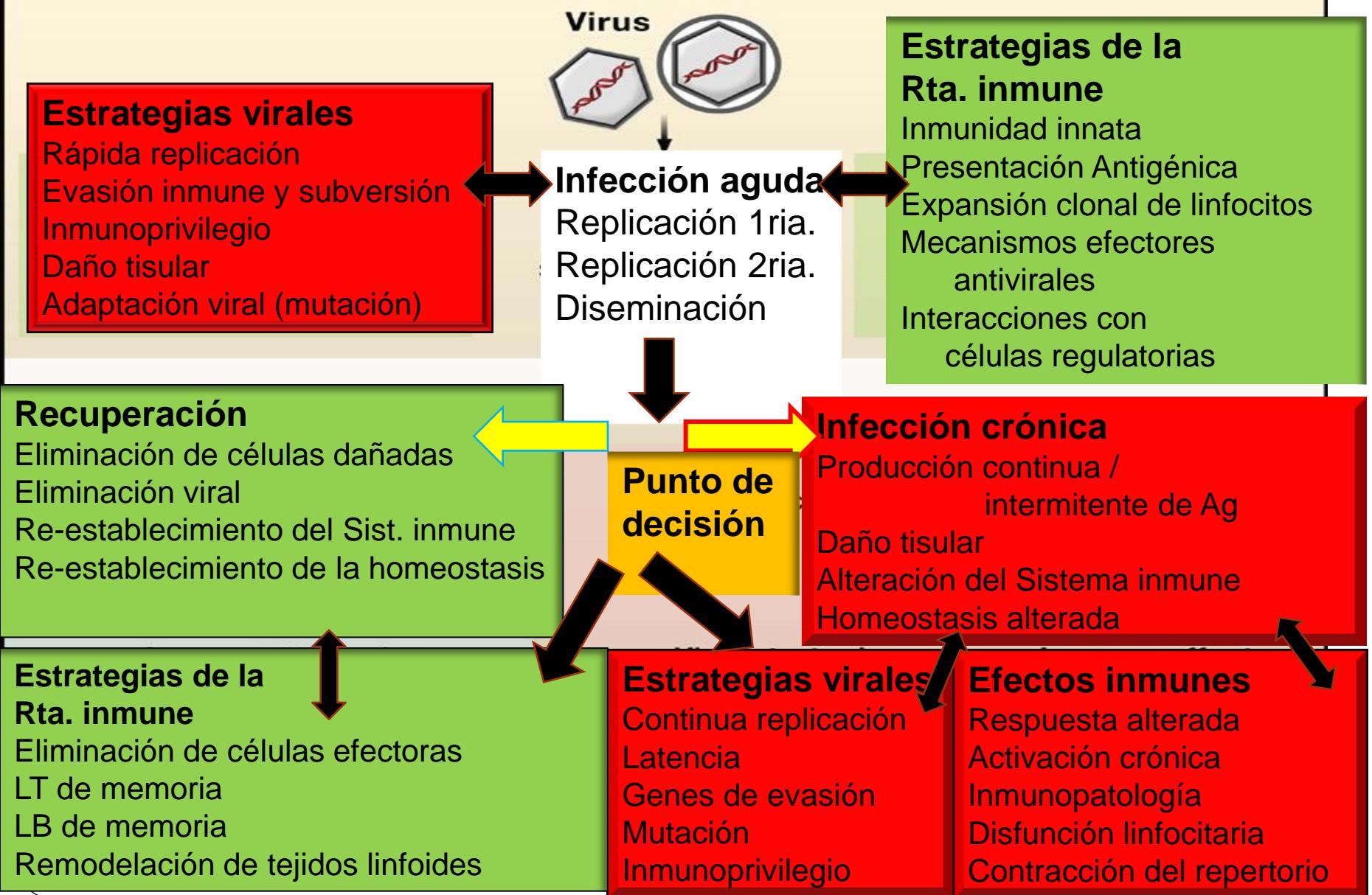
# Objetivos

- Conocer los mecanismos generales de evasión a la respuesta inmune de los virus a DNA y RNA
- Asociar virus que promueven estrategias similares
- Inferir algunos mecanismos comunes de evasión asociados a las infecciones persistentes

# Contenidos

- Mecanismos generales: evitar el reconocimiento y afectar los mecanismos de defensa.
- Diversidad y variabilidad genética y antigénica.
- ¿Cómo hacen los virus para evitar el reconocimiento mediante la variabilidad / diversidad?
- ¿Cómo hacen los virus para afectar la respuesta inmune del hospedador?
- Algunos ejemplos: HSV, EBV, HIV, HCV, HPV, sarampión, rabia, Ébola.
- Conclusiones

# Un momento de decisión...



# Estrategias virales de evasión a la respuesta immune



# El primer paso para una buena defensa



...es descubrir la  
presencia del enemigo!

# Una visión global...

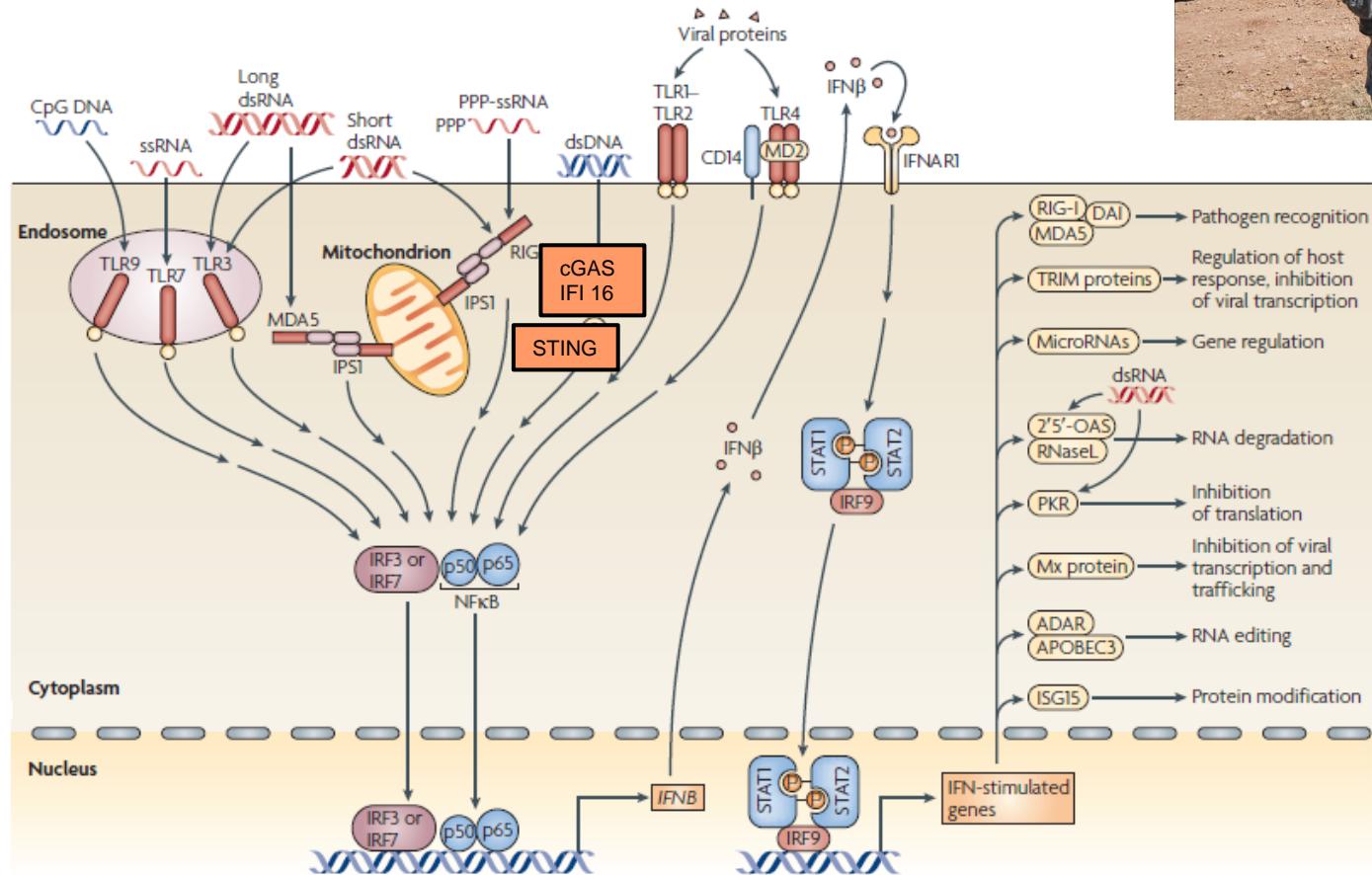
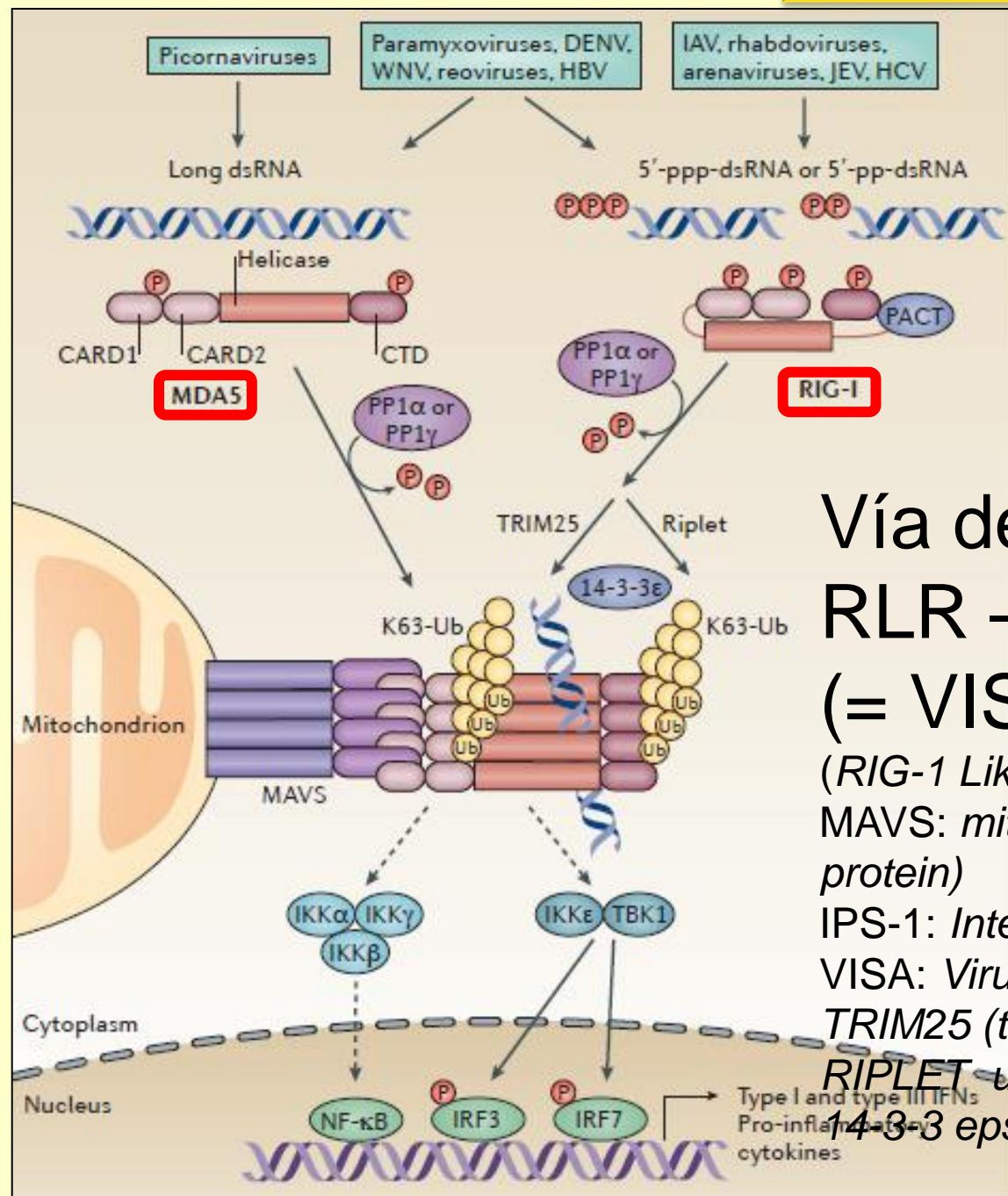


Figure 1 | Activation of the interferon response triggered by the detection of viral pathogen-associated



# Vía de señalización RLR – MAVS (= VISA = IPS-1)

(*RIG-1 Like Receptors*

MAVS: *mitochondrial antiviral signaling protein*)

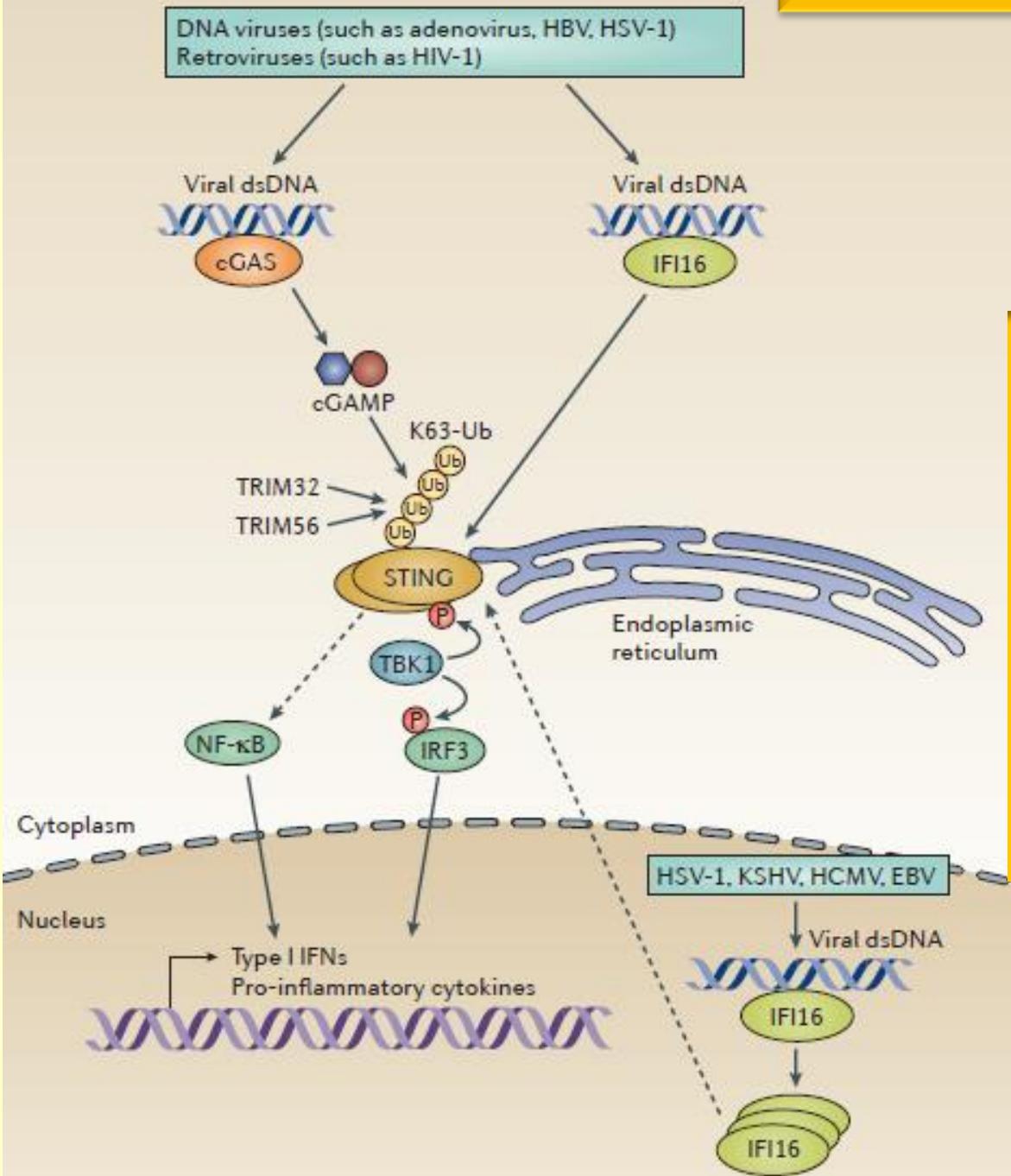
IPS-1: *Interferon promoter stimulator -1;*

VISA: *Virus inducing signaling adaptor*)

TRIM25 (*tripartite motif protein 25*) y

*RIPLET* – ubiquitino-ligasas.

14-3-3 epsilon: chaperona



Señalización antiviral mediada por **cGAS** e **IFI-16** (desde citoplasma) a través de **STING**

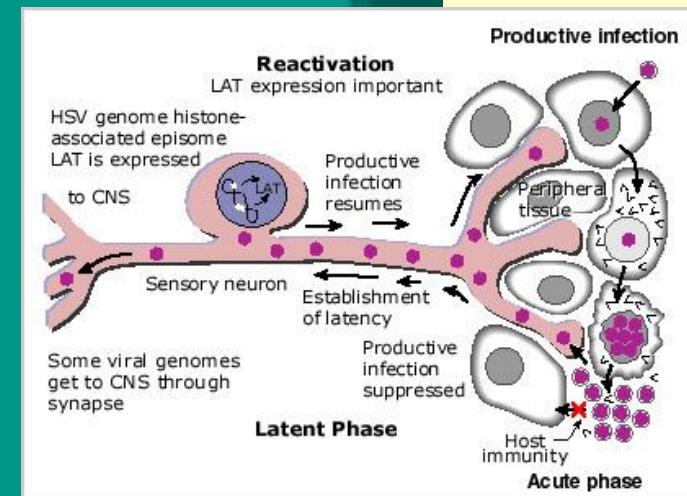
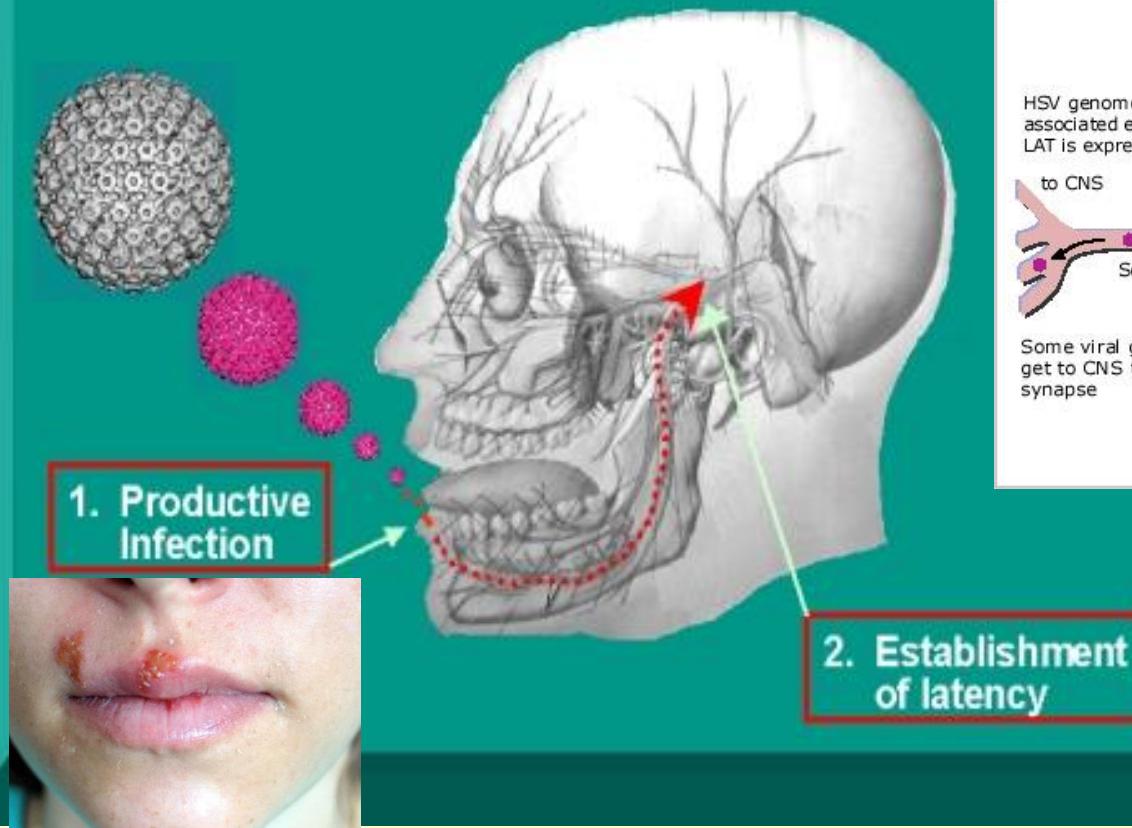
cGAS: cyclic GMP-AMP synthase  
 STING: Stimulator of Interferon genes  
 IFI16: interferon gamma inducible protein 16

# Detección viral: síntesis

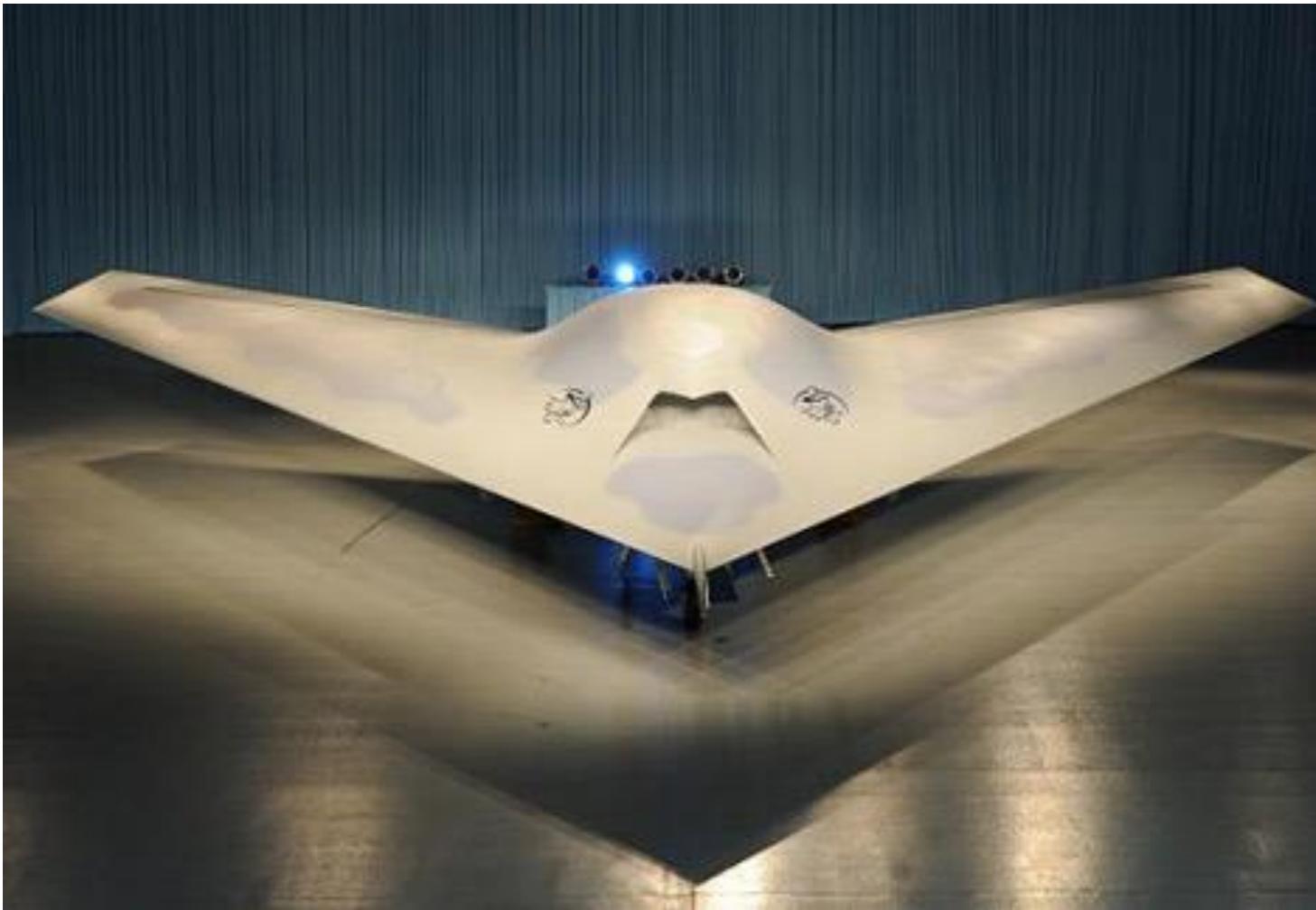
Molécula(s)	Sensores citoplasmáticos de RNA: helicasas	Sensores en citosol (c) y en núcleo (n) de RNA / DNA
Sensoras	RIG-1 y MDA-5	cGAS (c) e IFI16 (c / n)
Intermediaria principal	MAVS (= VISA = IPS-1) <i>en mitocondria</i>	STING <i>en RER</i>
Factores de transcripción	IRF-3 e IRF-7 NFkB	IRF-3 NFkB
Efectoras	IFN tipo I y III	IFN tipo I

# Expresión génica restringida reversible (latencia): otra forma de intentar evitar algunos efectores del sistema inmune...

## HSV life cycle: Establishment of latency.

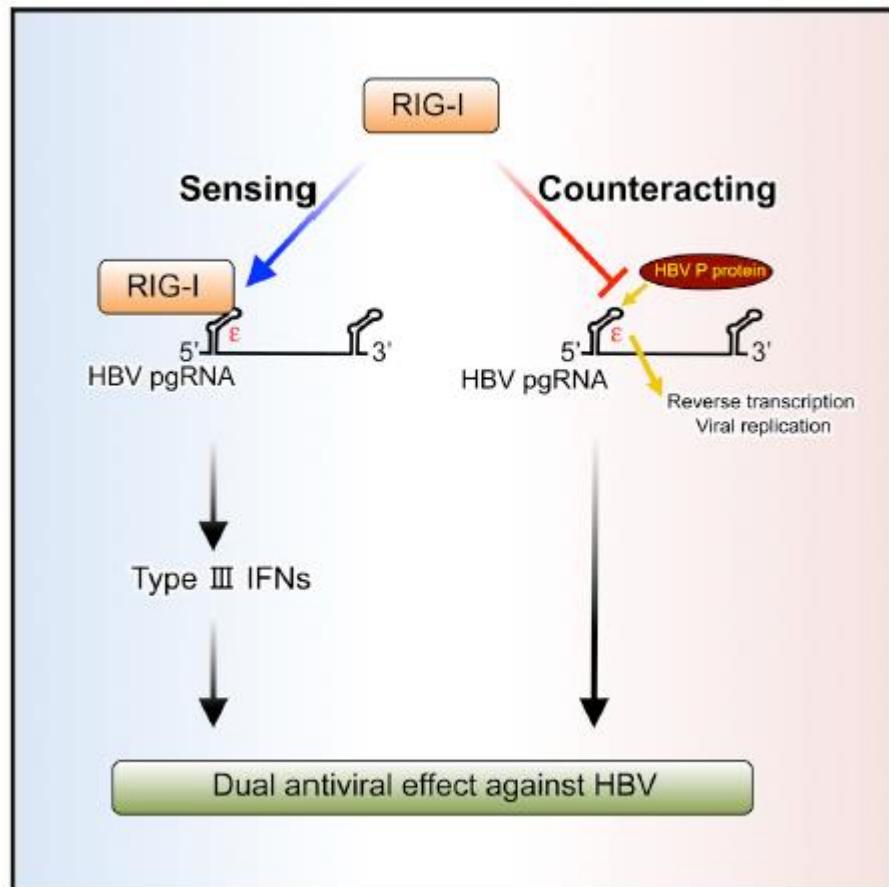


# El virus hepatitis B...



# Immunity

## The RNA Sensor RIG-I Dually Functions as an Innate Sensor and Direct Antiviral Factor for Hepatitis B Virus



Sato et al., 2015, *Immunity* 42, 123–132  
January 20, 2015 ©2015 Elsevier Inc.  
<http://dx.doi.org/10.1016/j.jimmuni.2014.12.016>



S.Bradbrook/NPG

CellPress

Sensing of HSV-1 by the c...



https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27830700



Buscar

NCBI will begin redirecting all HTTP traffic to HTTPS on Thursday, November 10 at 9 AM EST (2 PM UTC). [Read more.](#)

Format: Abstract ▾

Send to ▾

Nat Commun. 2016 Nov 10;7:13348. doi: 10.1038/ncomms13348.

## Sensing of HSV-1 by the cGAS-STING pathway in microglia orchestrates antiviral defence in the CNS.

Reinert LS<sup>1,2</sup>, Lopušná K<sup>1,3</sup>, Winther H<sup>1,2</sup>, Sun C<sup>1,2</sup>, Thomsen MK<sup>1,2</sup>, Nandakumar R<sup>1,2</sup>, Mogensen TH<sup>1,2,4</sup>, Meyer M<sup>5</sup>, Vægter C<sup>1</sup>, Nyengaard JR<sup>6</sup>, Fitzgerald KA<sup>7</sup>, Paludan SR<sup>1,2</sup>.

### Author information

### Abstract

Herpes simplex encephalitis (HSE) is the most common form of acute viral encephalitis in industrialized countries. Type I interferon (IFN) is important for control of herpes simplex virus (HSV-1) in the central nervous system (CNS). Here we show that microglia are the main source of HSV-induced type I IFN expression in CNS cells and these cytokines are induced in a cGAS-STING-dependent manner. Consistently, mice defective in cGAS or STING are highly susceptible to acute HSE. Although STING is redundant for cell-autonomous antiviral resistance in astrocytes and neurons, viral replication is strongly increased in neurons in STING-deficient mice. Interestingly, HSV-infected microglia confer STING-dependent antiviral activities in neurons and prime type I IFN production in astrocytes through the TLR3 pathway. Thus, sensing of HSV-1 infection in the CNS by microglia through the cGAS-STING pathway orchestrates an antiviral program that includes type I IFNs and immune-priming of other cell types.

PMID: 27830700 DOI: [10.1038/ncomms13348](https://doi.org/10.1038/ncomms13348)

[PubMed - in process]



### Save items

Add to Favorites ▾

### Similar articles

Impaired intrinsic immunity to HSV-1 in human iPSC-derived TLR3-deficient CN [Nature. 2012]

TLR3 deficiency renders astrocytes permissive to herpes simplex virus inf [J Clin Invest. 2012]

Unabated adenovirus replication following activation of the cGAS/STING-d $\epsilon$  [J Virol. 2014]

Review [Genetic susceptibility to herpes simplex encephalitis] [Pathol Biol (Paris). 2013]

Review Deciphering Human Cell-Autonomous Anti-HSV-1 Immunity in [Front Immunol. 2015]

See reviews...

See all...

### Recent Activity





























































































































































































































































































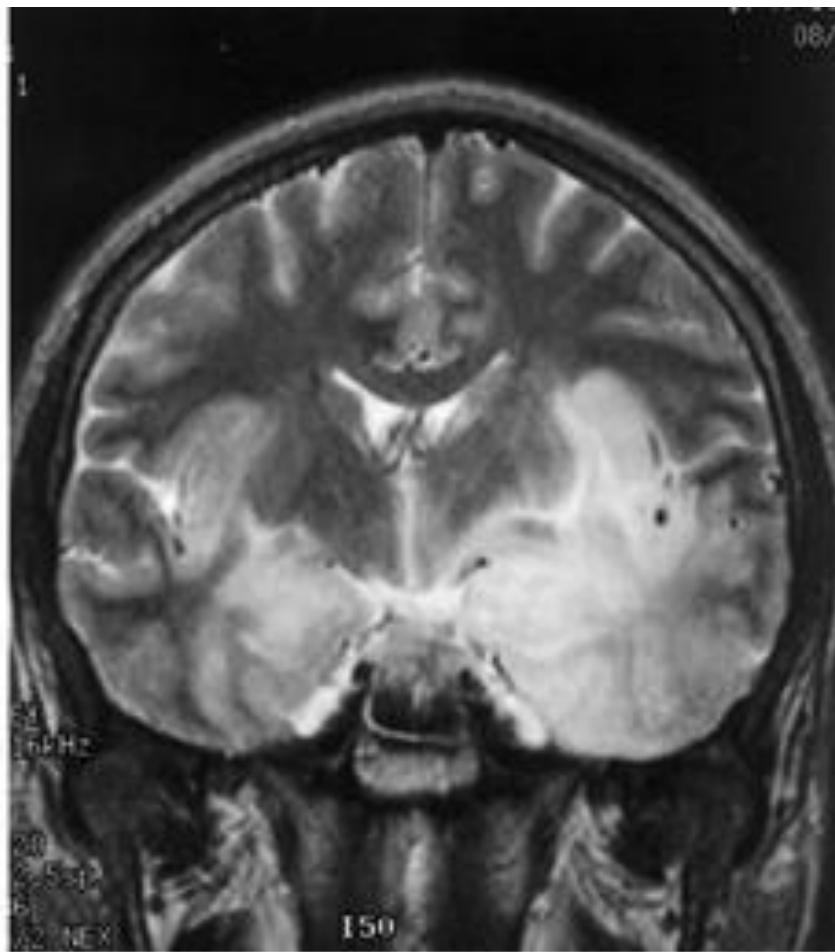
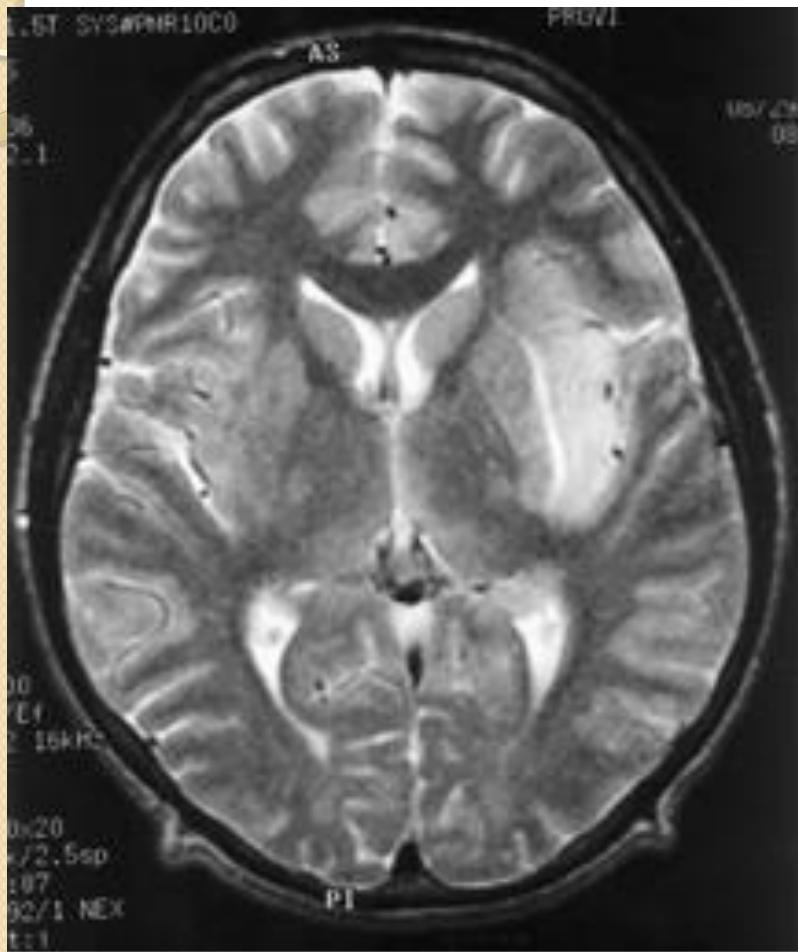








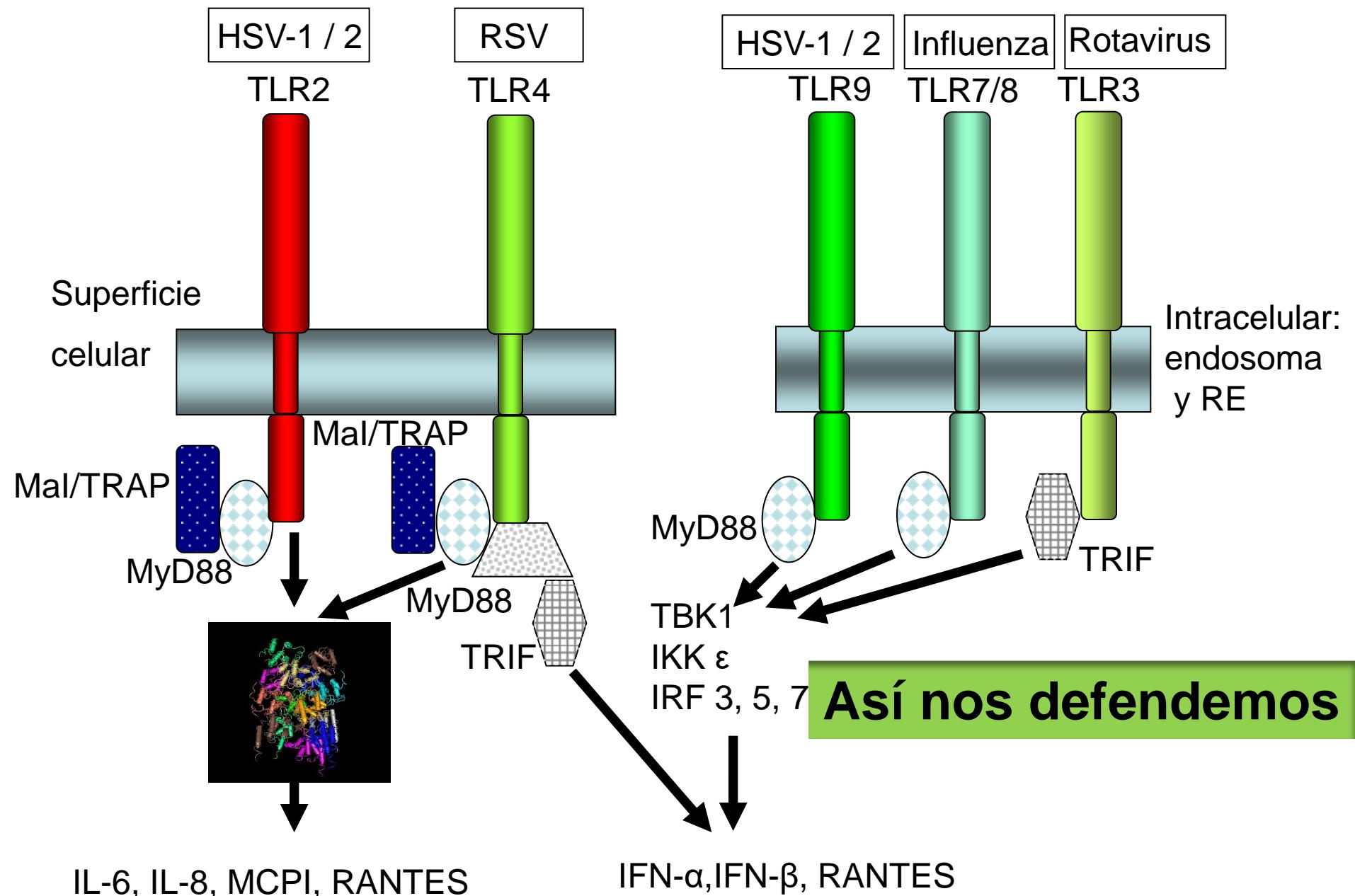
# COMPLICACIONES?



Medscape ®

<http://www.medscape.com>

ENCEFALITIS HERPÉTICA



Science. 2007 Sep 14;317(5844):1522-7.

## TLR3 deficiency in patients with herpes simplex encephalitis.

Zhang SY, Jouanguy E, Ugolini S, Smahi A, Elain G, Romero P, Segal D, Sancho-Shimizu V, Lorenzo L, Puel A, Picard C, Chappier A, Plancoulaine S, Titeux M, Cognet C, von Bernuth H, Ku CL, Casrouge A, Zhang XX, Barreiro L, Leonard J, Hamilton C, Lebon P, Heron B, Vallée L, Quintana-Murci L, Hovnanian A, Rozenberg F, Vivier E, Geissmann F, Tardieu M, Abel L, Casanova JL.

Human Genetics of Infectious Diseases, Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale (INSERM), U550, Faculty Necker, Paris 75015, France.

Some Toll and Toll-like receptors (TLRs) provide immunity to experimental infections in animal models, but their contribution to host defense in natural ecosystems is unknown. We report a dominant-negative TLR3 allele in otherwise healthy children with herpes simplex virus 1 (HSV-1) encephalitis. TLR3 is expressed in the central nervous system (CNS), where it is required to control HSV-1, which spreads from the epithelium to the CNS via cranial nerves. TLR3 is also expressed in epithelial and dendritic cells, which apparently use TLR3-independent pathways to prevent further dissemination of HSV-1 and to provide resistance to other pathogens in TLR3-deficient patients. Human TLR3 appears to be redundant in host defense to most microbes but is vital for natural immunity to HSV-1 in the CNS, which suggests that neurotropic viruses have contributed to the evolutionary maintenance of TLR3.

# Contenidos

- Mecanismos generales: evitar el reconocimiento y afectar los mecanismos de defensa.
- Diversidad y variabilidad genética y antigénica.
- ¿Cómo hacen los virus para evitar el reconocimiento mediante la variabilidad / diversidad?
- ¿Cómo hacen los virus para afectar la respuesta inmune del hospedador?
- Algunos ejemplos: HSV, EBV, HIV, HCV, HPV, sarampión, rabia, Ébola.
- Conclusiones

# DIVERSIDAD



**DIVERSIDAD ANTIGÉNICA** (algunos ejemplos):

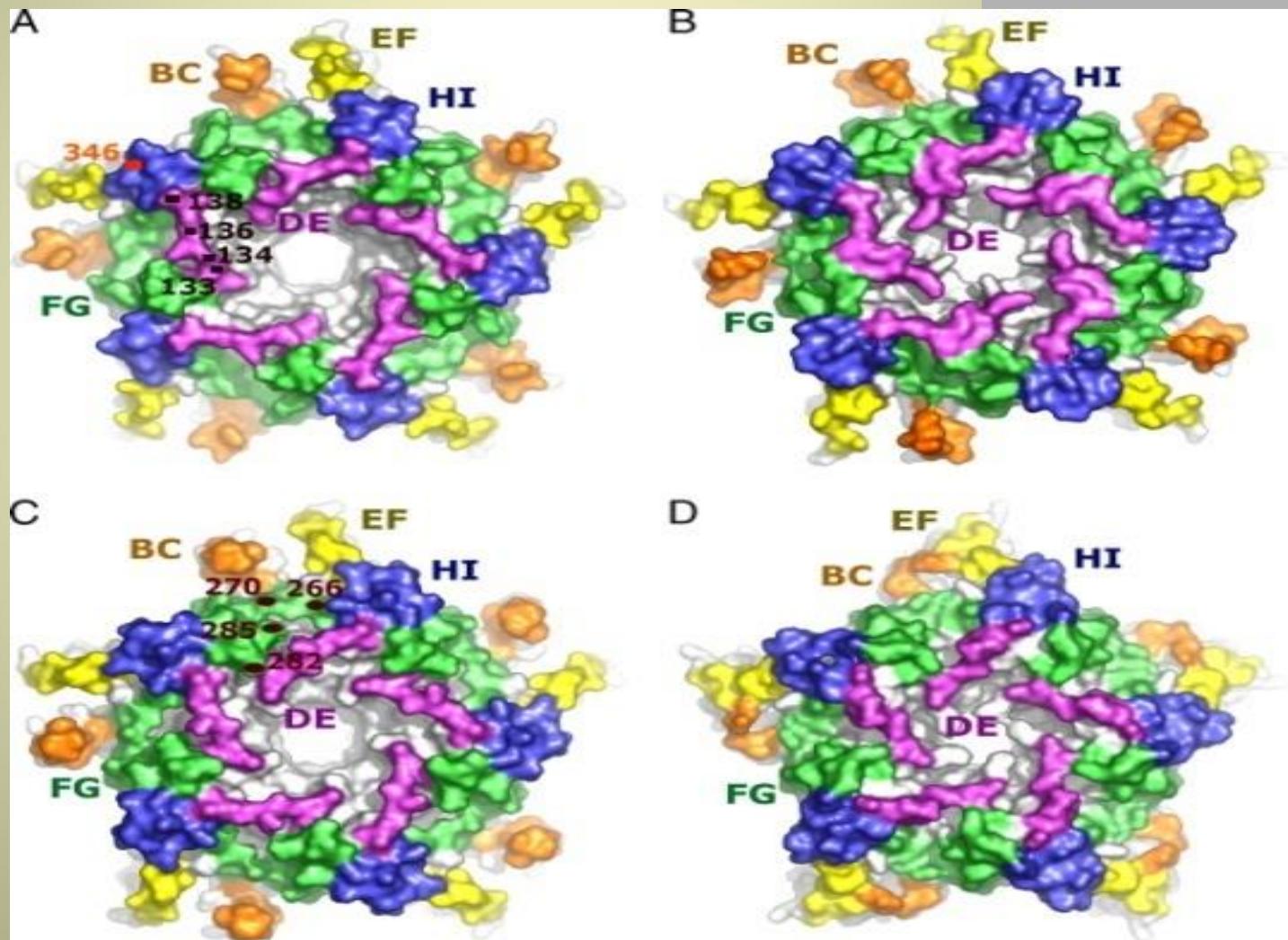
**Rinovirus** (más de 100 serotipos)

**Poliovirus** (3 serotipos: ¡¡¡el 2 erradicado en 2016!!!)

**Dengue** (4 serotipos)

**HPV** (más de 100 tipos genómicos: ¿x? tipos Ag)

# HPV: diferentes epítopes en las VLPs tipo-específicas 6, 35,16 y 18



# VARIABILIDAD

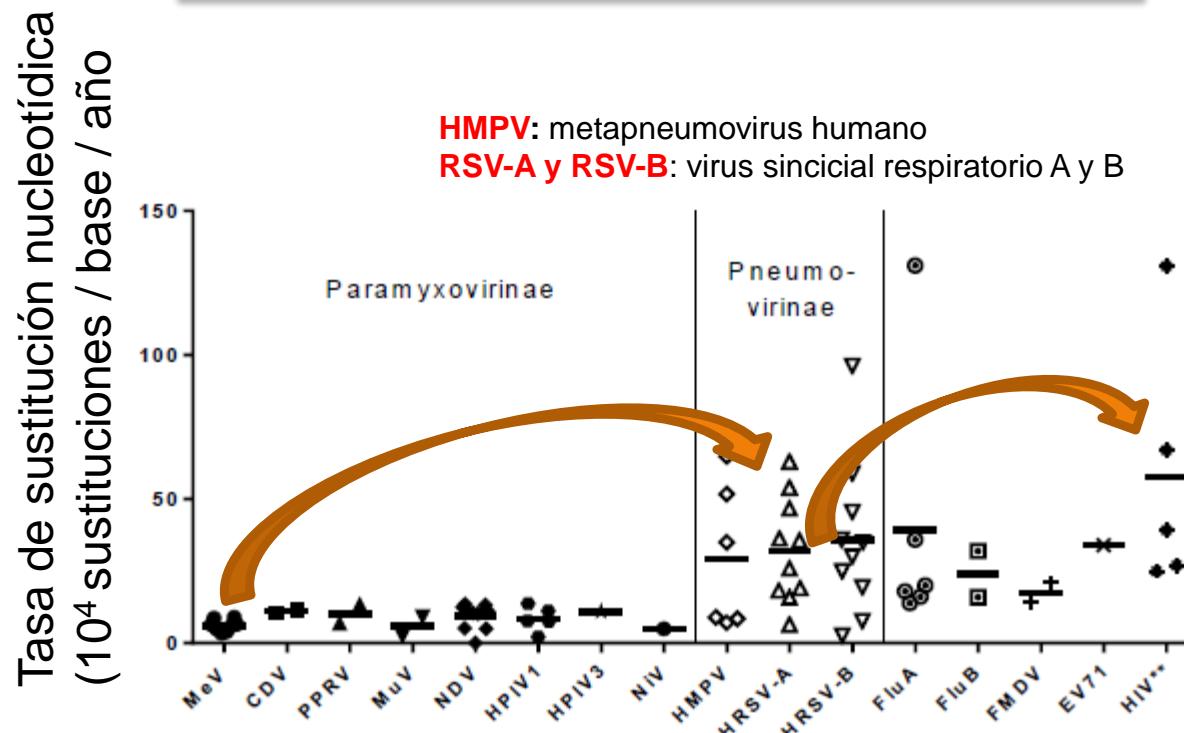


**VARIACIÓN ANTIGÉNICA EN INFECCIONES AGUDAS (I) O PERSISTENTES (II)**  
Algunos ejemplos:

RSV  
Influenza

HIV  
HCV  
HBV

## Variabilidad comparada entre algunos virus



**MeV:** virus sarampión (Alta tasa de error de la polimerasa; baja tasa de fijación de mutaciones)

**CDV:** virus del moquillo

**PPRV:**

**MuV:** virus parotiditis

**NDV:** virus de la enfermedad de Newcastle

**HPIV1 y HPIV3:** virus parainfluenza humano-1 y -3

**Flu A y Flu B:** influenza A y B

**FMDV:** virus de la enfermedad pie-boca

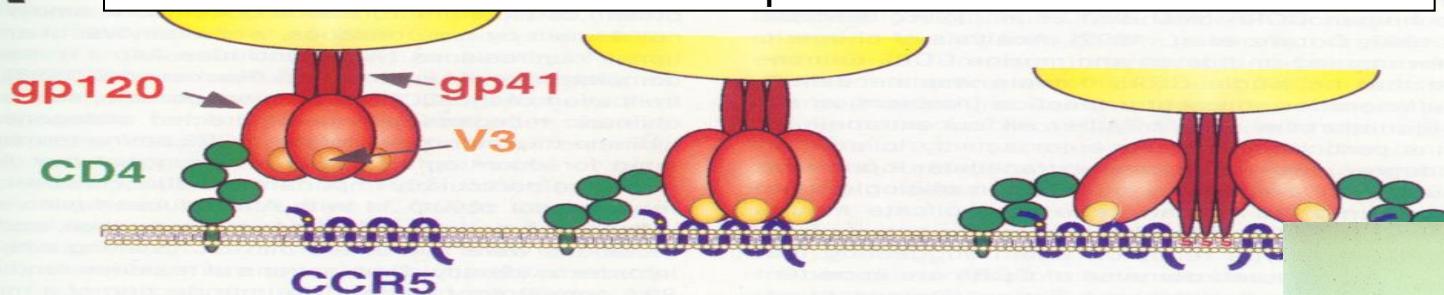
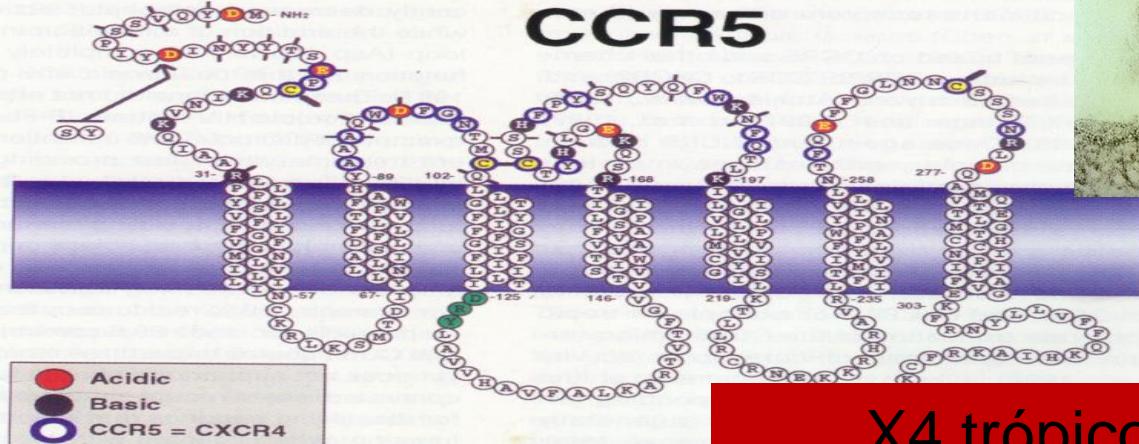
**EV71:** enterovirus 71

**HIV:** virus de la inmunodeficiencia humana

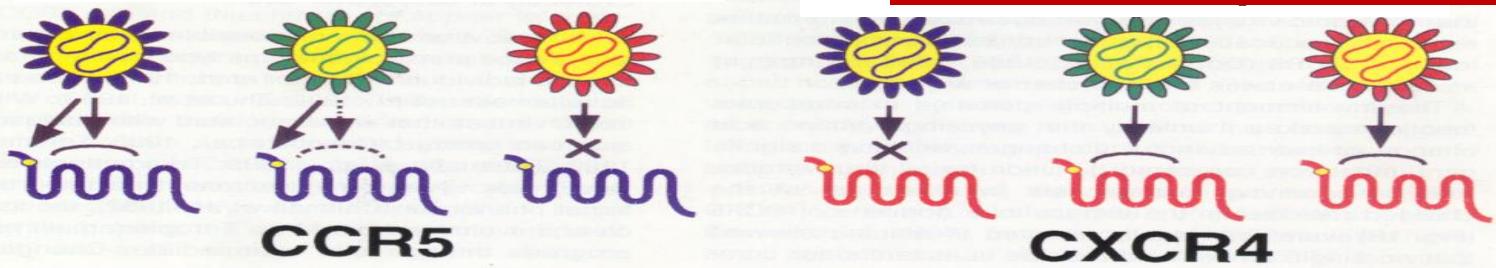
# Contenidos

- Mecanismos generales: evitar el reconocimiento y afectar los mecanismos de defensa.
- Diversidad y variabilidad genética y antigénica.
- *¿Cómo hacen los virus para evitar el reconocimiento mediante la variabilidad / diversidad?*
- *¿Cómo hacen los virus para afectar la respuesta inmune del hospedador?*
- Algunos ejemplos: HSV, EBV, HIV, HCV, HPV, sarampión, rabia, Ébola.
- Conclusiones

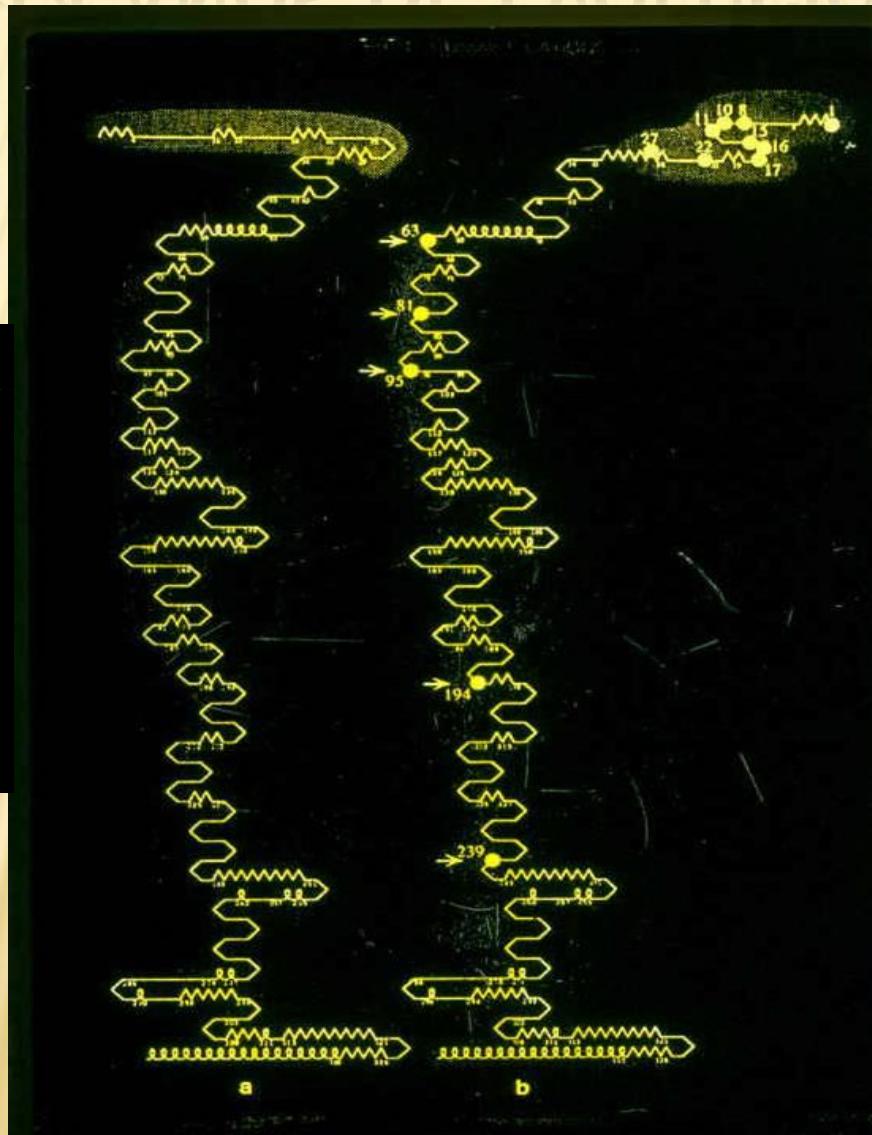
**A** La fusión de membranas mediada por correceptores distintos determina un tropismo diferencial

**B****C****R5 trópico**

**X4 trópico:**  
progresión al SIDA

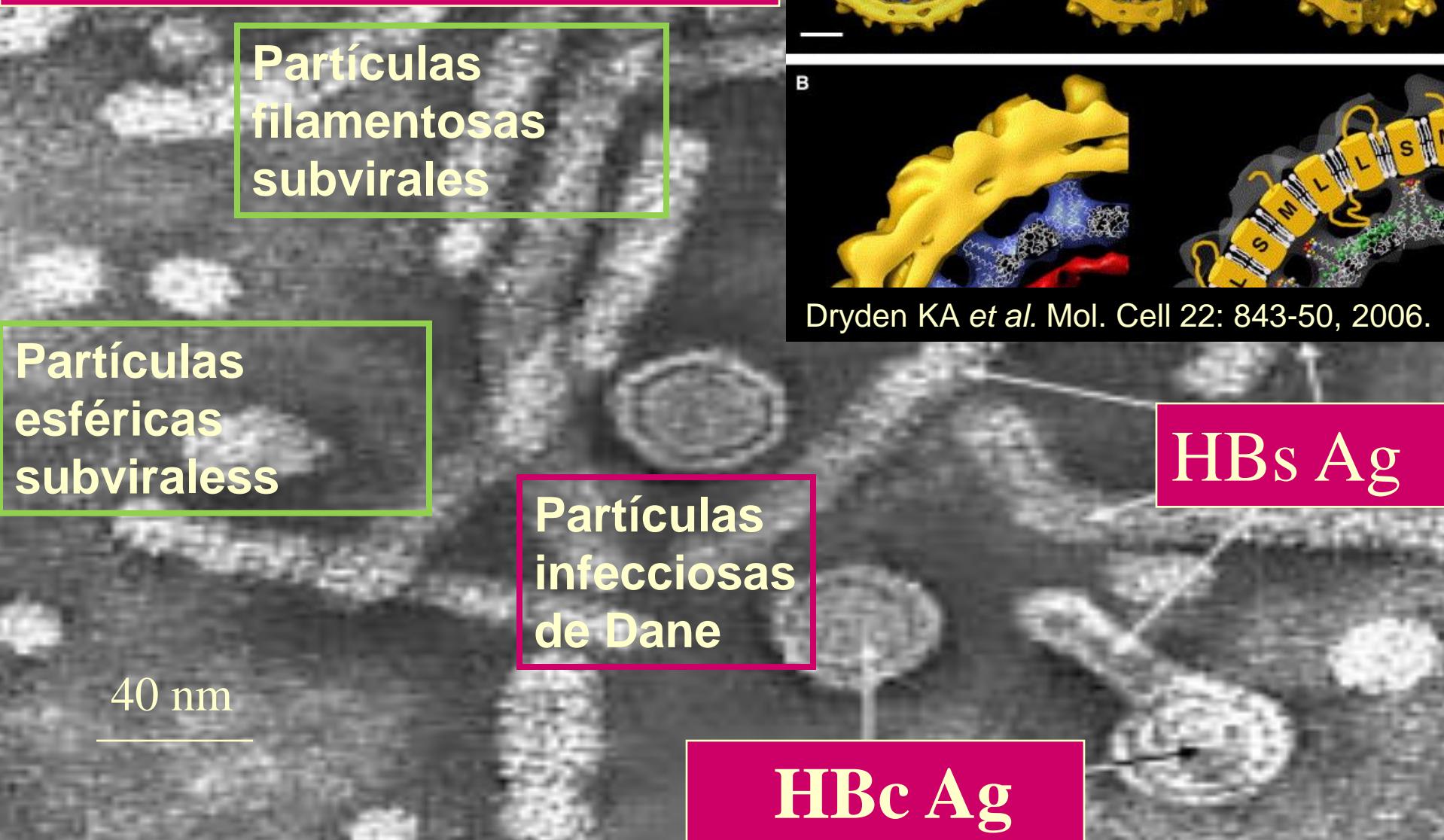


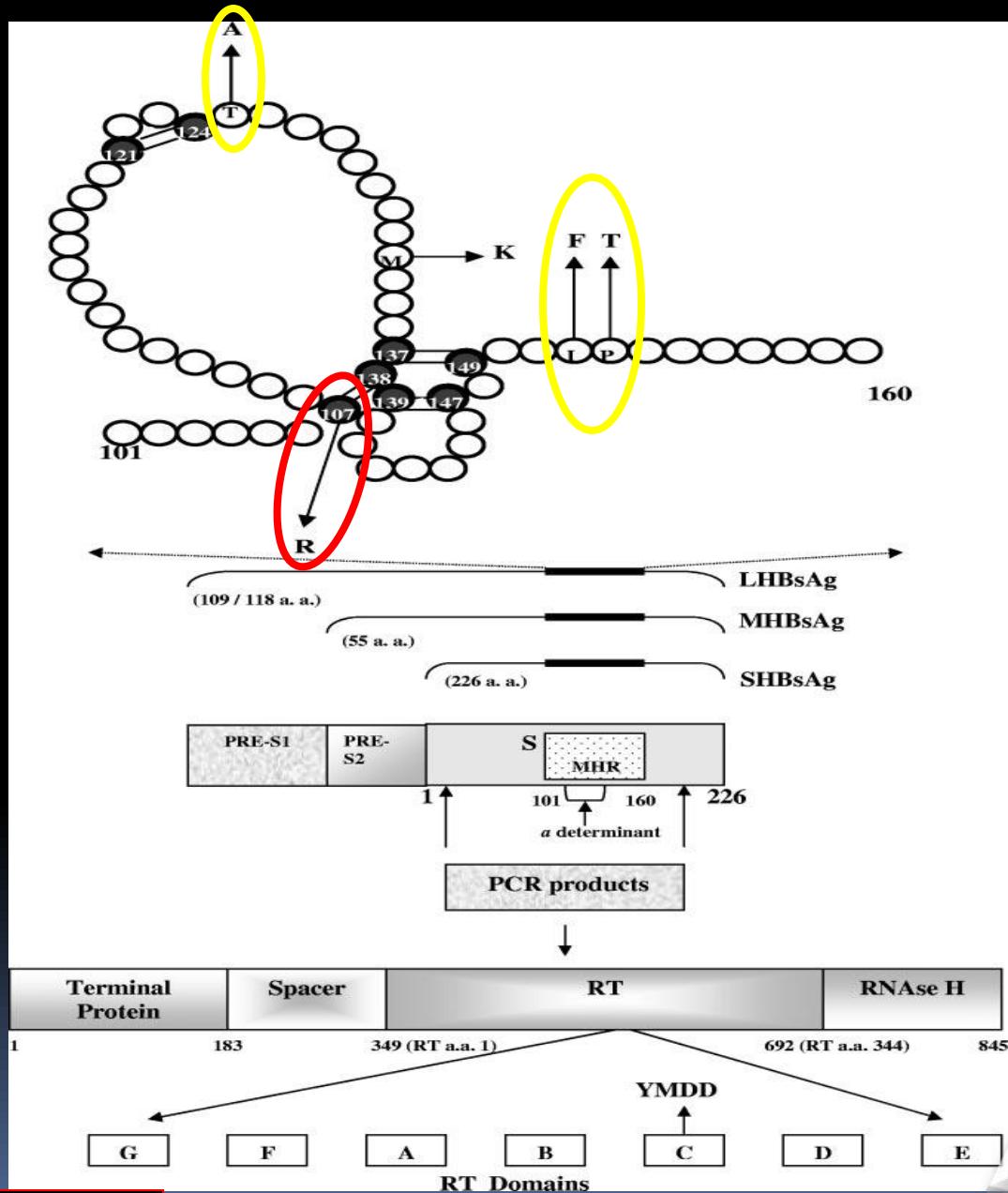
# VARIABILIDAD DE LA ENVOLTURA DE HCV AL CABO DE 14 AÑOS DE EVOLUCIÓN



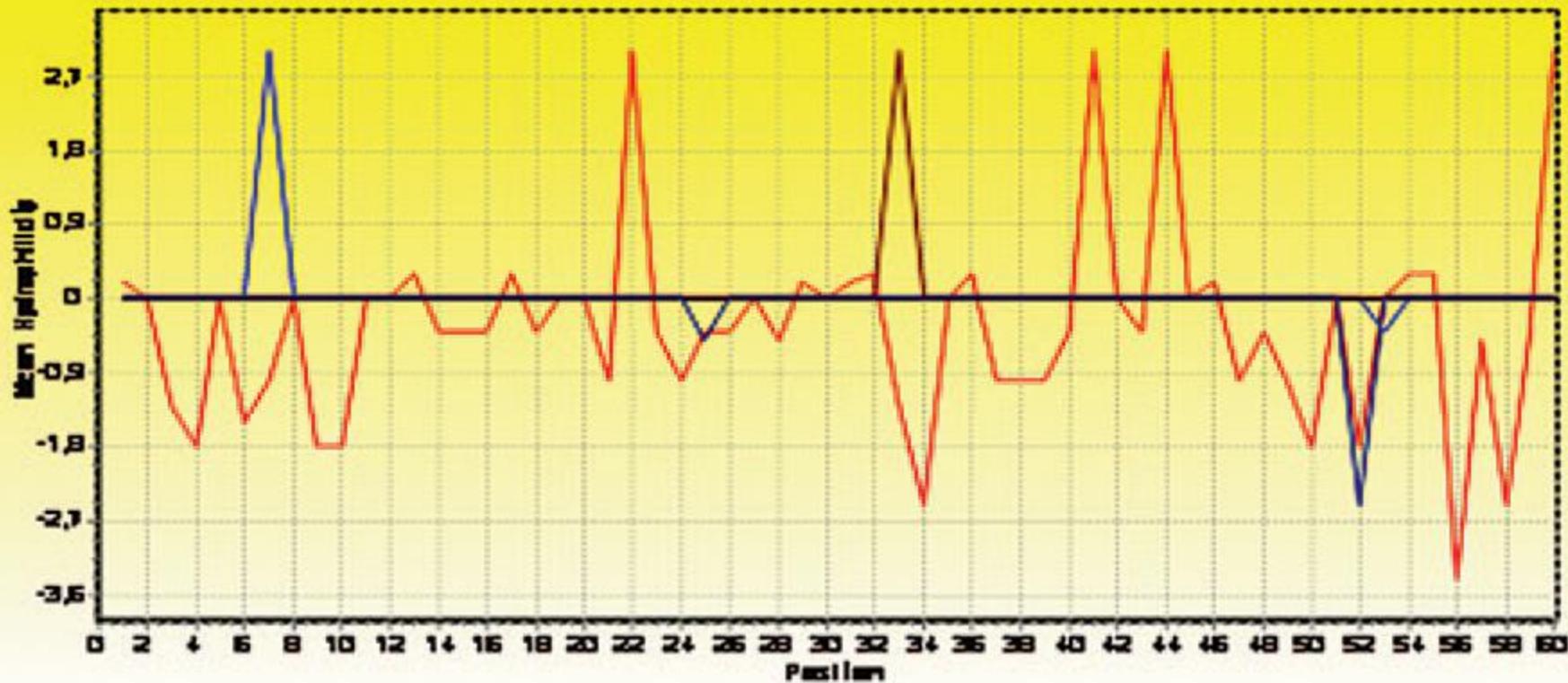
La mayoría de las mutaciones nucleotídicas afectan aminoácidos de la porción más hidrofílica de la envoltura viral (círculos amarillos), afectando su antigenicidad según la predicción de la nueva estructura secundaria por lo cual los anticuerpos específicos generados, no reconocen la población viral infectante inicial

# Complejidad estructural del HBV





Paciente  
“C”



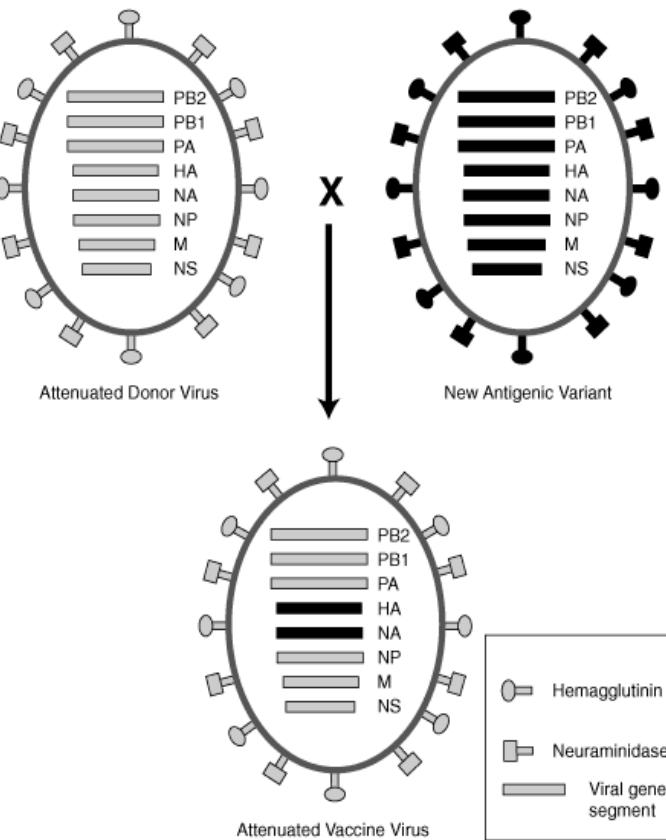
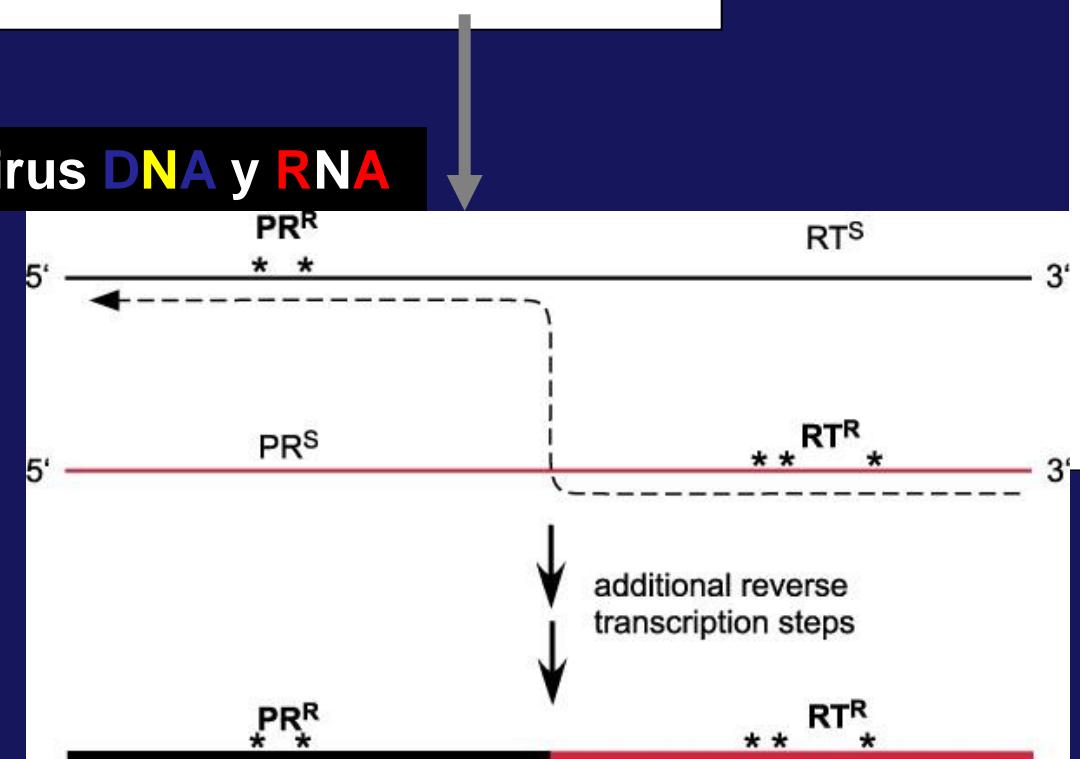
Cuestas et al, J Clin Microbiol, 2006

	101	111	121	131	141	151
6 (Wt)	Q G H L F V C P L I P G S T T T S T	G P C K T C T T P R Q G N S H F P S C C C T K P T D G N C T C I P I P S S W R E P K				
1	.....	R.....				T.....
2	.....	.....				
3	.....	.....		K.....		
4	.....	.....		P.....		
5	.....	.....		.....	E.....	

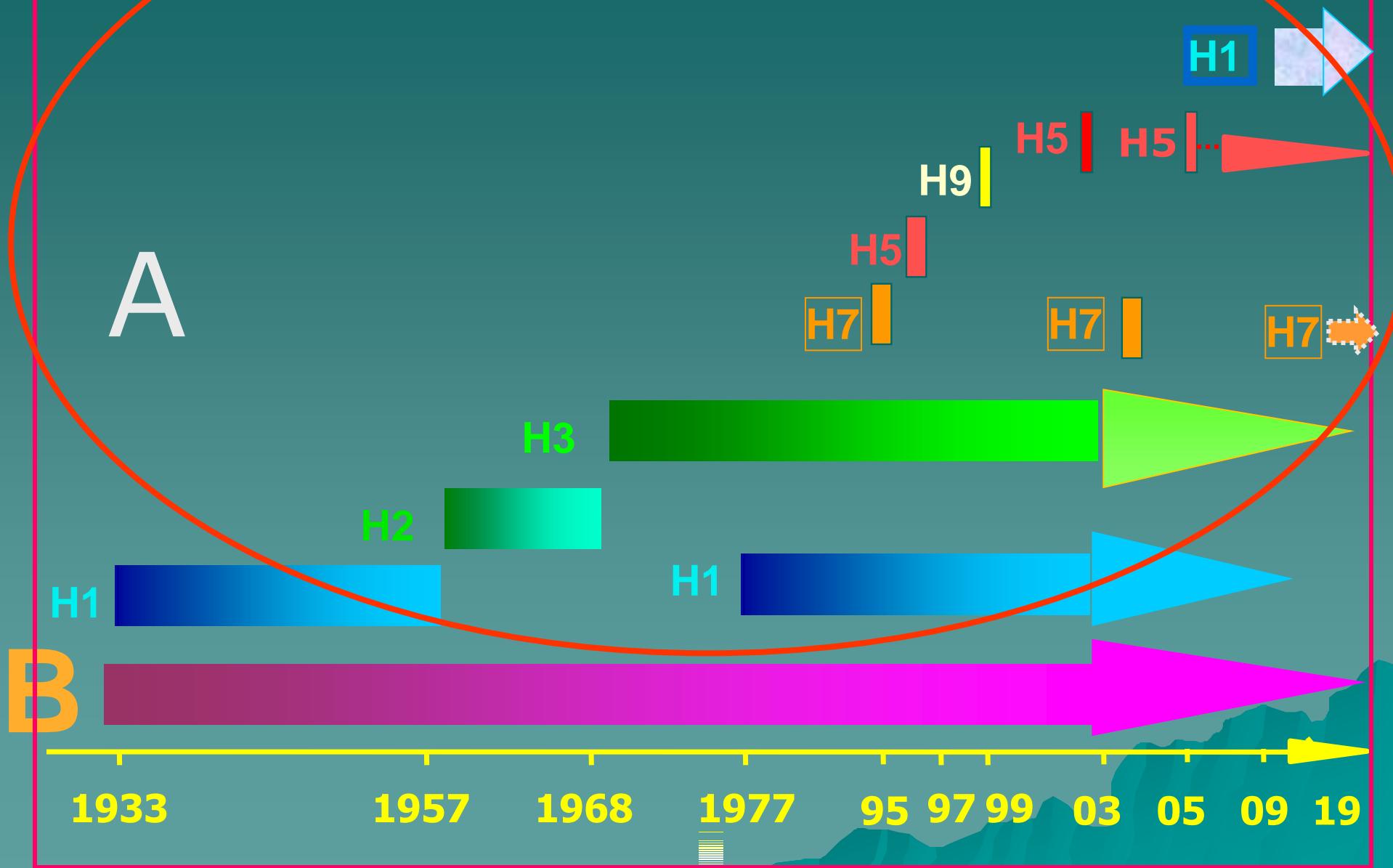
# Mecanismos generadores de VARIABILIDAD GENÉTICA

MUTACIONES  
DELECCIONES  
INSERCIÓNES  
RE-ASOCIACIONES  
RECOMBINACIONES

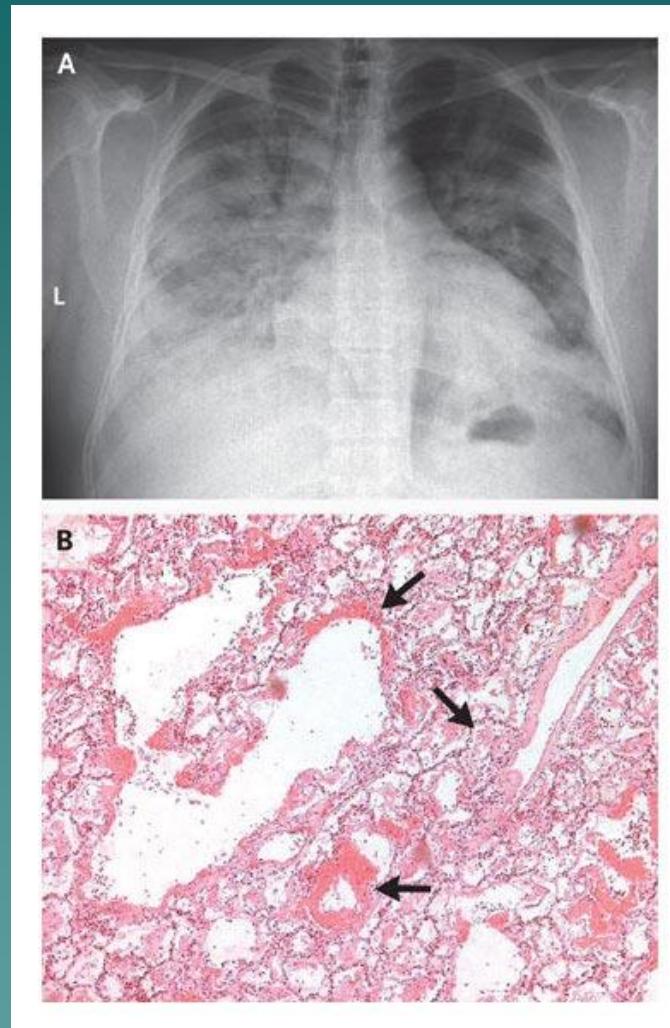
Virus RNA  
segmentados



# Circulación en Humanos de Tipos y Subtipos de virus *influenza*



# Radiografía inicial de pulmón e histología de una muestra pulmonar de un paciente infectado con Influenza A (H1N1/09)



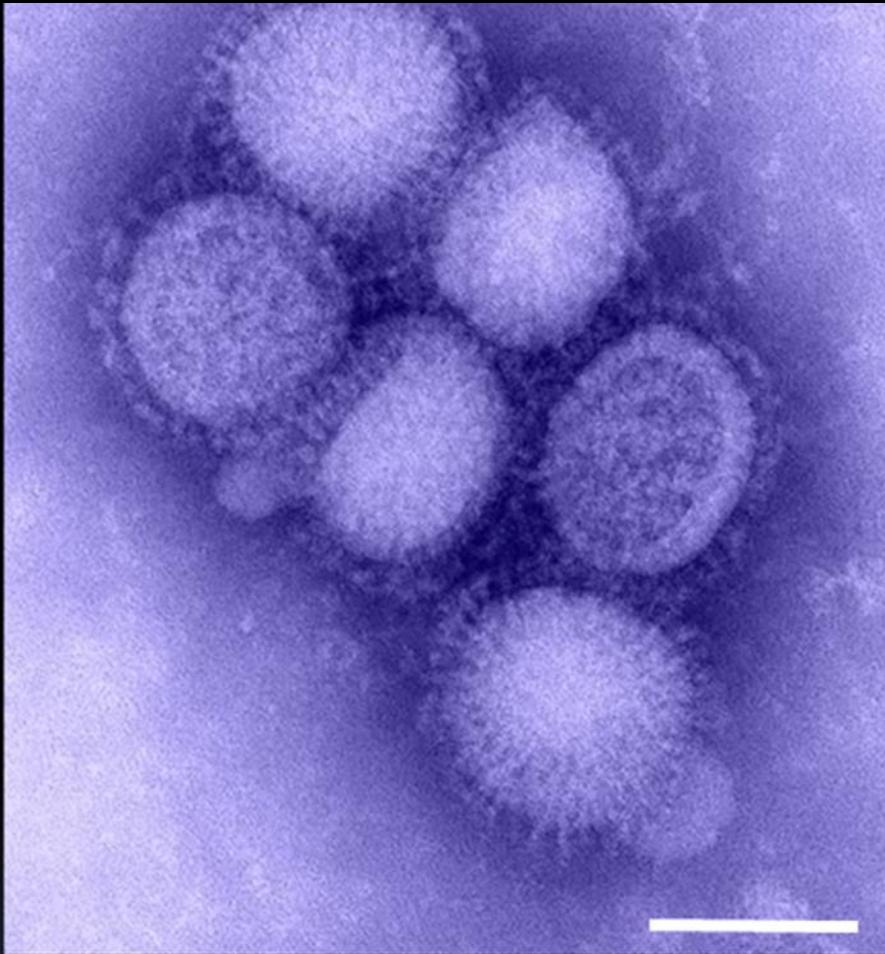
Perez-Padilla R et al. N Engl J Med 2009;10.1056/NEJMoa0904252



The NEW ENGLAND  
JOURNAL of MEDICINE

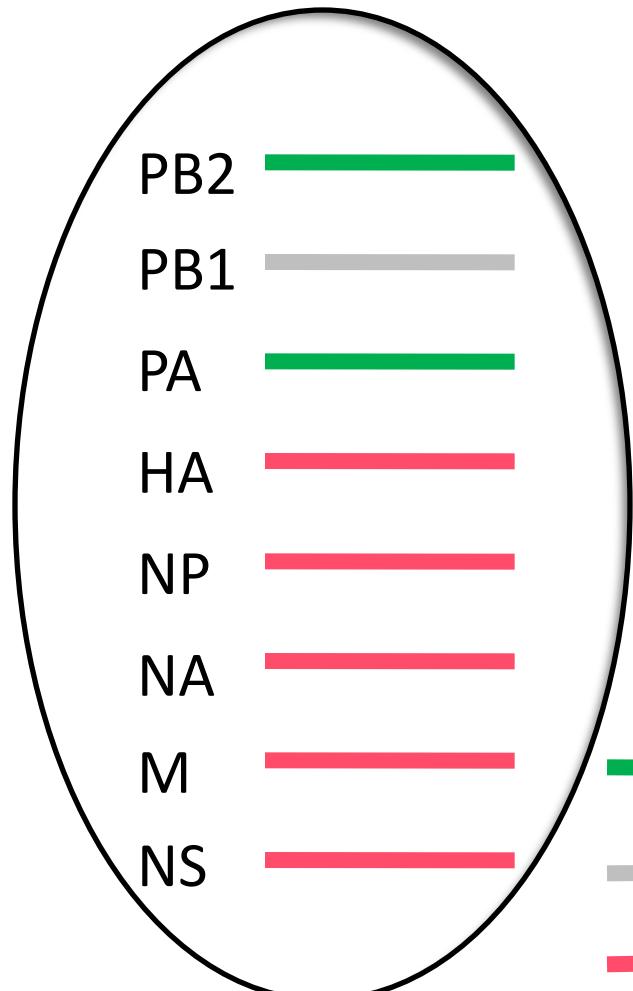
# Virus influenza A(H1N1/09)

## Agente etiológico de la pandemia 2009-2010

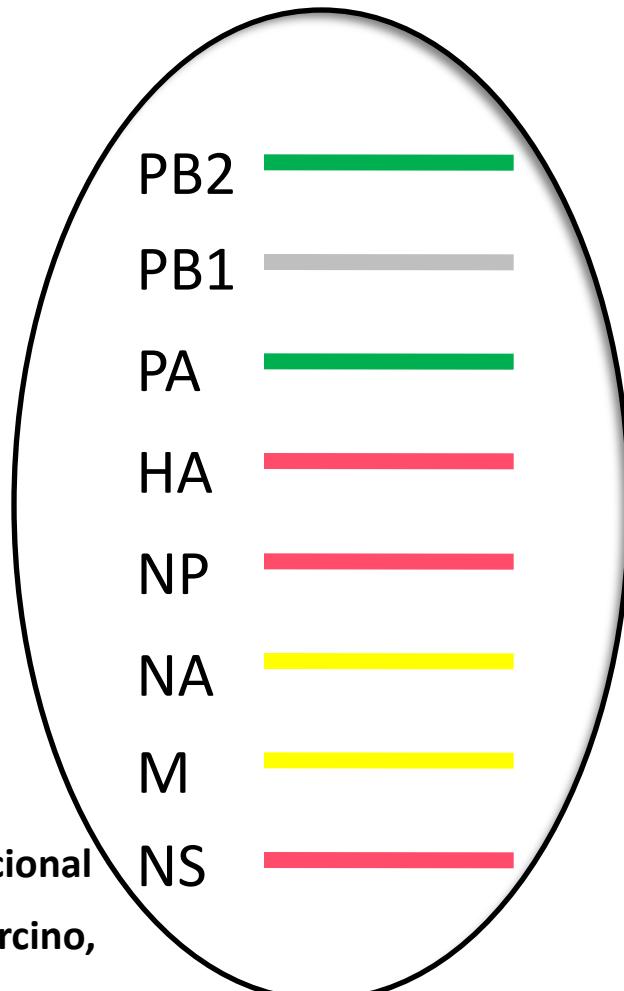


**Virus influenza A(H1N1) causante del brote de influenza pandémica de en 2009. Fuente: CDC (*Centers for Disease Control and Prevention*, EE.UU.). Se observan partículas ovales o esféricas con espículas correspondientes a la expresión en su superficie de moléculas de hemaglutinina (HA) y neuraminidasa (NA).**  
La barra blanca indica 100 nm.

## Influenza A(H1N1): triple reasociación génica ocurrida en 1998.



## Influenza A(H1N1) causante de la pandemia de 2009

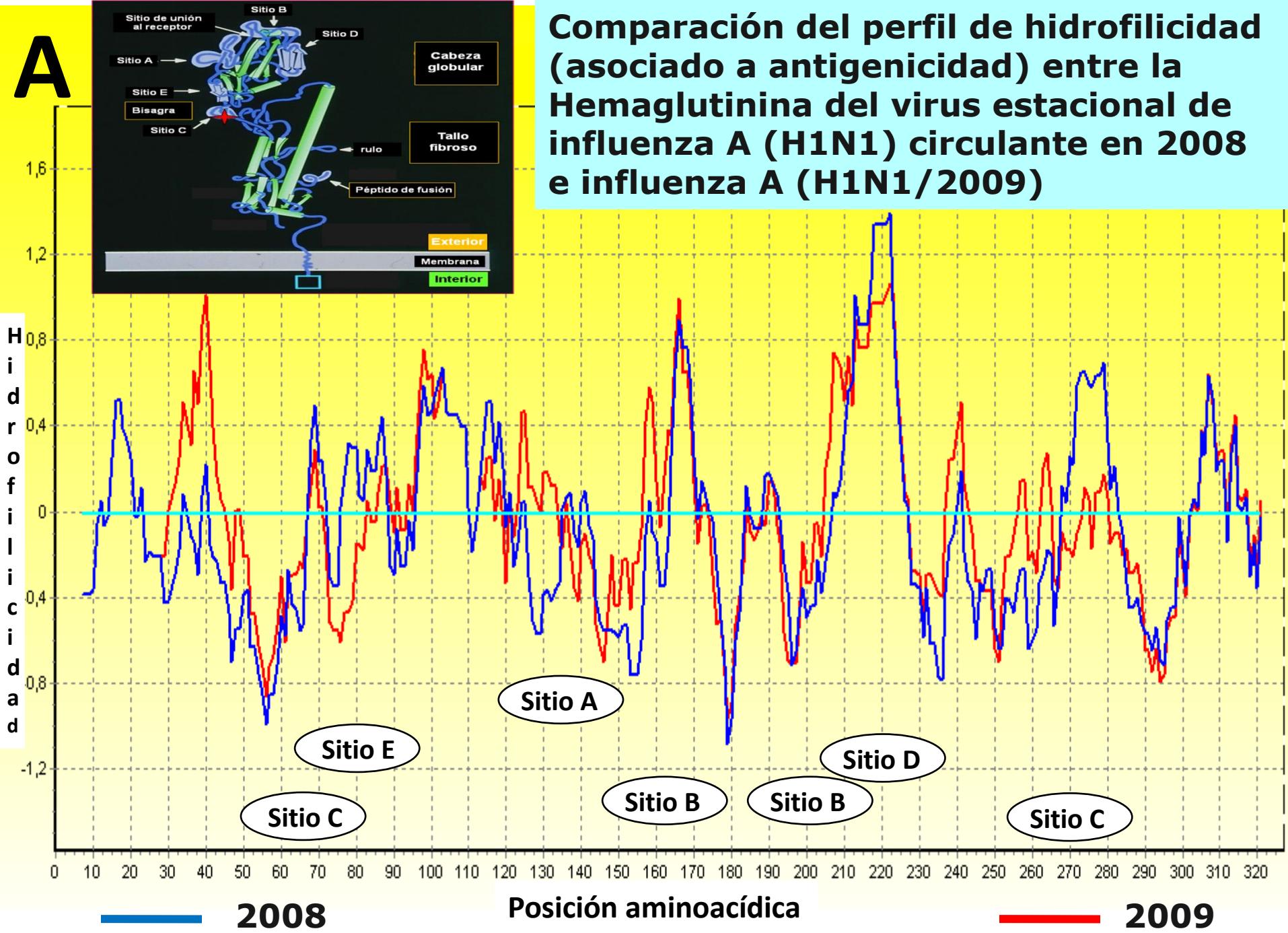


Genes del virus influenza aviar.  
linaje norteamericano

Gen del virus influenza estacional

Genes del virus influenza porcino,  
linaje norteamericano

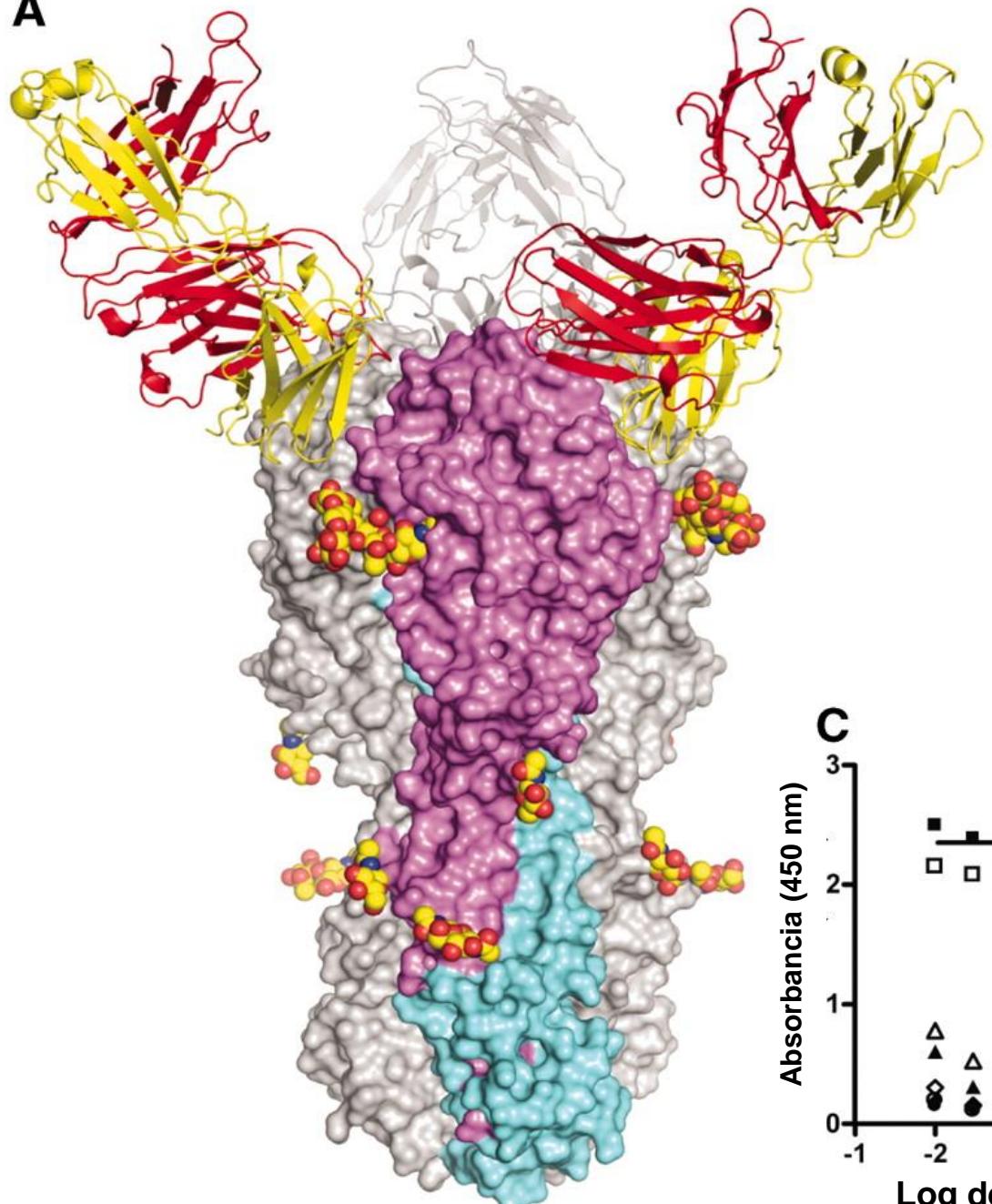
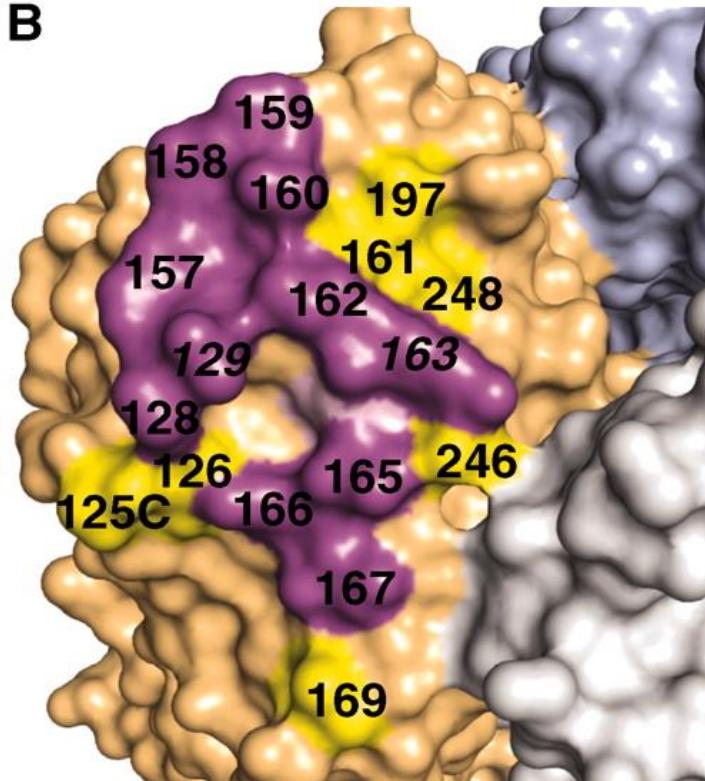
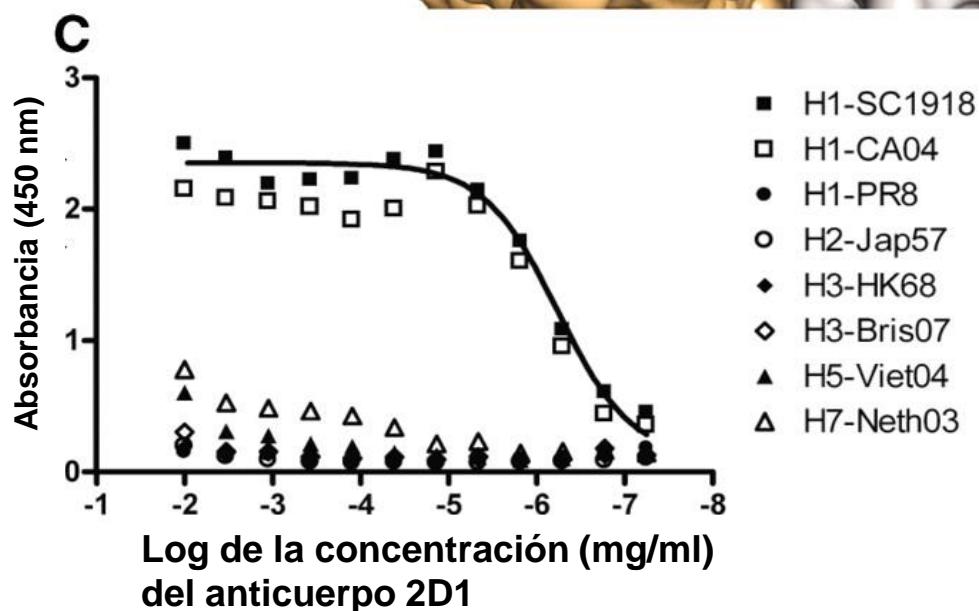
Genes del virus influenza porcino,  
linaje eurasíatico

**A**

# **Los anticuerpos anti-hemaglutinina generados por vacunación reciente contra la gripe estacional inducen poca o nula reacción cruzada contra el virus pandémico, pero 34% de adultos mayores de 59 años SÍ los evidencian.**

- **Cross-Reactive Antibody Responses to the 2009 Pandemic H1N1 Influenza Virus** ive antibodies.  
Copyright 2009 Massachusetts Medical Society.
- **BACKGROUND:** A new pandemic influenza A (H1N1) virus has emerged, causing illness globally, primarily in younger age groups. To assess the level of preexisting immunity in humans and to evaluate seasonal vaccine strategies, we measured the antibody response to the pandemic virus resulting from previous influenza infection or vaccination in different age groups. **METHODS:** Using a microneutralization assay, we measured cross-reactive antibodies to pandemic H1N1 virus (2009 H1N1) in stored serum samples from persons who either donated blood or were vaccinated with recent seasonal or 1976 swine influenza vaccines.
- **RESULTS:** A total of 4 of 107 persons (4%) who were born after 1980 had preexisting cross-reactive antibody titers of 40 or more against 2009 H1N1, whereas 39 of 115 persons (34%) born before 1950 had titers of 80 or more. Vaccination with seasonal trivalent inactivated influenza vaccines resulted in an increase in the level of cross-reactive antibody to 2009 H1N1 by a factor of four or more in none of 55 children between the ages of 6 months and 9 years, in 12 to 22% of 231 adults between the ages of 18 and 64 years, and in 5% or less of 113 adults 60 years of age or older. Seasonal vaccines that were formulated with adjuvant did not further enhance cross-reactive antibody responses. Vaccination with the A/New Jersey/1976 swine influenza vaccine substantially boosted cross-reactive antibodies to 2009 H1N1 in adults.
- **CONCLUSIONS:** Vaccination with recent seasonal nonadjuvanted or adjuvanted influenza vaccines induced little or no cross-reactive antibody response to 2009 H1N1 in any age group. Persons under the age of 30 years had little evidence of cross-reactive antibodies to the pandemic virus. However, a proportion of older adults had preexisting cross-reactive antibodies to the 2009 H1N1 virus.
- Hancock K, et al. NEJM Published at [www.nejm.org](http://www.nejm.org) September 10, 2009.



**A****B****C**

<sup>†</sup>Structural Basis of Preexisting Immunity to the 2009 H1N1 Pandemic Influenza Virus  
Science. Epub ahead of print 25 March 2010. En prensa.

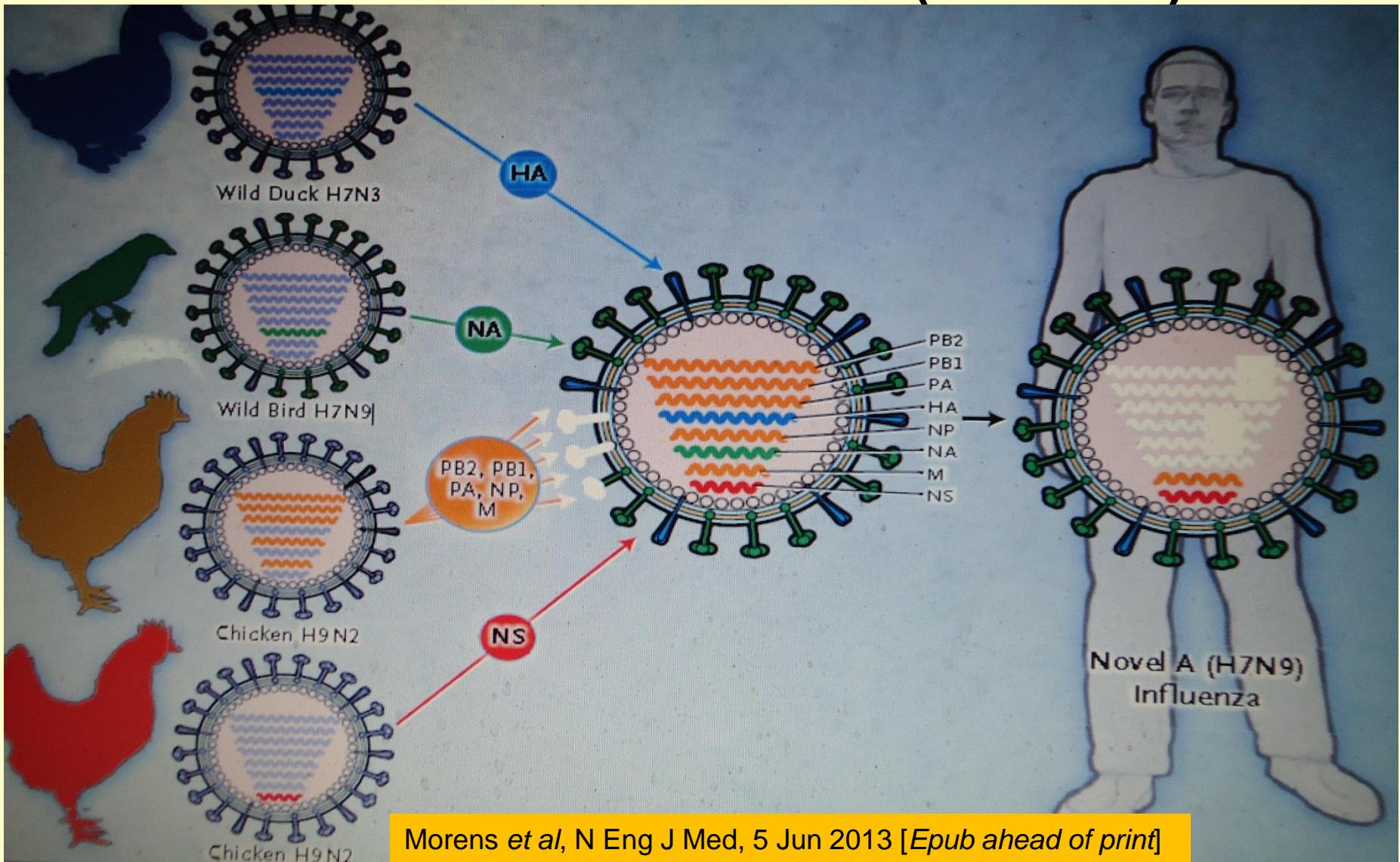
Xu R, Ekiert DC, Krause JC, Hai R, Crowe Jr JE, Wilson IE

*The 2009 H1N1 swine flu is the first influenza pandemic in decades. The crystal structure of the hemagglutinin from the A/California/04/2009 H1N1 virus shows that its antigenic structure, particularly within the Sa antigenic site, is extremely similar to human H1N1 viruses circulating early in the 20th century.*

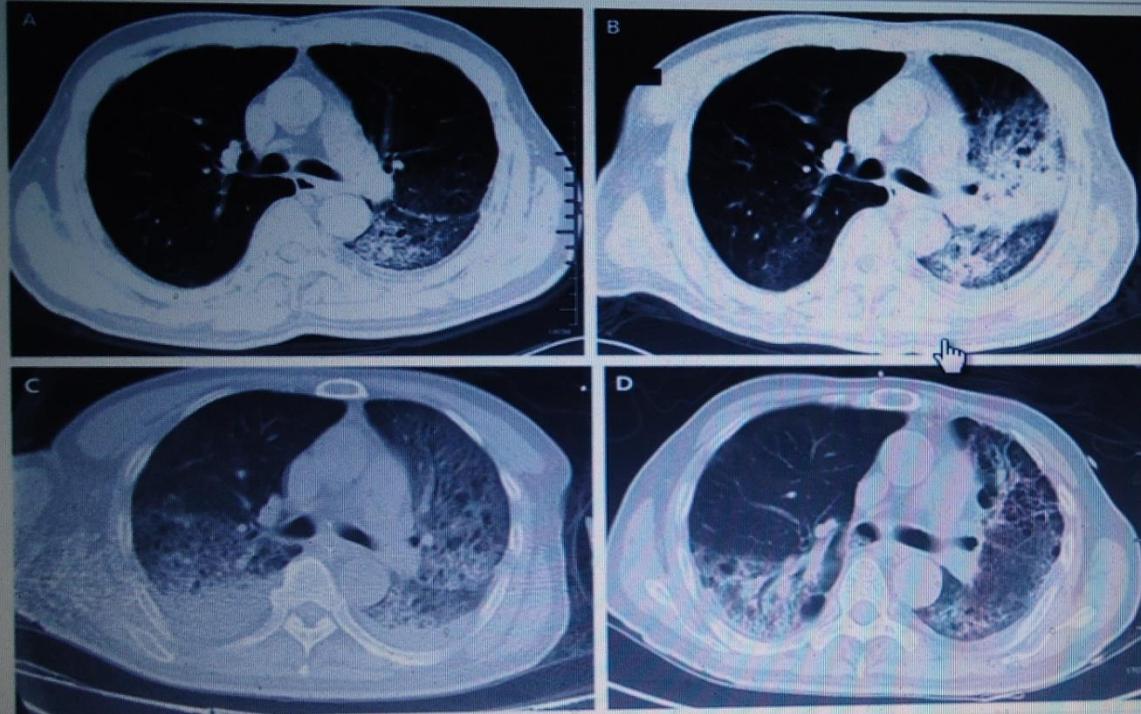
*The co-crystal structure of the 1918 HA with 2D1, an antibody from a survivor of the 1918 Spanish flu that neutralizes both 1918 and 2009 H1N1 viruses, reveals an epitope that is conserved in both pandemic viruses.*

*Thus, antigenic similarity between the 2009 and 1918-like viruses provides an explanation for the age-related immunity to the current influenza pandemic.*

# 2013: gripe aviar emergente por virus influenza A (H7N9)



Slide



**Figure 1. Computed Tomographic Scans of the Chest in a 68-Year-Old Man with Pneumonia Caused by Avian Influenza A (H7N9) Virus.**

On day 7 after the onset of illness, at the time of hospital admission (Panel A), unilateral ground-glass opacities and partial consolidation were observed in the upper and lower portions of the left lung at the tracheal carina level. On day 9 (Panel B), there was rapid progression of the ground-glass opacities, which were observed in the posterior segment of the right lower lobe (not shown), along with consolidation in the left lung. On day 16 (Panel C), there were increased ground-glass opacities in the left lung and increased consolidation in both lungs. On day 42 (Panel D), when the patient was discharged from the hospital, ground-glass opacities and consolidation in both lungs had begun to resolve, with predominant reticular changes and distortion of the previously involved areas of parenchyma. Scans showing areas below the carina level.

obtained on days 7, 9, 16, and 42, are provided in Fig. S3 in the Supplementary Appendix.

Gao et al. NEJM 368: 2277.13 de Junio de 2013



## BRIEF REPORT

# Isolation of a Novel Coronavirus from a Man with Pneumonia in Saudi Arabia

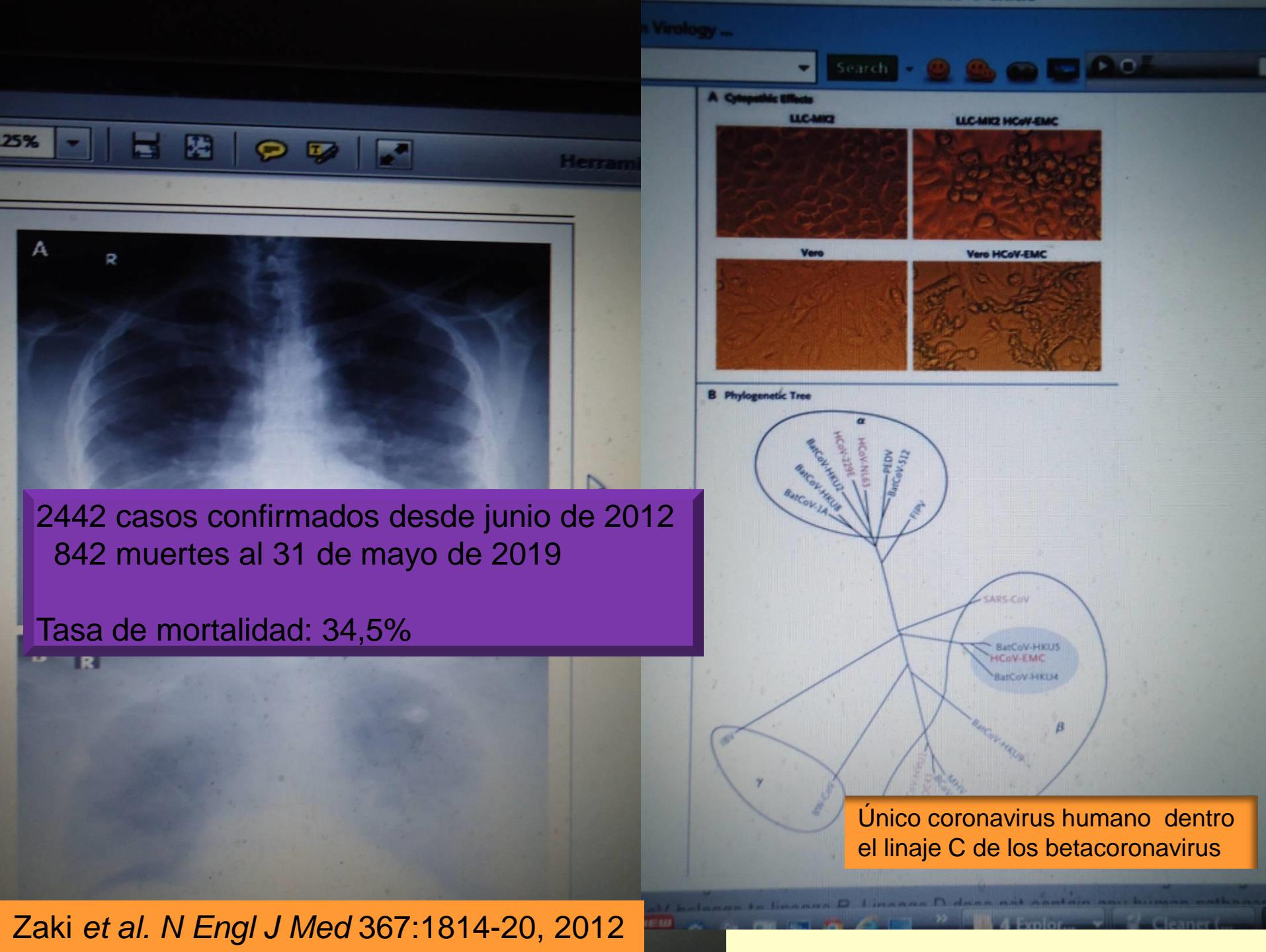
Ali Moh Zaki, M.D., Ph.D., Sander van Boheemen, M.Sc., Theo M. Bestebroer, B.Sc., Albert D.M.E. Osterhaus, D.V.M., Ph.D., and Ron A.M. Fouchier, Ph.D.

---

## SUMMARY

---

A previously unknown coronavirus was isolated from the sputum of a 60-year-old man who presented with acute pneumonia and subsequent renal failure with a fatal outcome in Saudi Arabia. The virus (called HCoV-EMC) replicated readily in cell culture, producing cytopathic effects of rounding, detachment, and syncytium formation. The virus represents a novel betacoronavirus species. The closest known relatives are bat coronaviruses HKU4 and HKU5. Here, the clinical data, virus isolation, and molecular identification are presented. The clinical picture was remarkably similar to that of the severe acute respiratory syndrome (SARS) outbreak in 2003 and reminds us that animal coronaviruses can cause severe disease in humans.



2442 casos confirmados desde junio de 2012  
842 muertes al 31 de mayo de 2019

Tasa de mortalidad: 34,5%

Único coronavirus humano dentro  
el linaje C de los betacoronavirus

# Contenidos

- Mecanismos generales: evitar el reconocimiento y afectar los mecanismos de defensa.
- Diversidad y variabilidad genética y antigénica.
- ¿Cómo hacen los virus para evitar el reconocimiento mediante la variabilidad / diversidad?
- *¿Cómo hacen los virus para afectar la respuesta inmune del hospedador?*
- Algunos ejemplos: HSV, EBV, HIV, HCV, HPV, sarampión, rabia, Ébola.
- Conclusiones

Damski

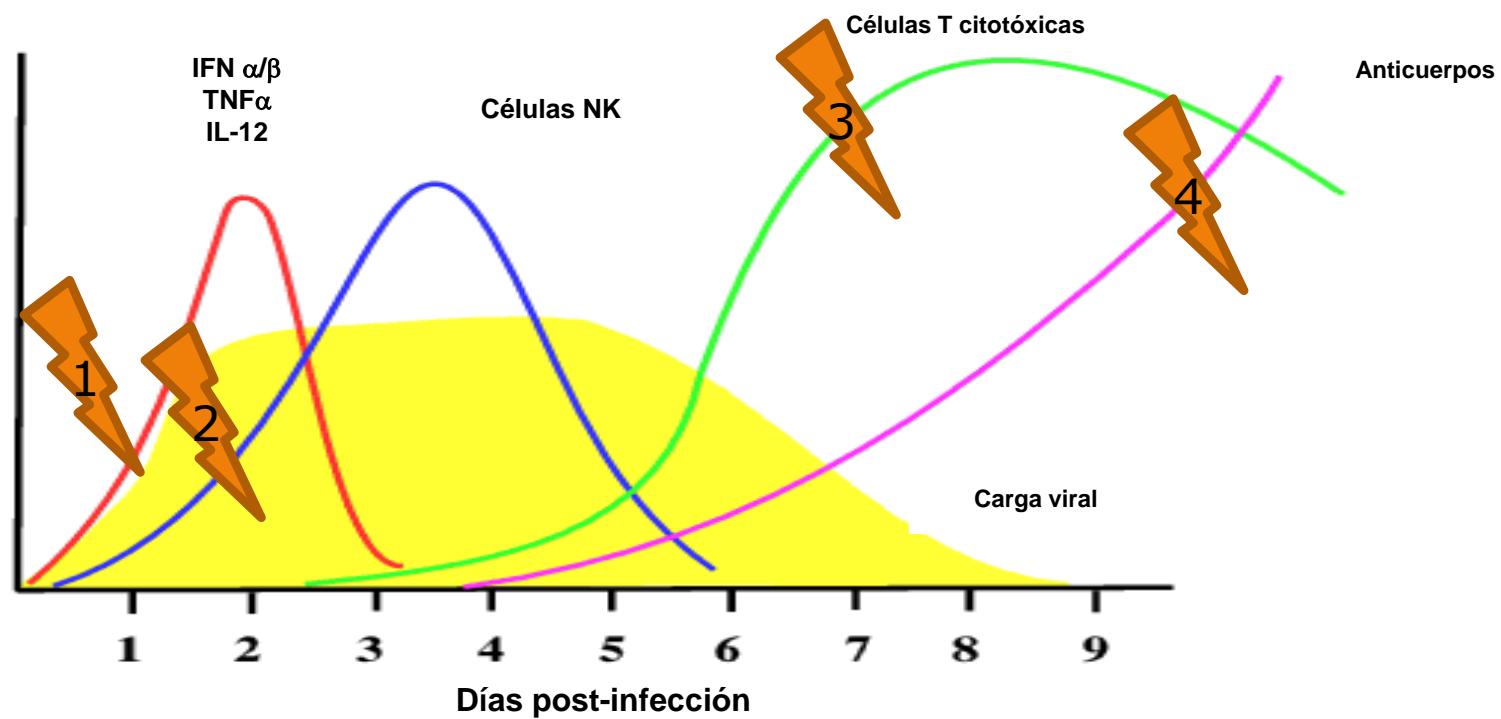
# *El CONTRA- ATAQUE*

...de los virus



Inhibición de la  
Respuesta inmune

# Cinética de la respuesta inmune antiviral: algunos blancos del contraataque viral



# **Alteración de los mecanismos de defensa**

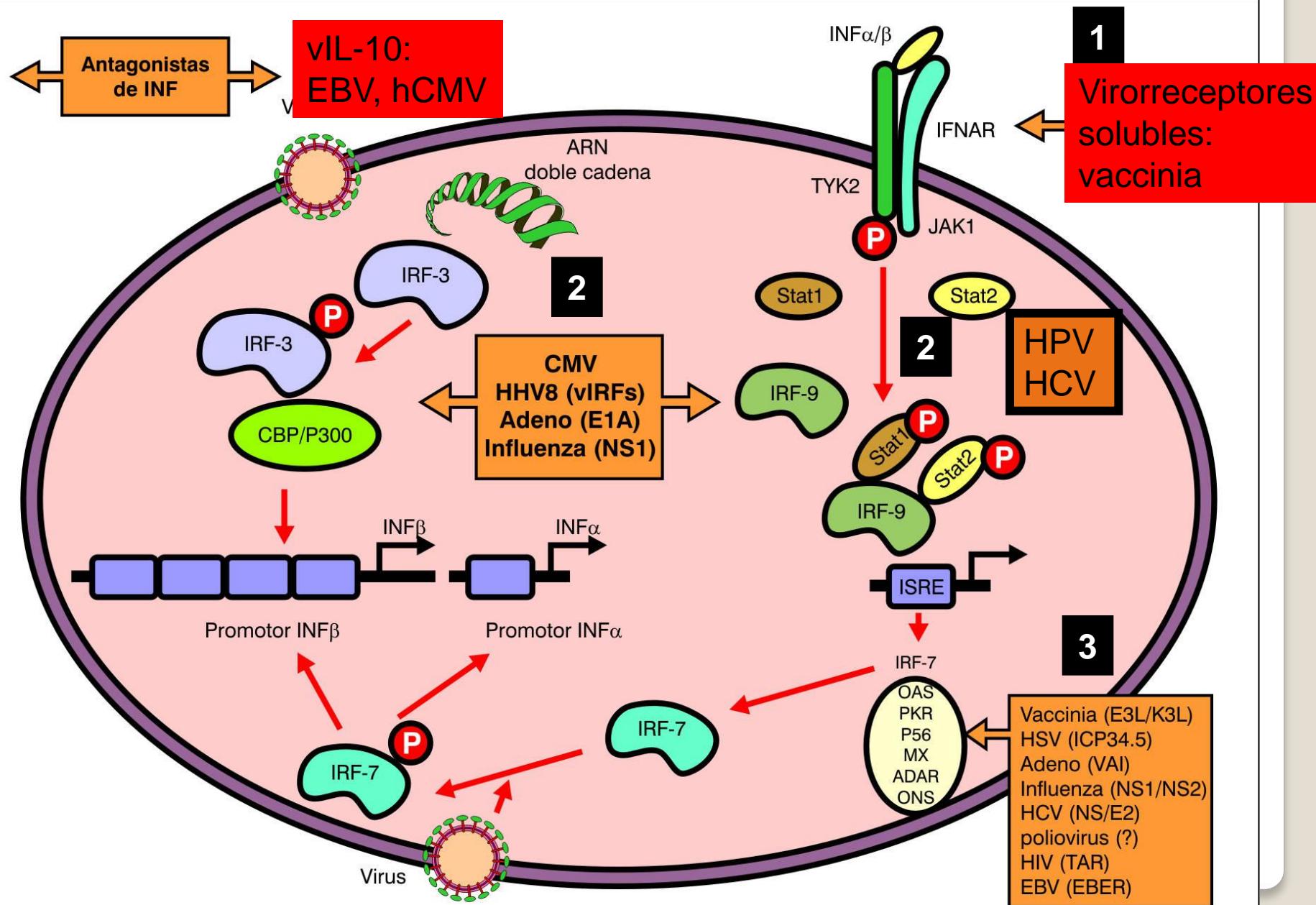
- a) Inhibición de la acción de citoquinas**
- b) Evasión a las células NK**
- c) Evasión a los Linfocitos T citotóxicos CD8+**
- d) Evasión a los LT CD4+**
- e) Evasión a anticuerpos neutralizantes**

## a) Inhibición de la acción de citoquinas

### Evasión al sistema IFN-I.

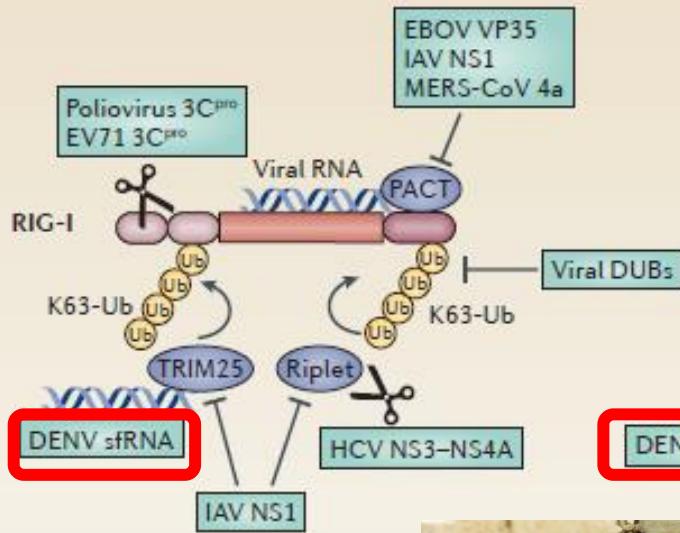
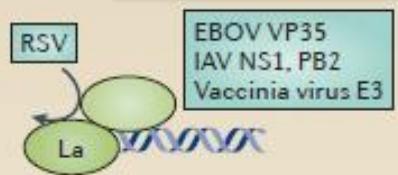
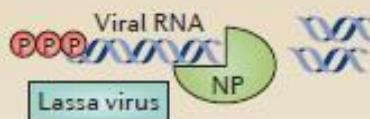
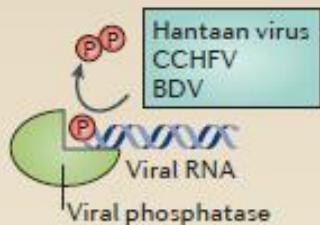
- 1** Producción de proteínas homólogas al receptor (**virorreceptores**) de interferones alfa y beta (IFNAR)
  
- 2** Inhibición de la vía de señalización disparada por IFNAR
  
- 3** Antagonismo de genes inducidos por IFN-I

# Evasión al sistema IFN-I.

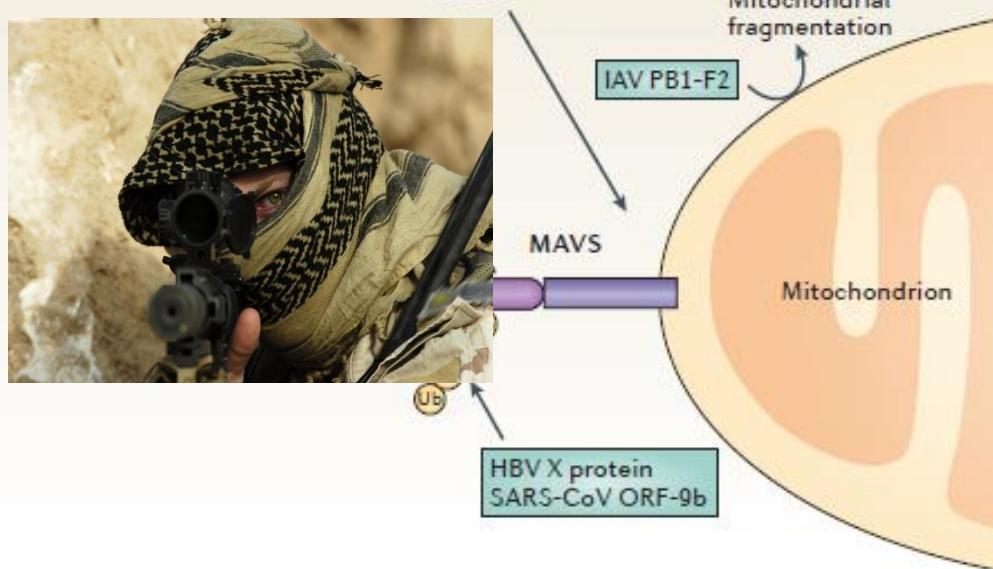


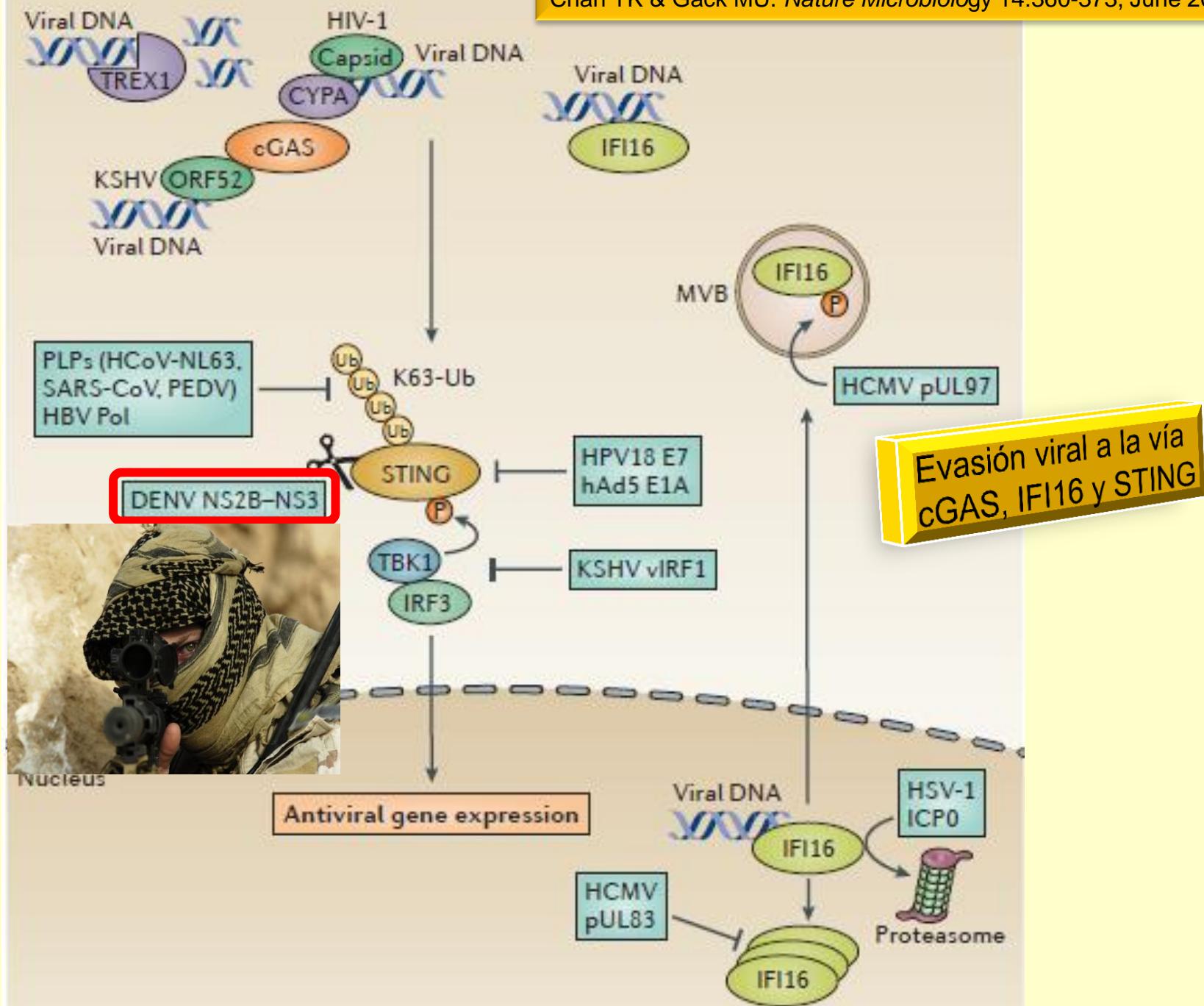
# Detección viral: síntesis

Molécula(s)	Sensores citoplasmáticos de RNA: helicasas	Sensores en citosol (c) y en núcleo (n) de DNA
Sensoras	RIG-1 y MDA-5	cGAS (c) e IFI16 (c / n)
Intermediaria principal	MAVS (= VISA = IPS-1) <i>en mitocondria</i>	STING <i>en RER</i>
Factores de transcripción	IRF-3 e IRF-7 NFkB	IRF-3 NFkB
Efectoras	IFN tipo I y III	IFN tipo I



## Evasión viral a la vía RLR-MAVS

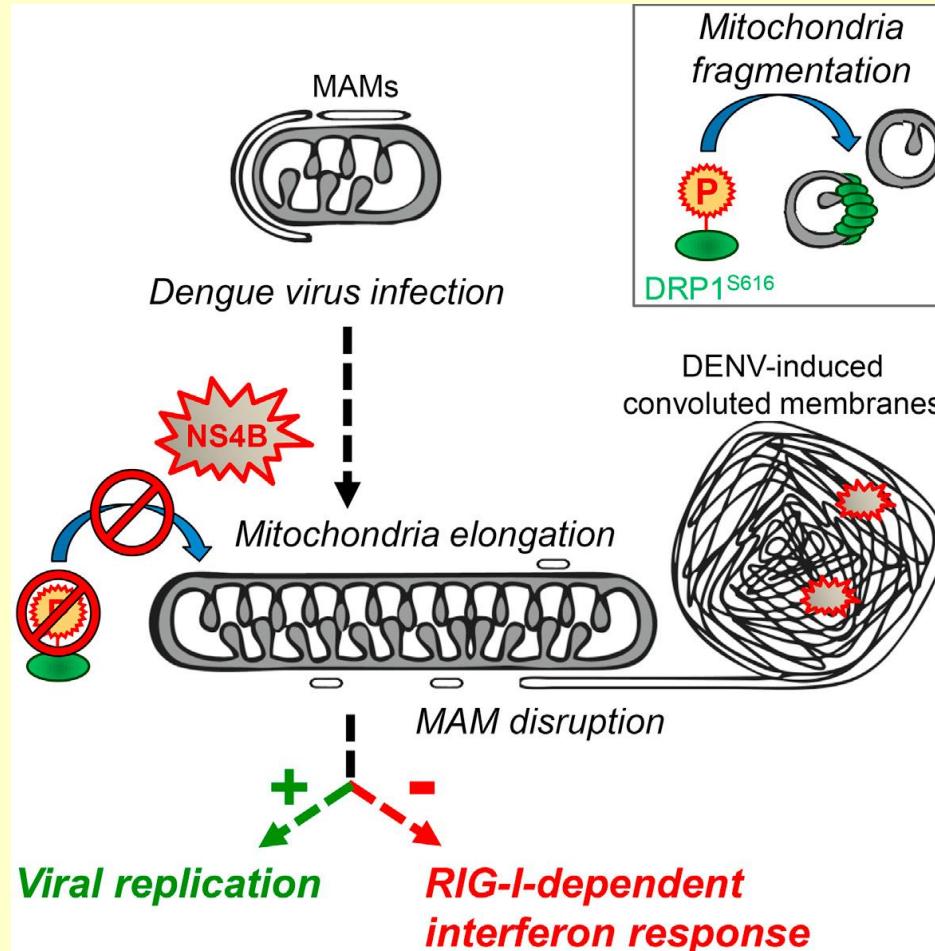


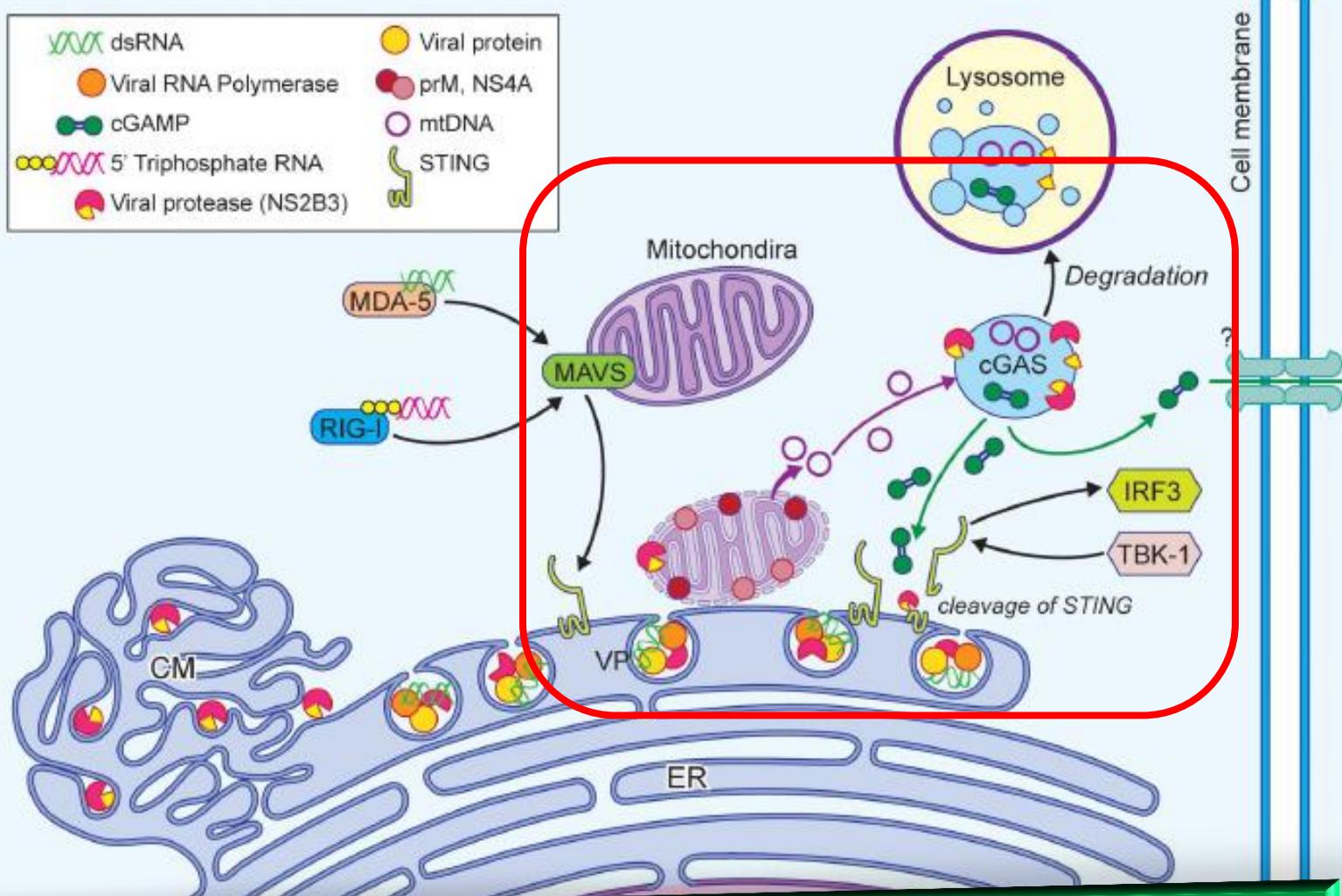


# Dengue y la mitocondria...

MAM: *mitochondrial associated membrane*

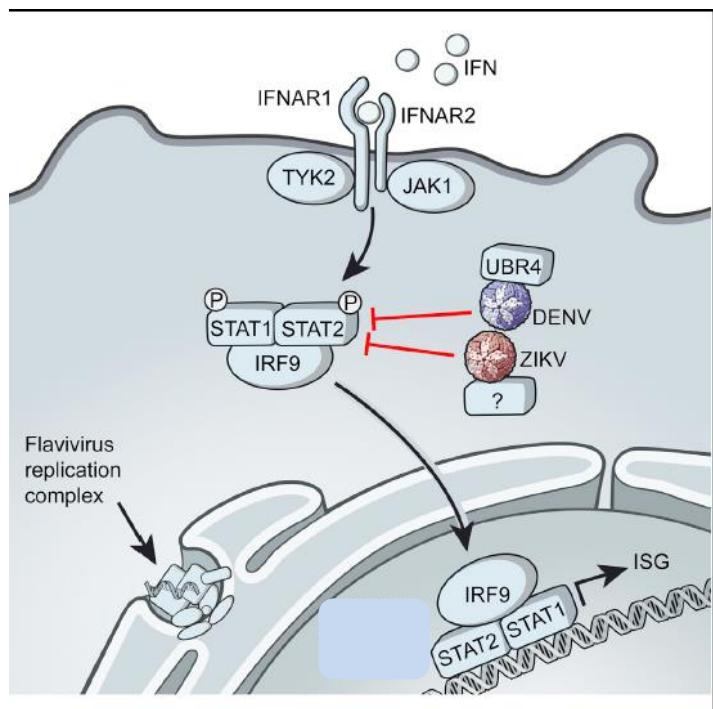
DRP: *Dynamin related protein*  
**(proteína de fisión mitocondrial)**





¿Por qué el virus dengue “debería” inhibir STING?

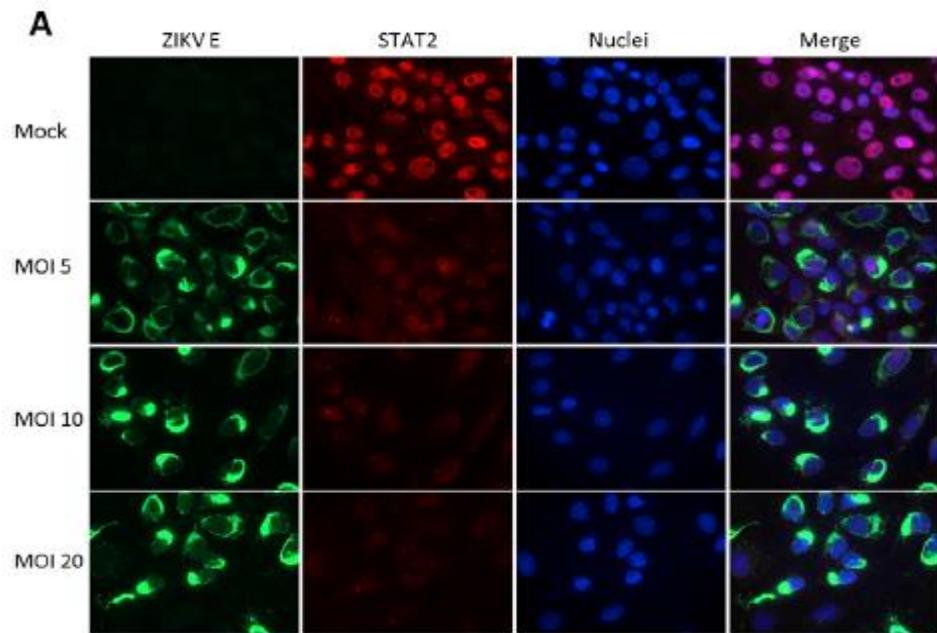
# Zika, al igual que el virus dengue, inhibe STAT2 y consiguentemente, la vía de señalización del IFN



DENV: virus dengue

ZIKV: virus Zika

ISG: *interferon-stimulated genes*  
(genes estimulados por el interferón)



IFI de células VERO (interferón [IFN]-deficientes) para detección de STAT2 endógeno, luego de la infección con virus Zika y tratamiento con IFN durante 30 min.

Mock: células no infectadas

MOI: multiplicidad de infección utilizada con el virus Zika

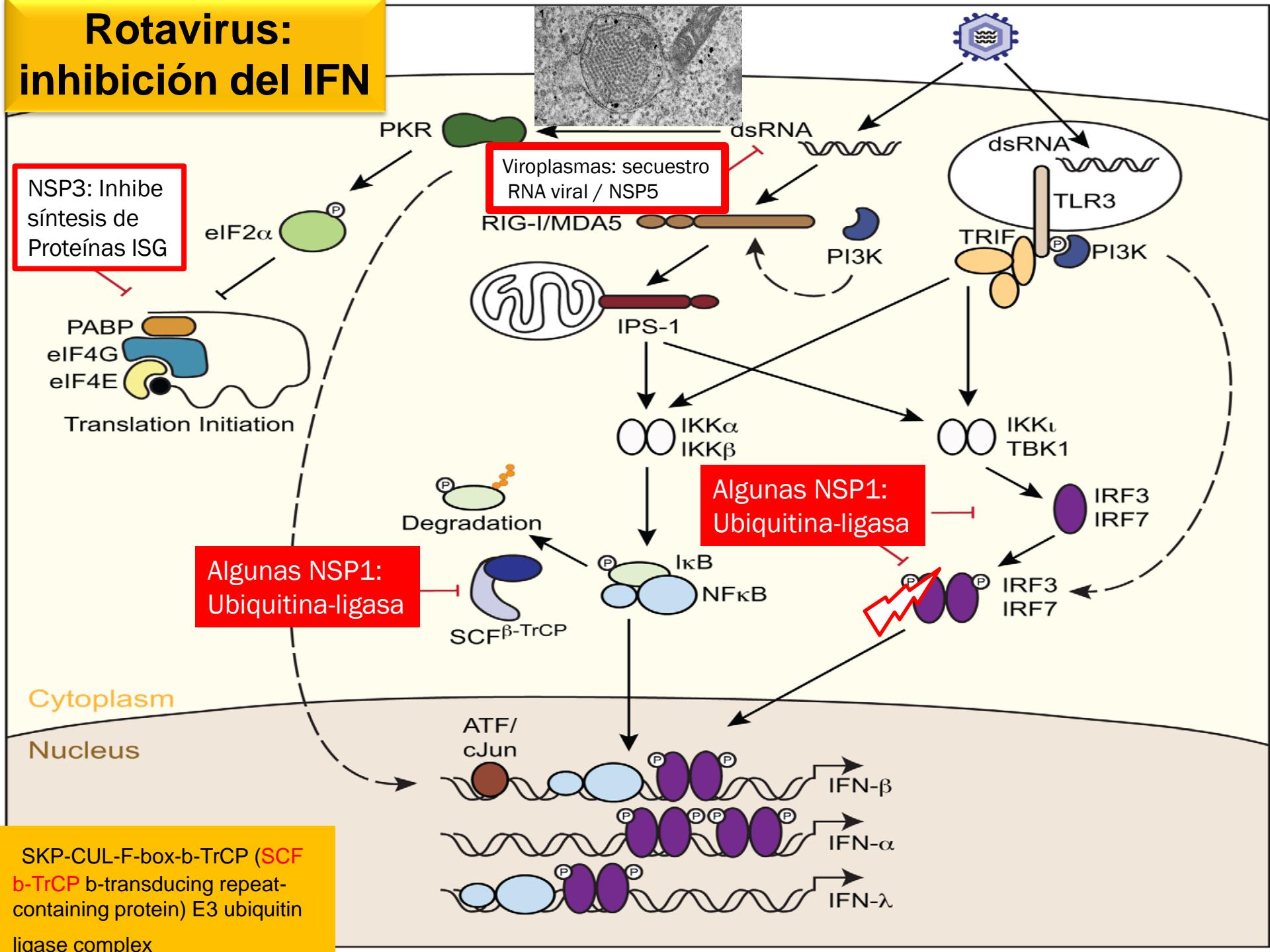
ZIKV E: expresión de antígeno de envoltura del virus Zika  
(color verde)

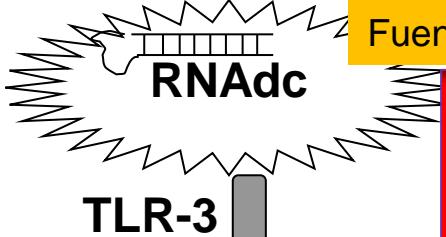
STAT2: expresión de antígeno de STAT2 (color rojo)

Nuclei: núcleos (colorante DAPI; color azul)

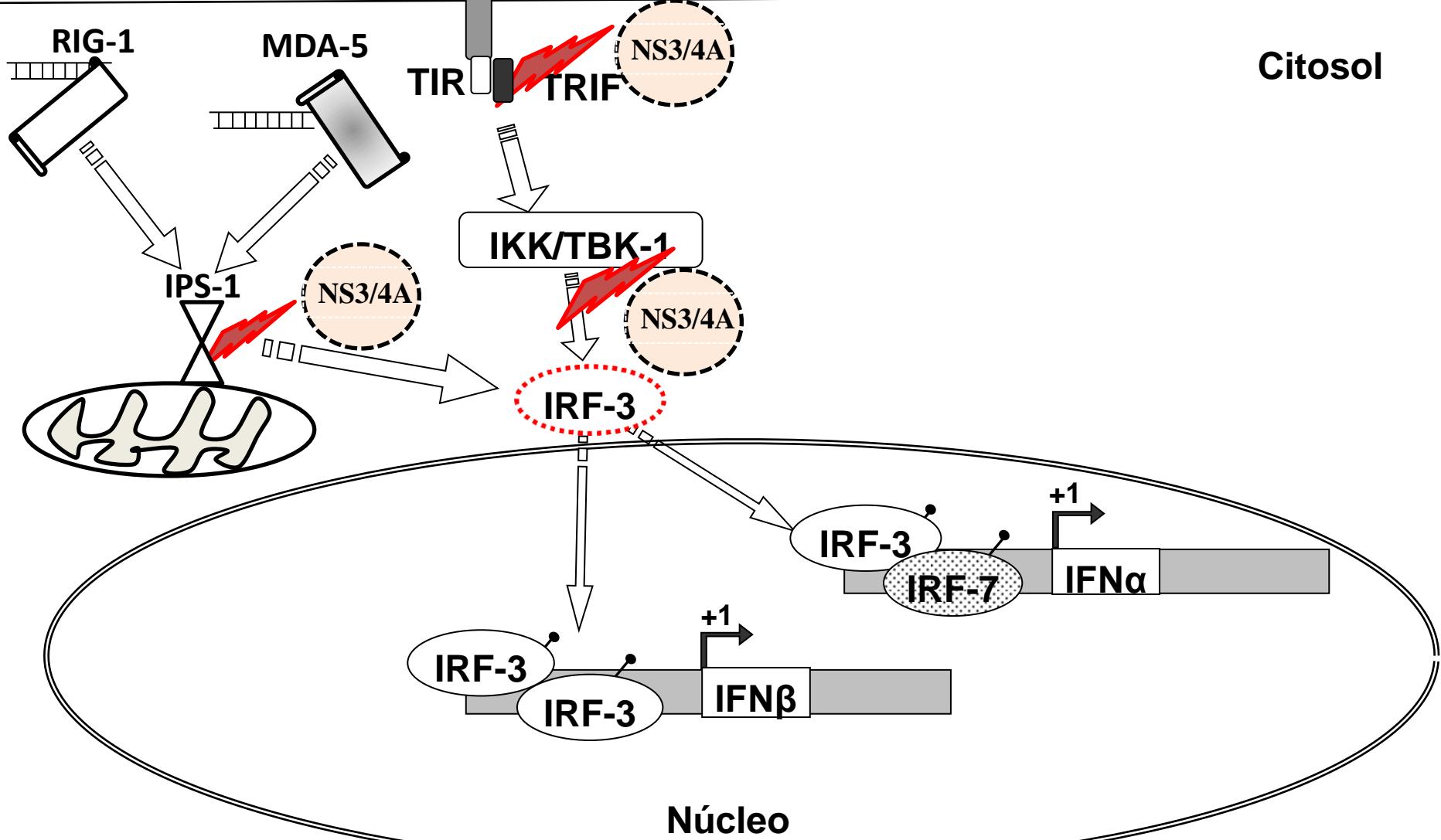
Merge: superposición de imágenes fluorescentes de las 3 columnas precedentes (ZIKV E, STAT2, y núcleos)

# Rotavirus: inhibición del IFN

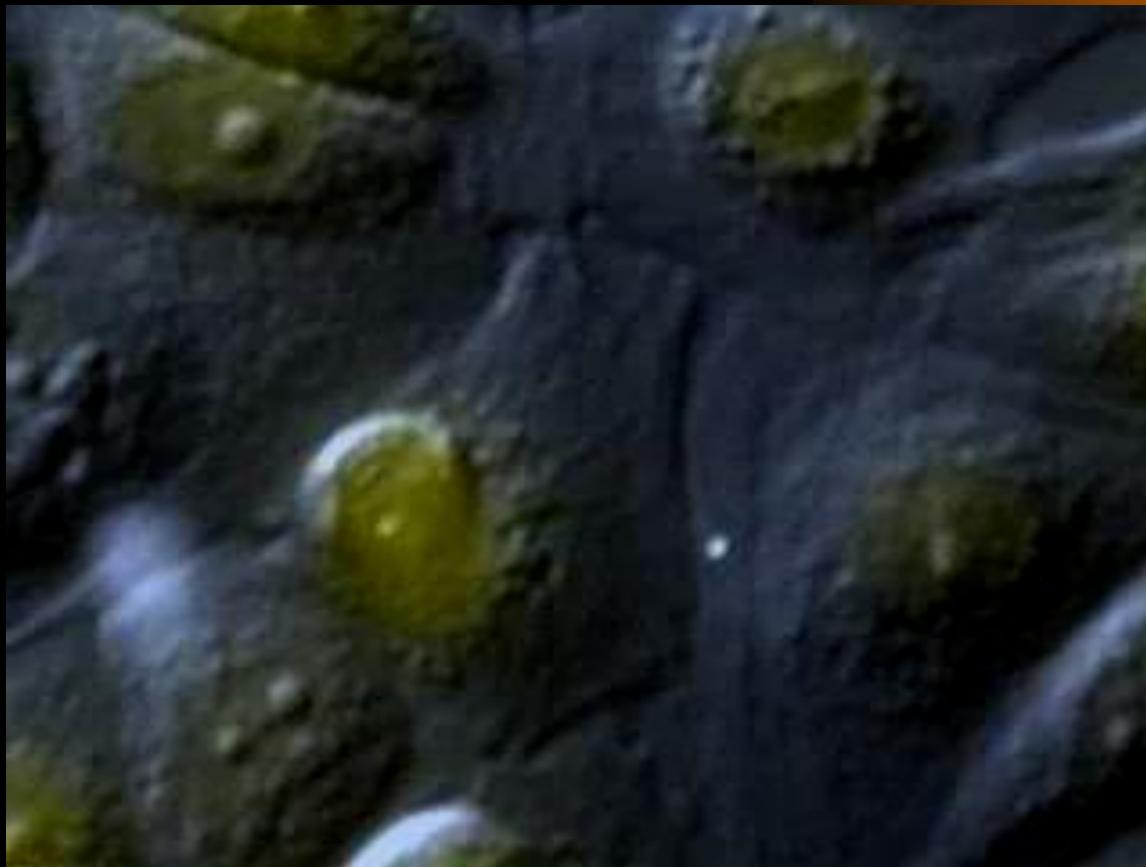




a.2) ¡CONTRAATAQUE DEL HCV: la proteasa NS3/4a inhibe la producción de IFN al afectar la vía de señalización helicasas / TLR → IFN!

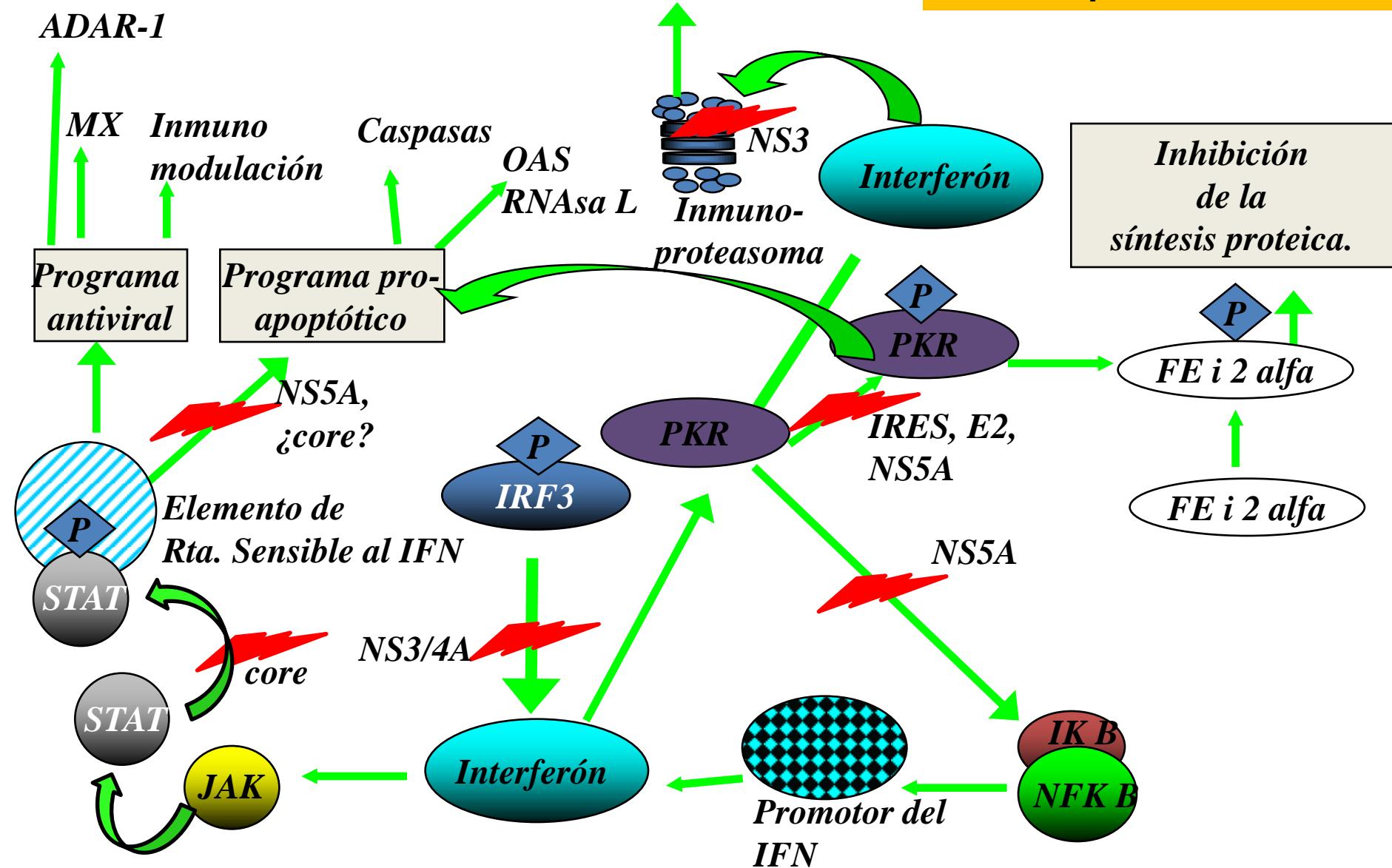


# Apoptosis *in vivo* (video)



*Presentación  
peptídica por MHC-I*

a.3) Antagonismo del HCV sobre genes inducidos por IFN-I

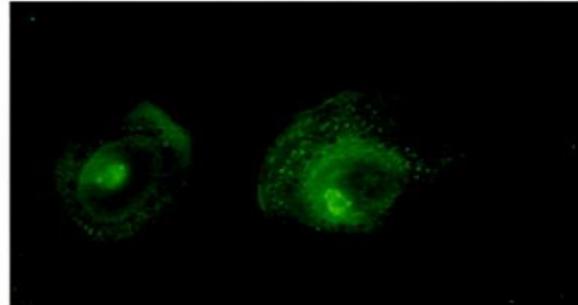
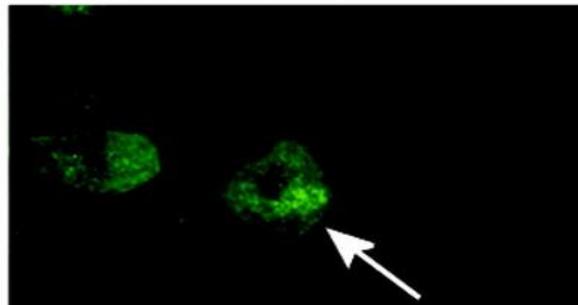
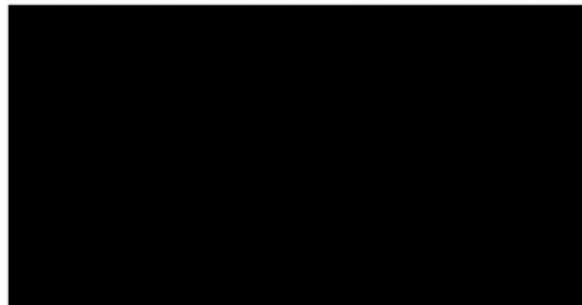


No RSV

rRSV

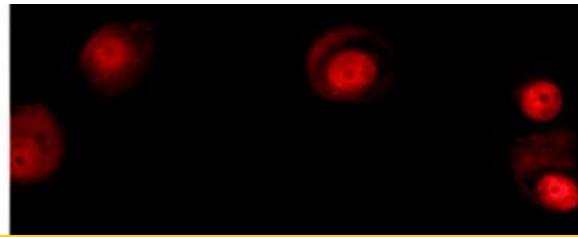
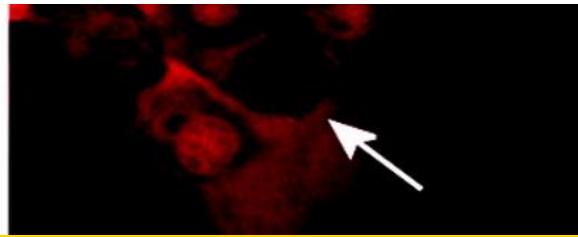
rRSV- $\Delta$ NS1- $\Delta$ NS2

RSV



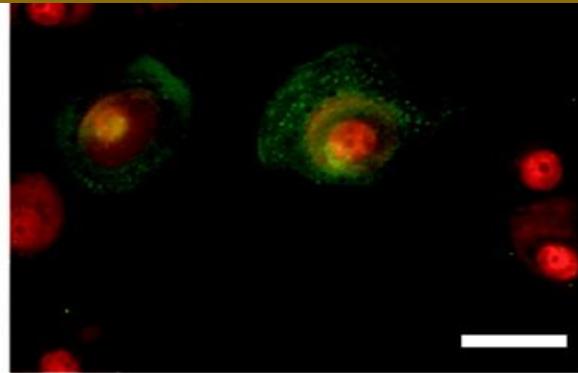
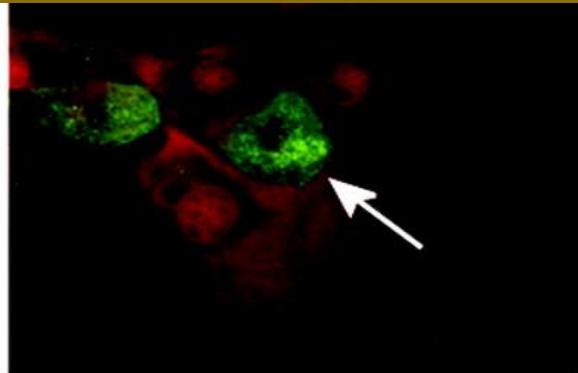
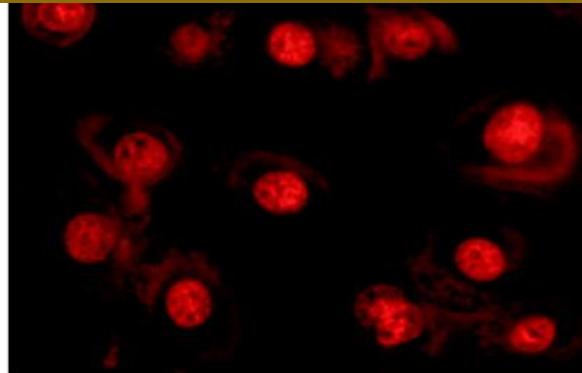
NS1 y NS2 de RSV inhiben translocación nuclear de STAT2 inducida por IFN

Stat2



(Fosfoproteína P de virus rabia también inhibe la translocación de STAT1 y STAT2!)

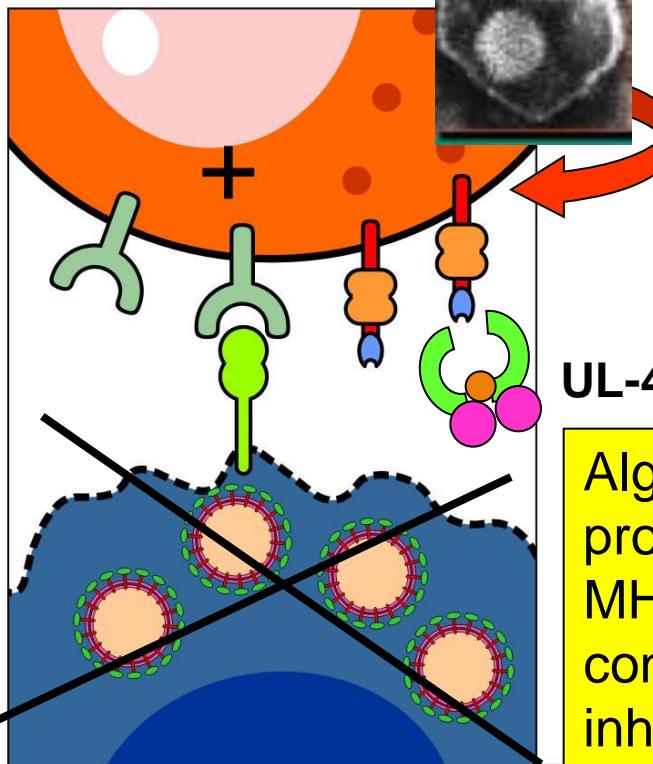
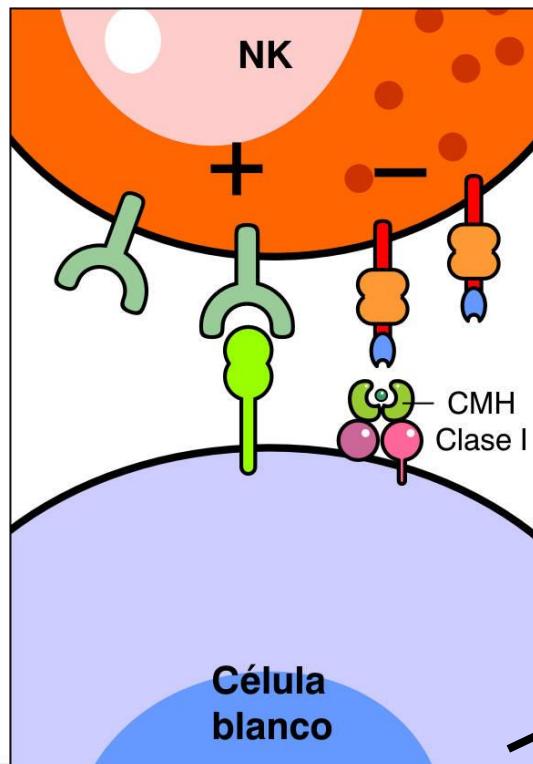
RSV + Stat2



## b) Evasión a las células NK

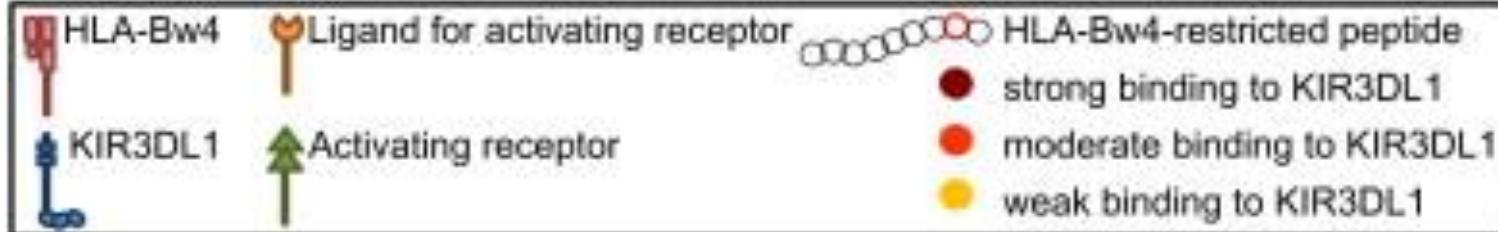
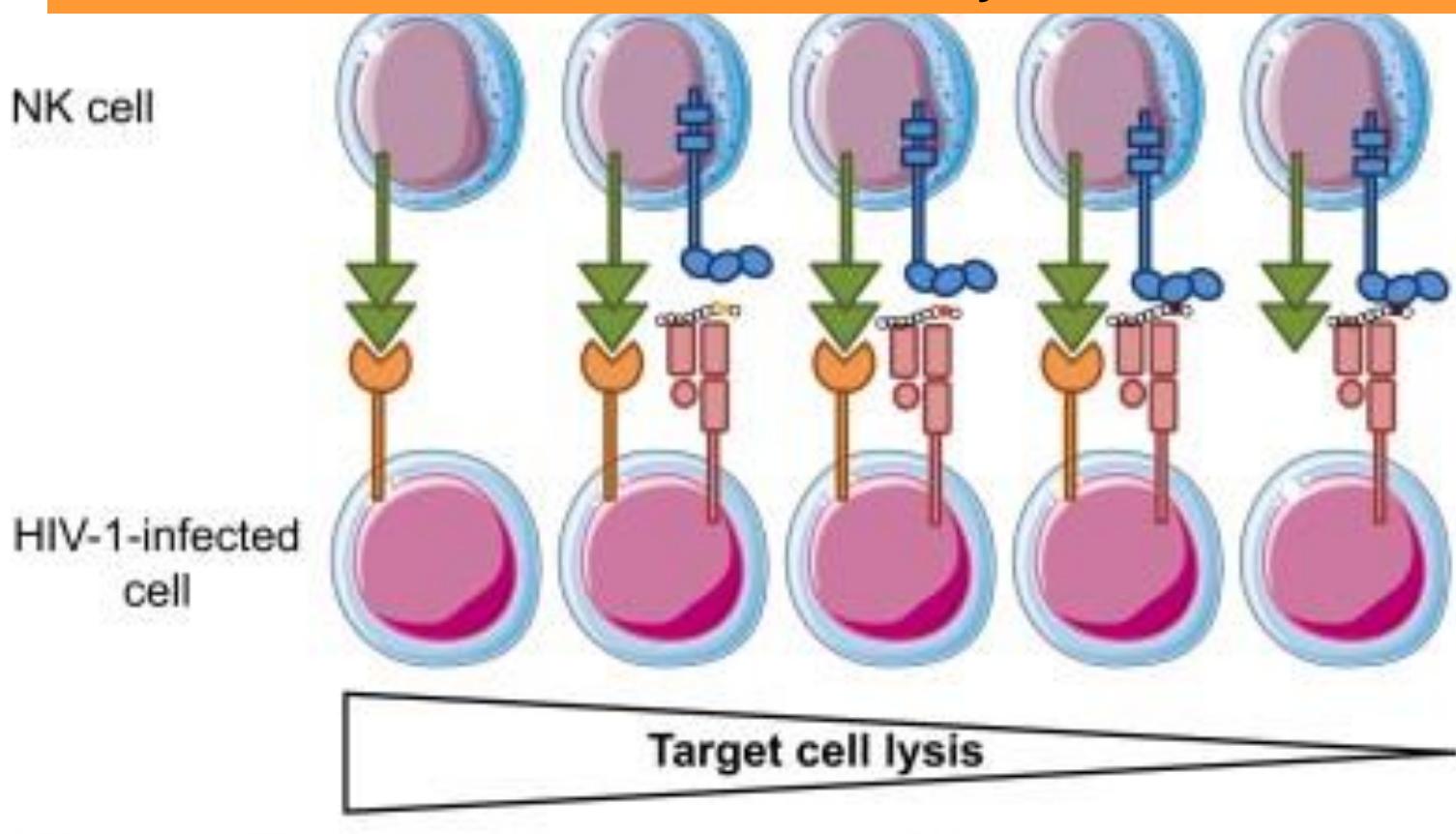
Los virus disminuyen la expresión de MHC-I lo que les permite escapar de la acción de los LT CD8+.

La baja expresión de MHC-I convierte a la célula infectada en blanco de células NK.

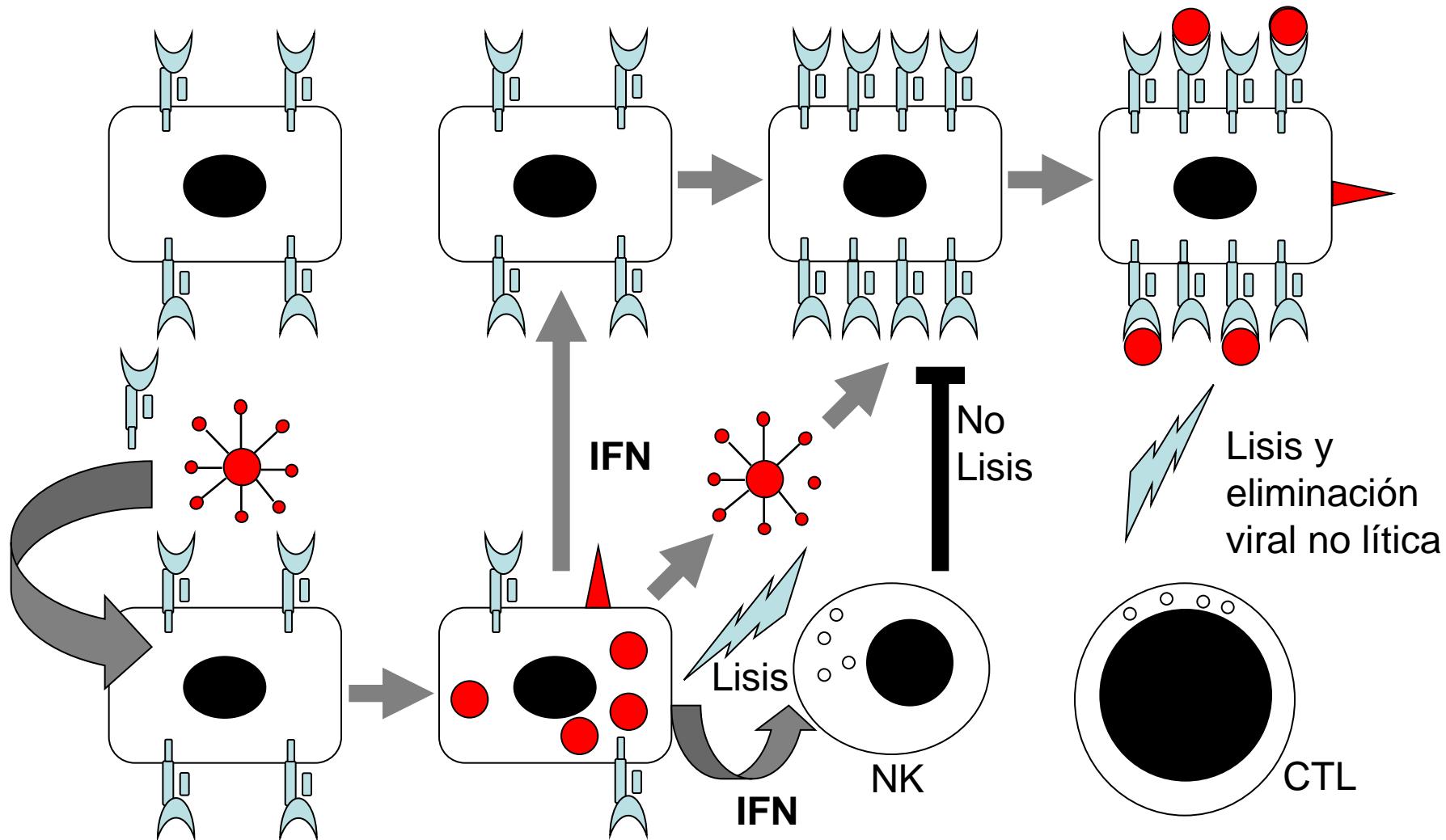


Algunos virus codifican proteínas homólogas a las MHC-I que interactúan con los receptores inhibidores de las células NK.

## Influencia de la presentación de péptidos de HIV sobre la interacción KIR3DL1 /HLA-Bw4 y la actividad de las NK

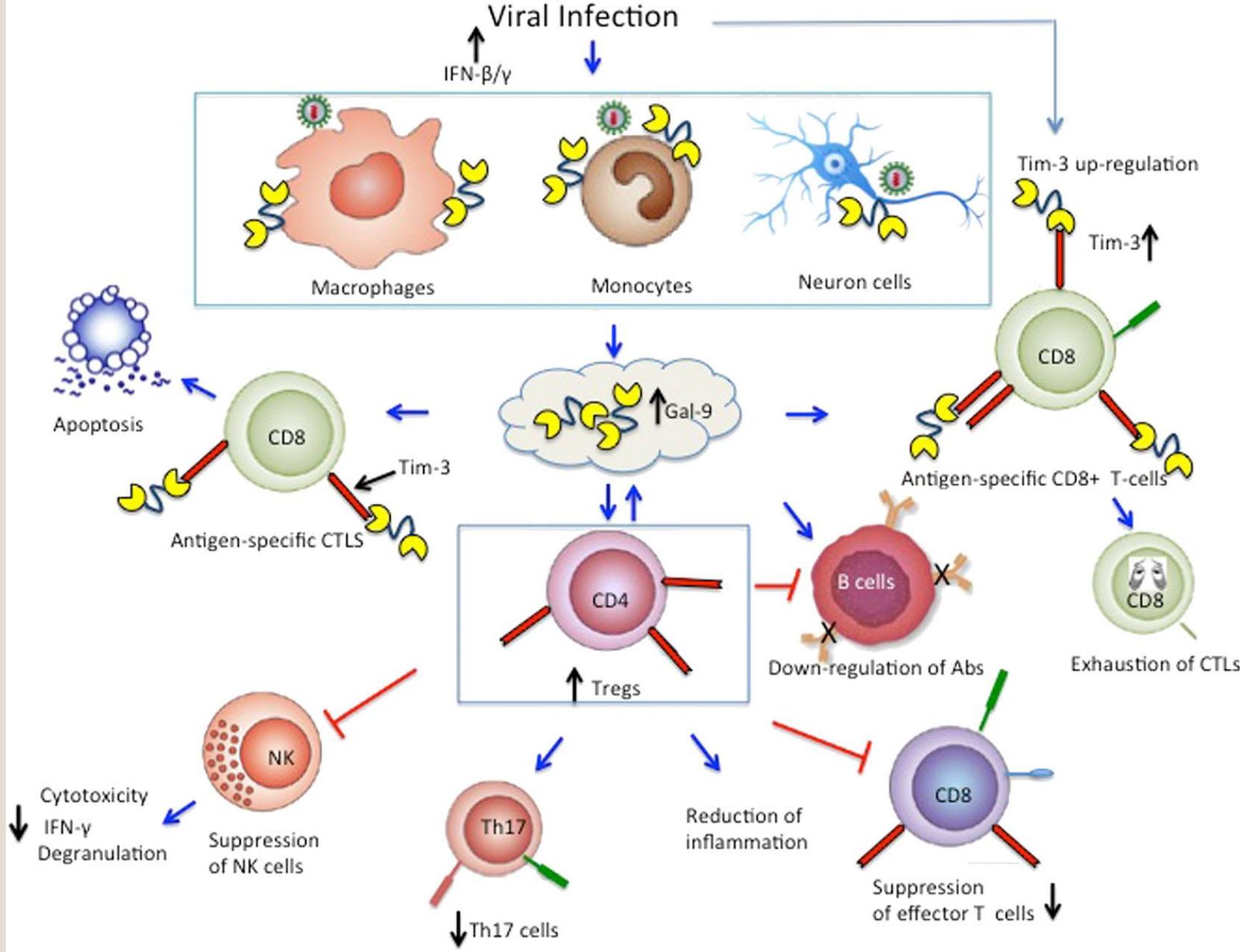


# Inmunidad celular e infección viral



De: Virología Médica

Carballal – Oubiña. 2015



## c) Evasión a los linfocitos T citotóxicos CD8+ Inhibición de la presentación antigénica por HLA-I

1. Inhibición de la expresión de HLA-I en la superficie de la célula.
2. Inhibir la generación del péptido antigénico.
3. Interferir con el procesamiento antigénico.
4. Inhibir HLA, pero no tanto...(HIV)

# RESPUESTA INMUNE ANTIVIRAL

DÉBIL  
OLIGOCLONAL

MONO- u OLIGOESPECÍFICA

VIGOROSA  
POLICLONAL  
MULTIESPECÍFICA

INFECCIÓN  
AGUDA



Francis V. Chisari

INFECCIÓN  
CRÓNICA

DÉBIL  
OLIGOCLONAL  
MONO- u OLIGOESPECÍFICA

VIGOROSA  
POLICLONAL  
MULTIESPECÍFICA

# Apoptosis *in vivo* (video)

## PART I

CD8 T<sub>E</sub> crawl along liver sinusoids until hepatocellular Ags are recognized

*Multiphoton IVM*

Cor93 T<sub>E</sub>

Env28 T<sub>E</sub>

Sinusoids

Hepatocyte nuclei

# Apoptosis *in vivo* (video)

## PART I

CD8 T<sub>E</sub> express IFN- $\gamma$  while still in the intravascular space

*Confocal immunofluorescence histology*

Cor93 T<sub>E</sub>

Env28 T<sub>E</sub>

Sinusoids

IFN- $\gamma$

# Apoptosis *in vivo* (video)

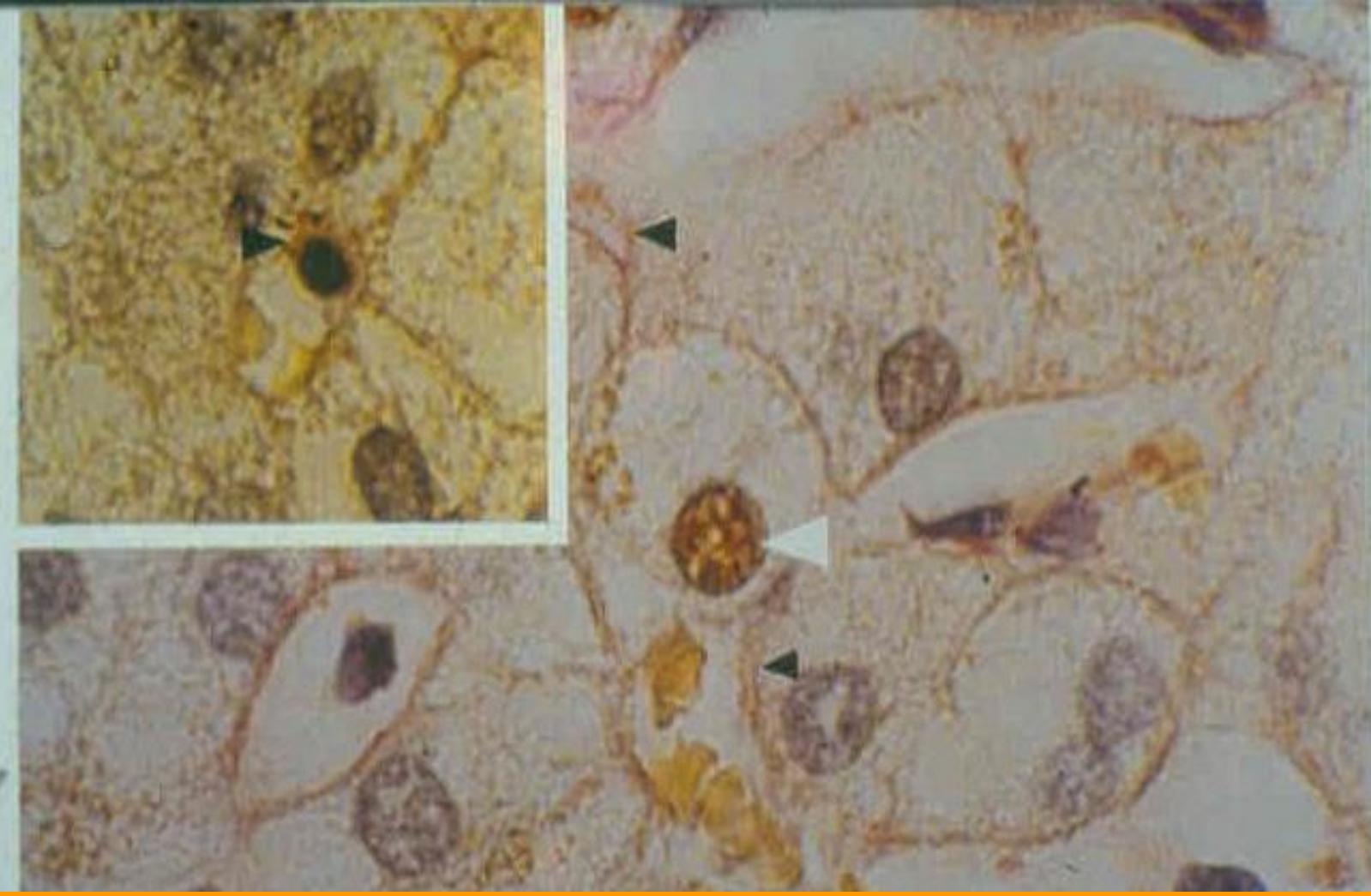


CD8 T<sub>E</sub> extend cellular protrusions through  
sinusoidal fenestrae to contact  
subendothelial hepatocytes

*Correlative confocal and transmission  
electron tomography*

Cor93 T<sub>E</sub>

Sinusoids



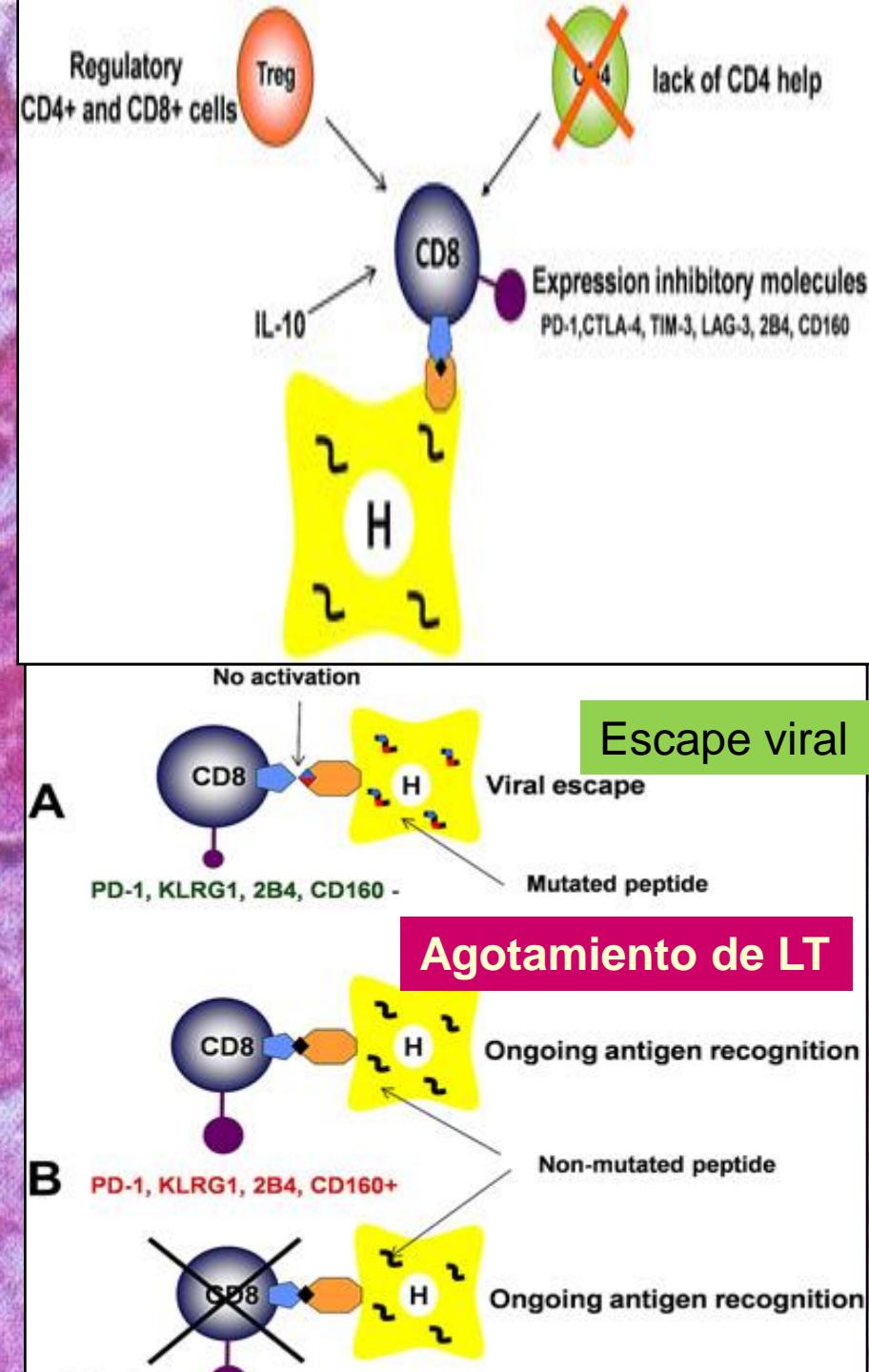
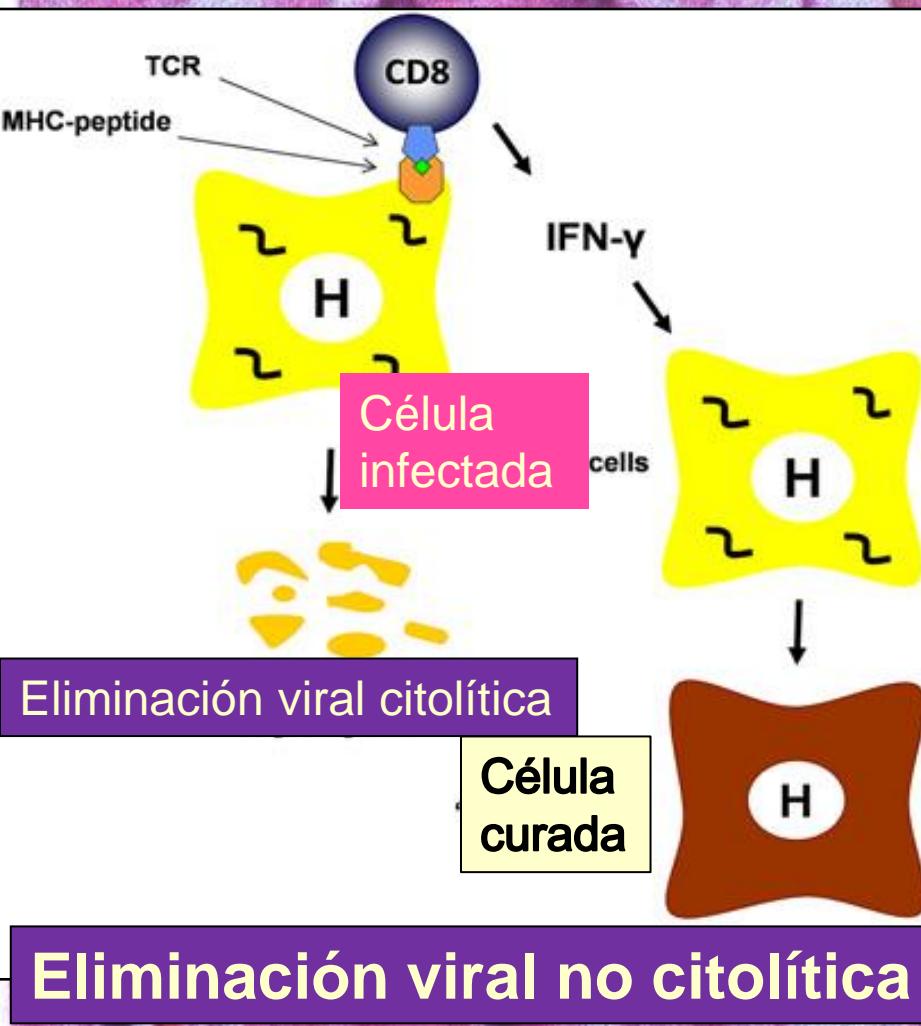
### Biopsia hepática de un paciente infectado con HBV y tratado con Interferón.

Ausencia de expresión de  $\beta$ 2 microglobulina en hepatocitos infectados con HBV (la flecha blanca indica la expresión de la proteína terminal). Otro hepatocito no infectado expresa dicha proteína del MHC-I (flecha negra).

En el inserto superior izquierdo se observa un linfocito que expresa  $\beta$ 2 microglobulina constitutivamente (flecha negra).

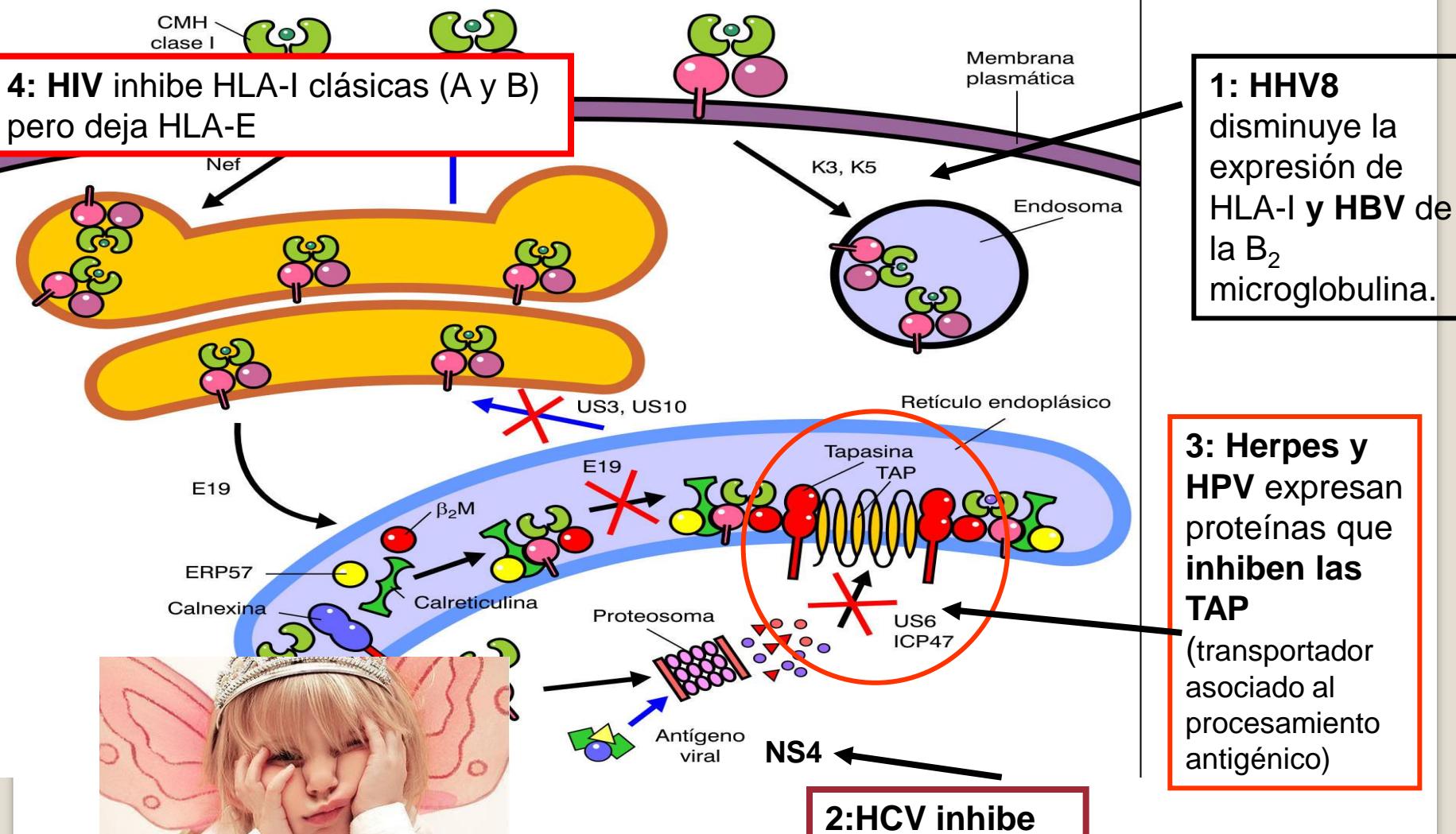
(De: *Hepatology*, 1995).

# Hepatitis C crónica



# c) Evasión a los linfocitos T citotóxicos

## Inhibición de la presentación antigenica por HLA-I



2. EBNA-1 (EBV)

Proteasoma: "estoy **aburrida de esperarte...**  
Gly-Ala-Gly-Ala-Gly-Ala-Gly-Ala-Gly-Ala...



Úlcera



Coriorreitinitis



Hepatitis

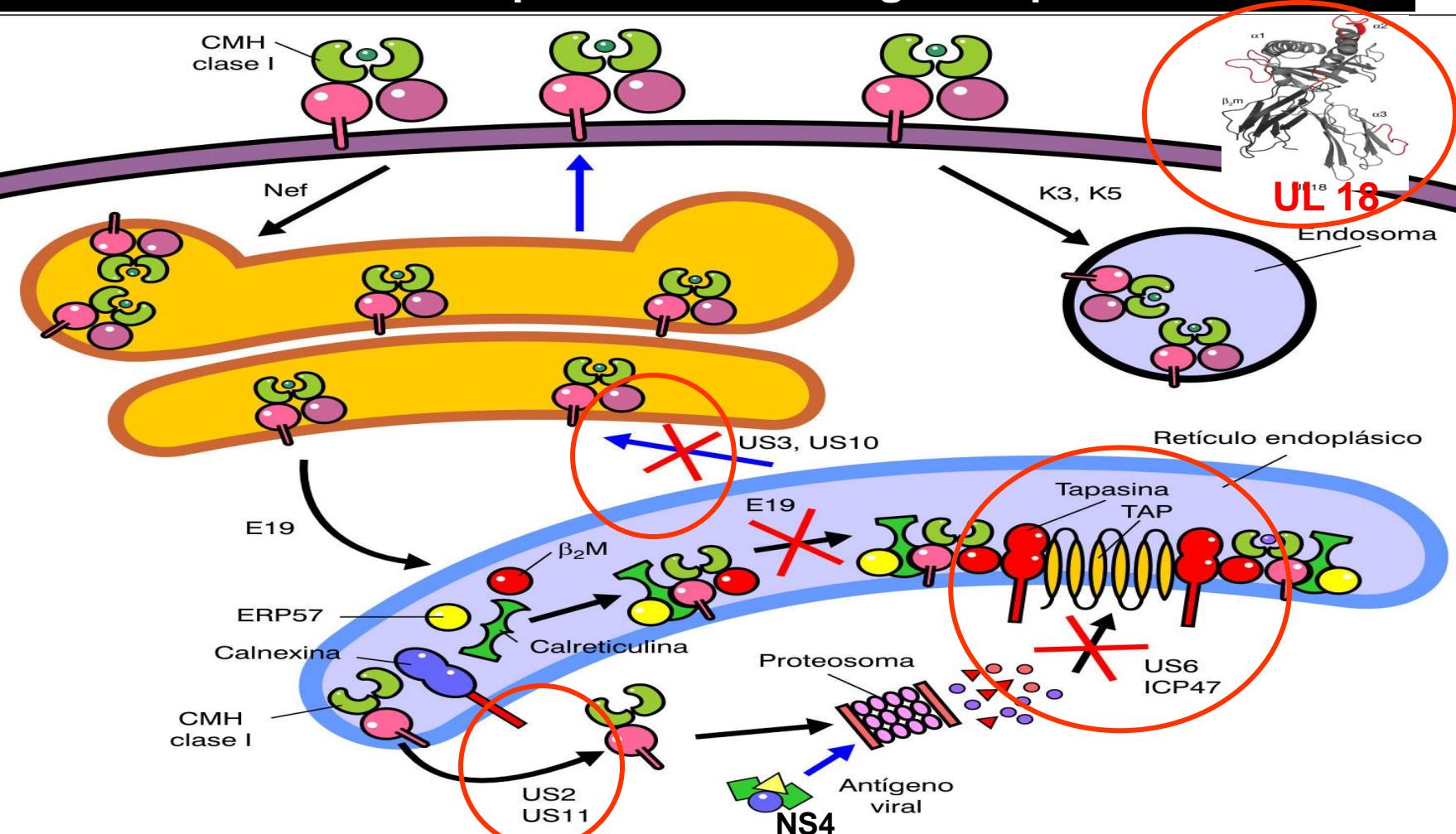
# Infección por Citomegalovirus humano



Replicación en  
túbulos renales

# Evasión a los linfocitos T citotóxicos

## Inhibición de la presentación antigenica por HLA-I



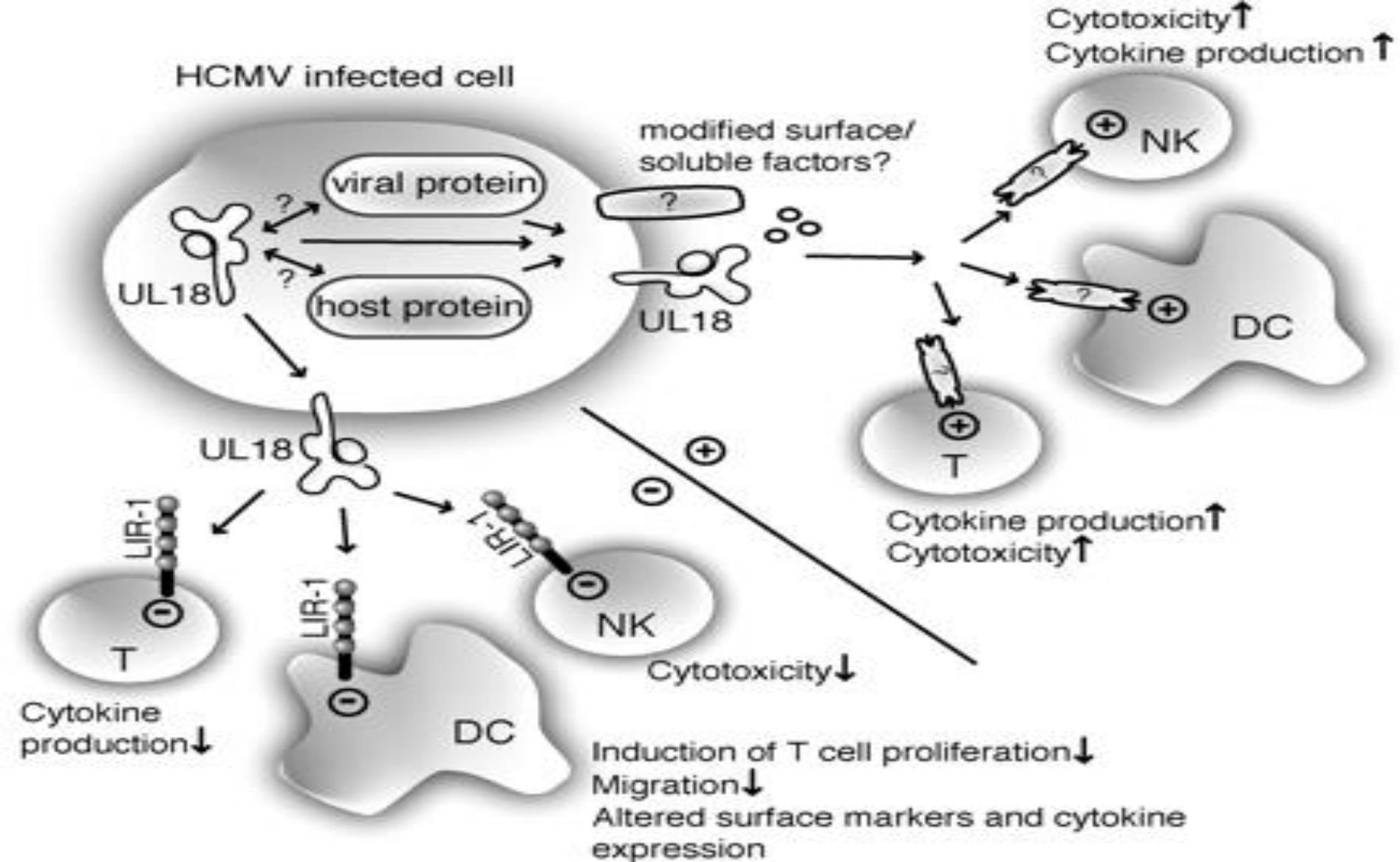
4: hCMV: **US2** y **US11** degradan CMH-I;

**UL18:** Análogo de CMH-I, inhibe NK (y se une al receptor de LB y Monocitos Lir-1)

**US6:** inhibe las TAP ;

**US3 y US10:** inhiben transporte al Golgi;

**pp65 :** fosforila (directa o indirectamente) péptidos para CMH-I, inhibiendo su presentación



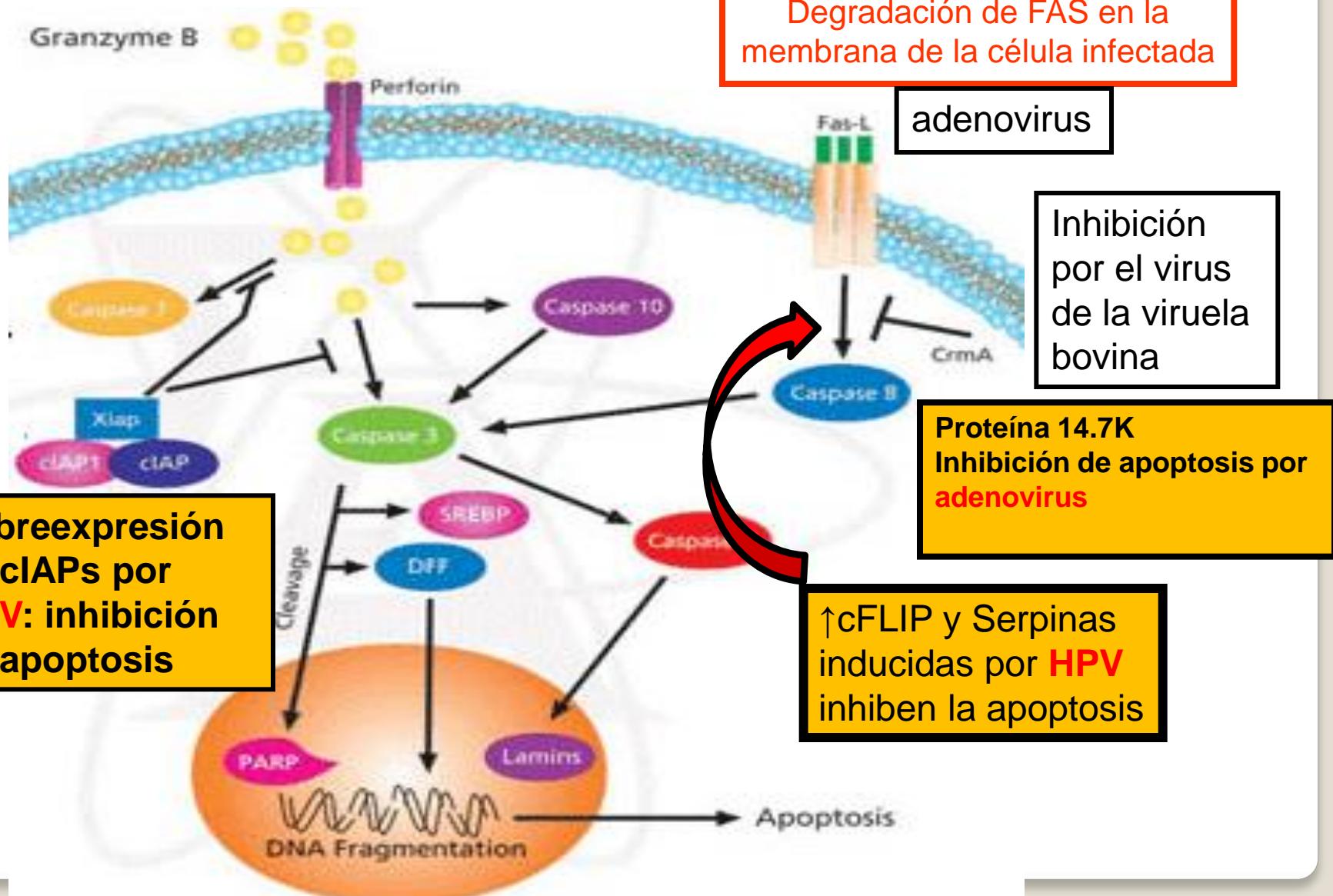
**UL18 tiene efectos activadores (arriba a la derecha) e inhibidores (abajo a la izquierda) en diversas células del sistema inmune. La activación o inhibición por UL18 depende de la localización de la proteína (intracelular o en superficie) y del repertorio de receptores de la célula diana.**

## Infección congénita por citomegalovirus humano



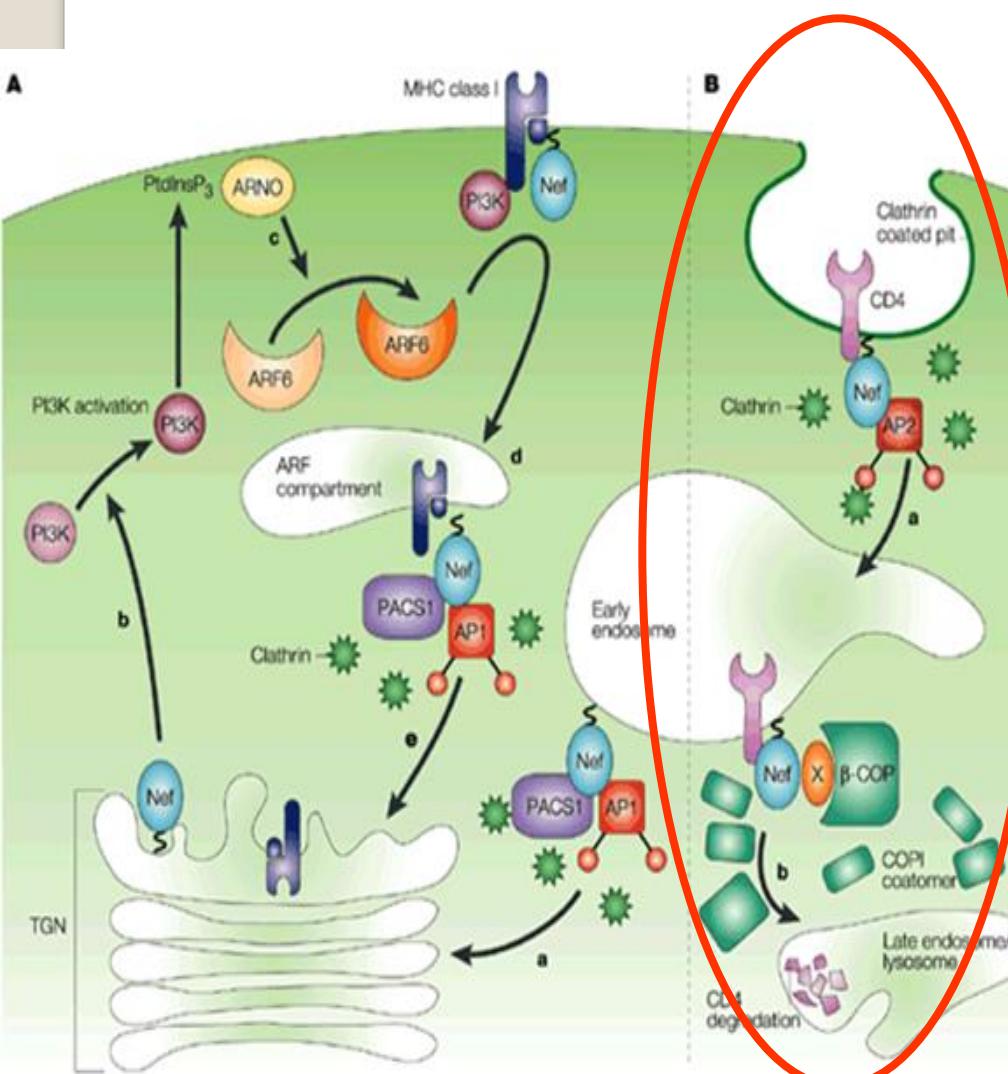
# c) Evasión a los linfocitos T citotóxicos

Interferencia en la apoptosis desencadenada por LT CD8+.

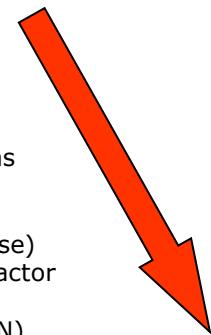


## d) Evasión a los LT CD4+

- Disminución de la expresión de CD4 en superficie por la proteína Nef de HIV
- Degradación de CD4 neosintetizado inducido por Vpu de HIV



**A |** Nef acelera la endocitosis de las moléculas MHC I a través de moléculas tales como el complejo PACS1/PI3K (phosphofurin acidic cluster sorting protein 1/phosphatidylinositol 3-kinase) que depende para su activación del factor 6 de ribosilación (ARF6) (**a**). Nef se localiza en la red del trans-Golgi (TGN), donde adquiere su capacidad de activar a PI3K (**b**). La síntesis de fosfatidil-inositol trifosfato (PtdInsP<sub>3</sub>) dispara el reclutamiento del factor de recambio de guanosina (ARNO) a nivel de la membrana plasmática, donde ARF6 se activa (**c**). ARF6 junto a Nef, median la internalización de MHC I desde la membrana plasmática a un compartimiento endosómico (**d**). Desde allí, las moléculas MHC I son redirigidas al TGN, donde quedan atrapadas (**e**). Para explicar la especificidad de la interacción, es probable la unión entre Nef y el dominio citoplasmático de HLA-A y HLA-B, aunque requiere ser confirmada formalmente. **B |** Dos etapas para la disminución de CD4 inducida por el Nef. En la membrana plasmática, Nef conecta la cola citoplasmática del CD4 con fosas recubiertas de clatrina por interacción con la proteína adaptadora 2 (AP2) y la ATPasa vacuolar (v-ATPase), dispara la rápida endocitosis del receptor (**a**). En el endosoma temprano, Nef interactúa con el coatómero COPI, desde donde se lo dirige a su degradación lisosómica (**b**).

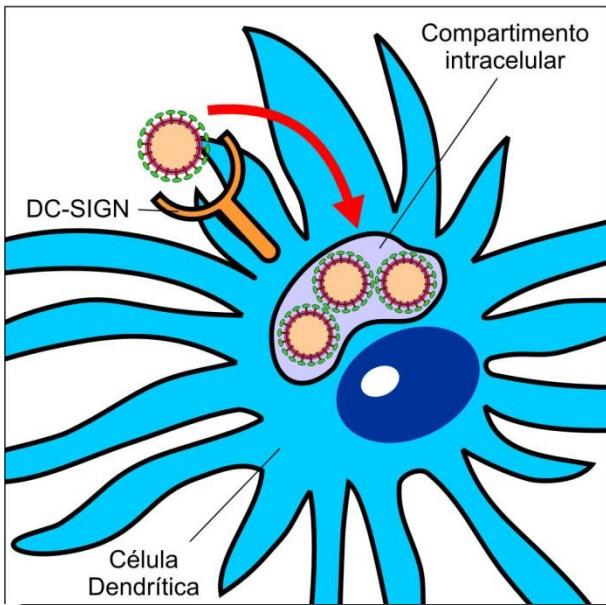


**Perjudica la presentación antigenica. Favorece la anergia**

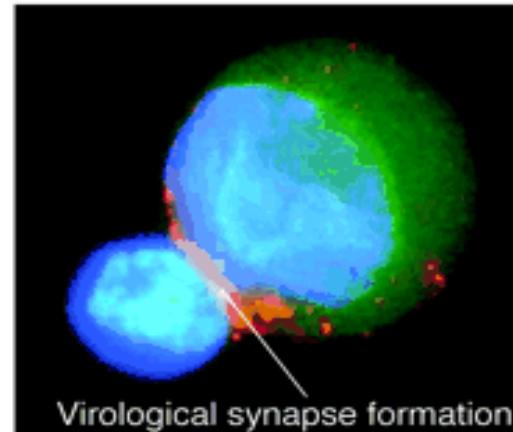
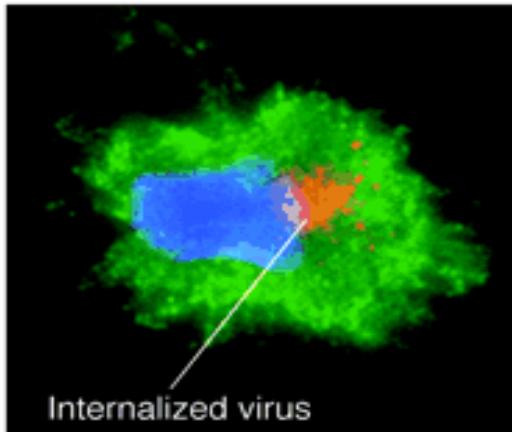
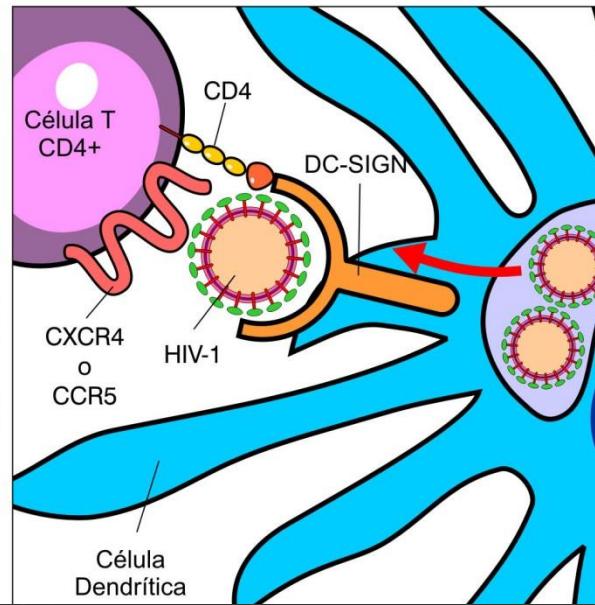
# Utilización de receptores de lectina tipo C

Evitar presentación  
Facilitar diseminación

Ganglio linfático

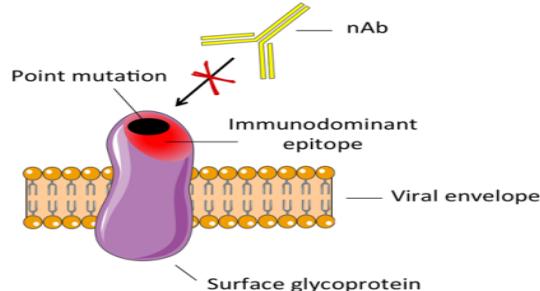


Tejidos periféricos

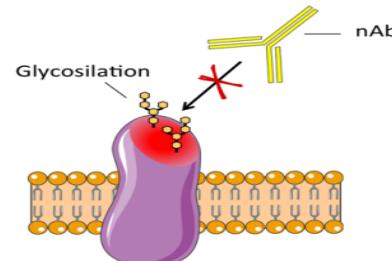


# e) Evasión a anticuerpos neutralizantes

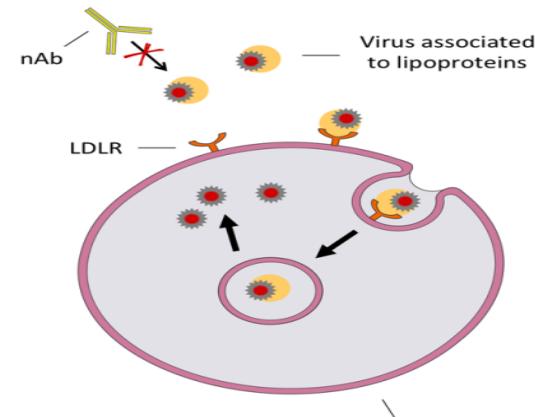
## A. Mecanismos de escape a los Acs. neutralizantes contra proteínas de superficie



I) Mutación puntual  
(Ej. RNA virus)

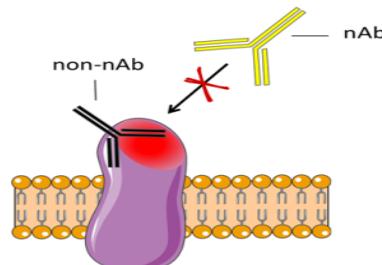


II) Camuflaje glucídico  
(Ej. HIV)

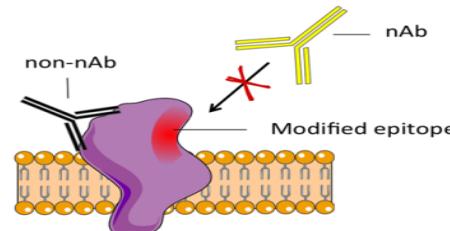


III) Camuflaje por asociación con componentes séricos  
(Ej. HCV)

## B. Posibles mecanismos de interferencia mediados por anticuerpos no-Neutralizantes



I) Impedimento estérico



II) Cambio conformacional del epítope

# Mecanismos de evasión a la respuesta inmune del VSR

Cambios antigénicos  
menores (*antigenic drifts*)



- ✓ Delecciones / codones prematuros de stop en el gen G
- ✓ Inserciones / repeticiones nt en el gen G
- ✓ *Frame shifting* (cambio de marco)
- ✓ Variable glicosilación de la proteína G

# e) Evasión a anticuerpos neutralizantes

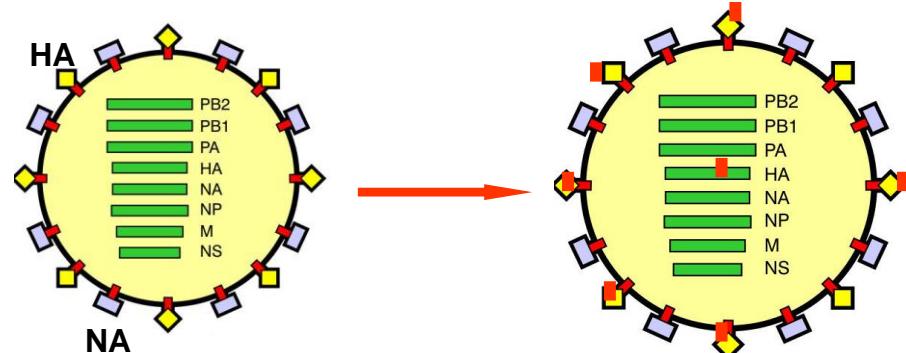
## Variación Antigénica

### Drift antigenico:

- Acumulación gradual de mutaciones

menores en el genoma viral que alteran la antigenicidad

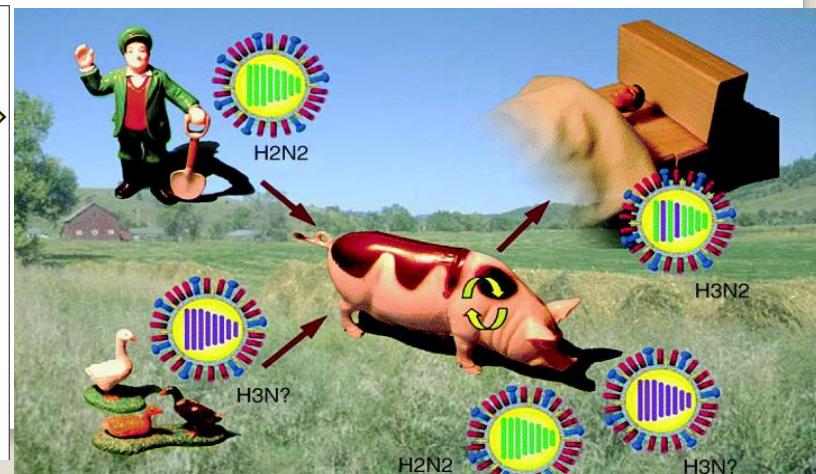
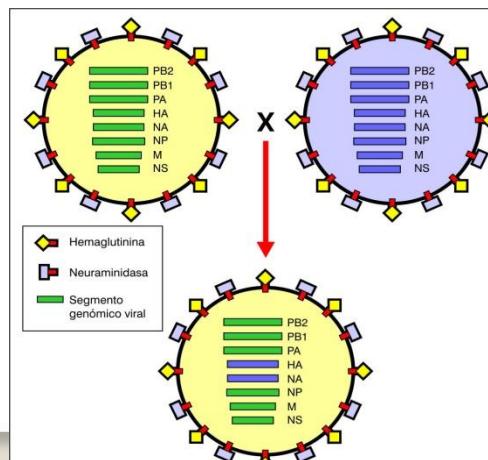
Tasa: RNA virus >>> DNA virus



### Shift antigenico :

- Cambios abruptos y mayores en la antigenicidad debidos a re-asociaciones genómicas entre virus de subtipos antigenicos diferentes del tipo A

Ej: Influenza

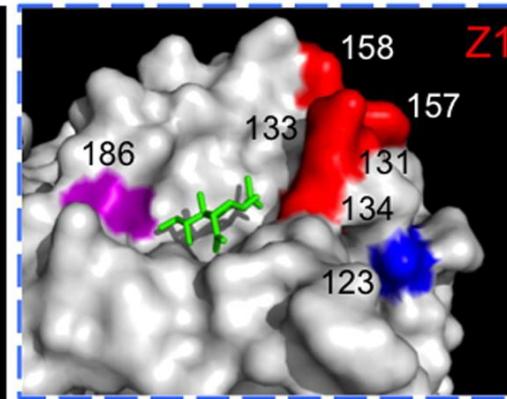


## Mapa de mutantes de escape de la hemaglutinina de Influenza generadas por la presencia de un anticuerpo monoclonal (EM4C04 )

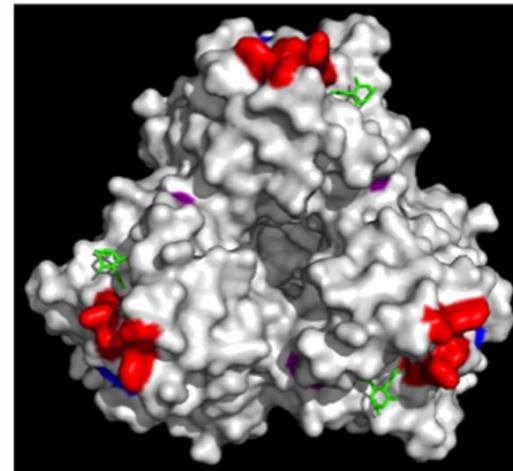
A



B



C



O'Donnell C D et al. mBio 2012; doi:10.1128/mBio.00120-12

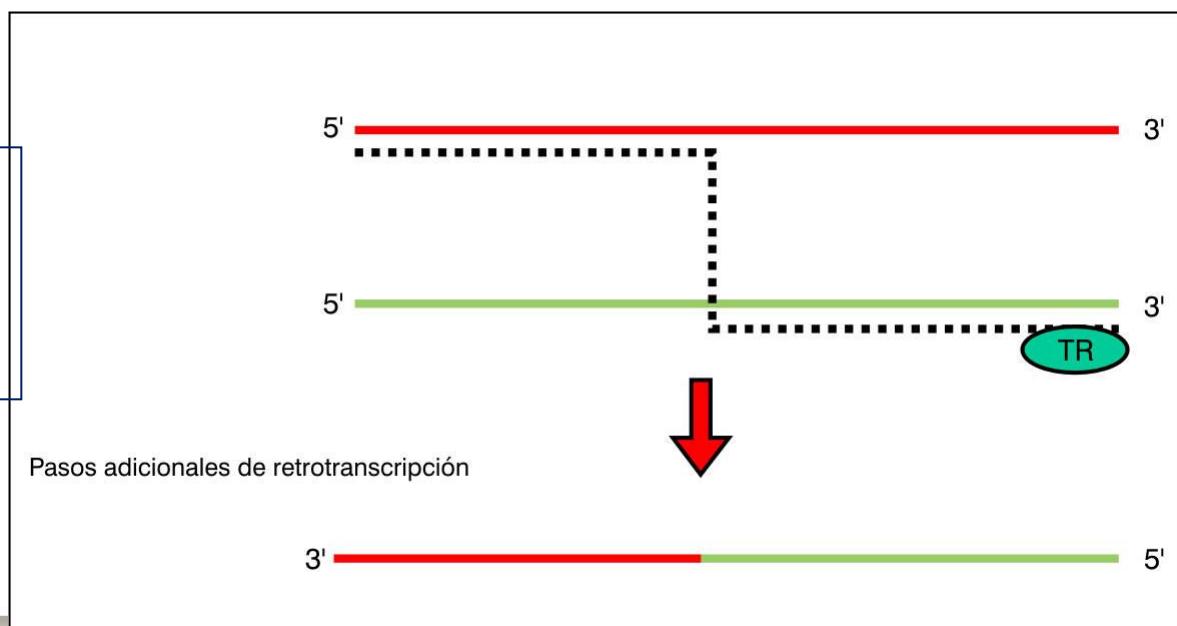
# e) Evasión a anticuerpos neutralizantes

## Variación Antigénica

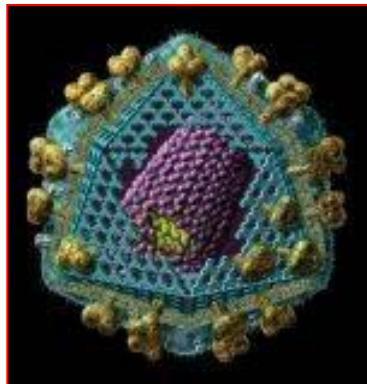
### Recombinación genética:

- Cambios abruptos a nivel genómico con potencial impacto en la antigenicidad, dados por mecanismos que implican la generación de un templado a partir de copias parentales diferentes (*copy choice*, *strand displacement*, etc).

Ejs.:  
**HIV**  
**HBV**  
**HCV (excepcional)**  
**Adenovirus**



## e) Evasión a anticuerpos neutralizantes



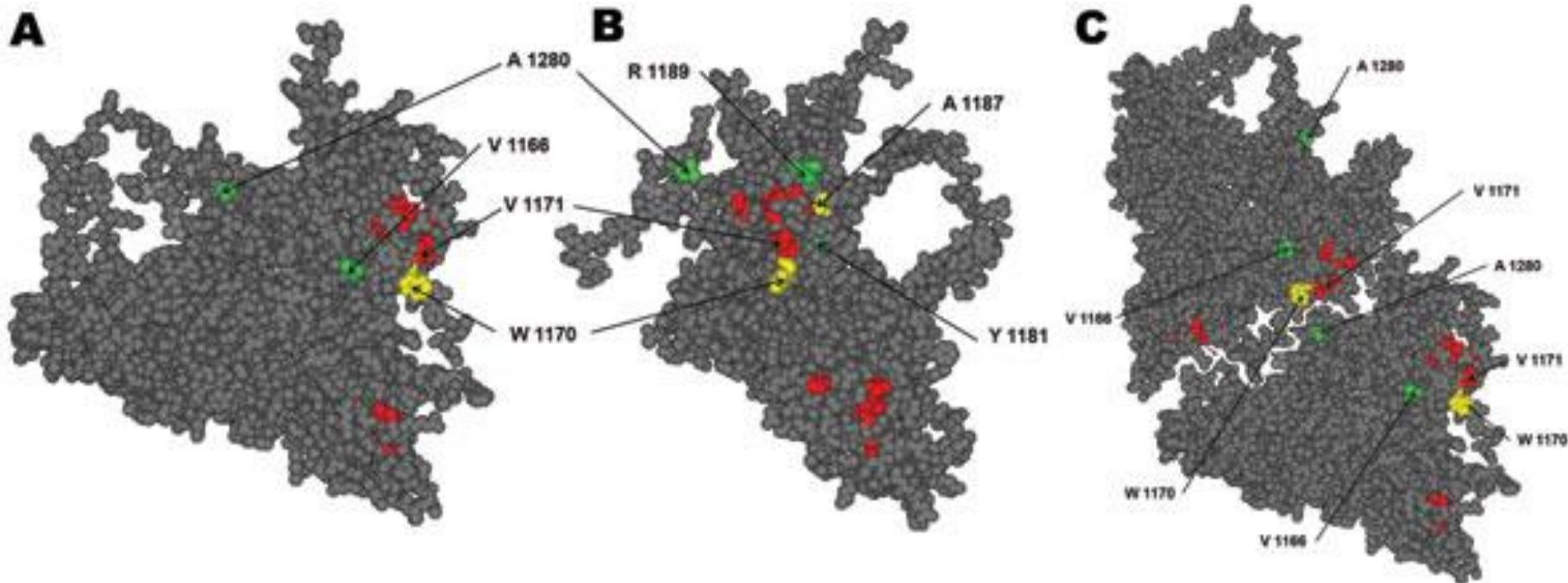
HIV

- Secreción de monómeros de gp120 y gp41 de **HIV** o de partículas esféricas y filamentosas del **HBV**: ¡señuelos!.
- Oclusión de dominios conservados dentro del oligómero y exposición de dominios hipervariables (**HIV**).
- Alto grado de glicosilación (**HIV**).



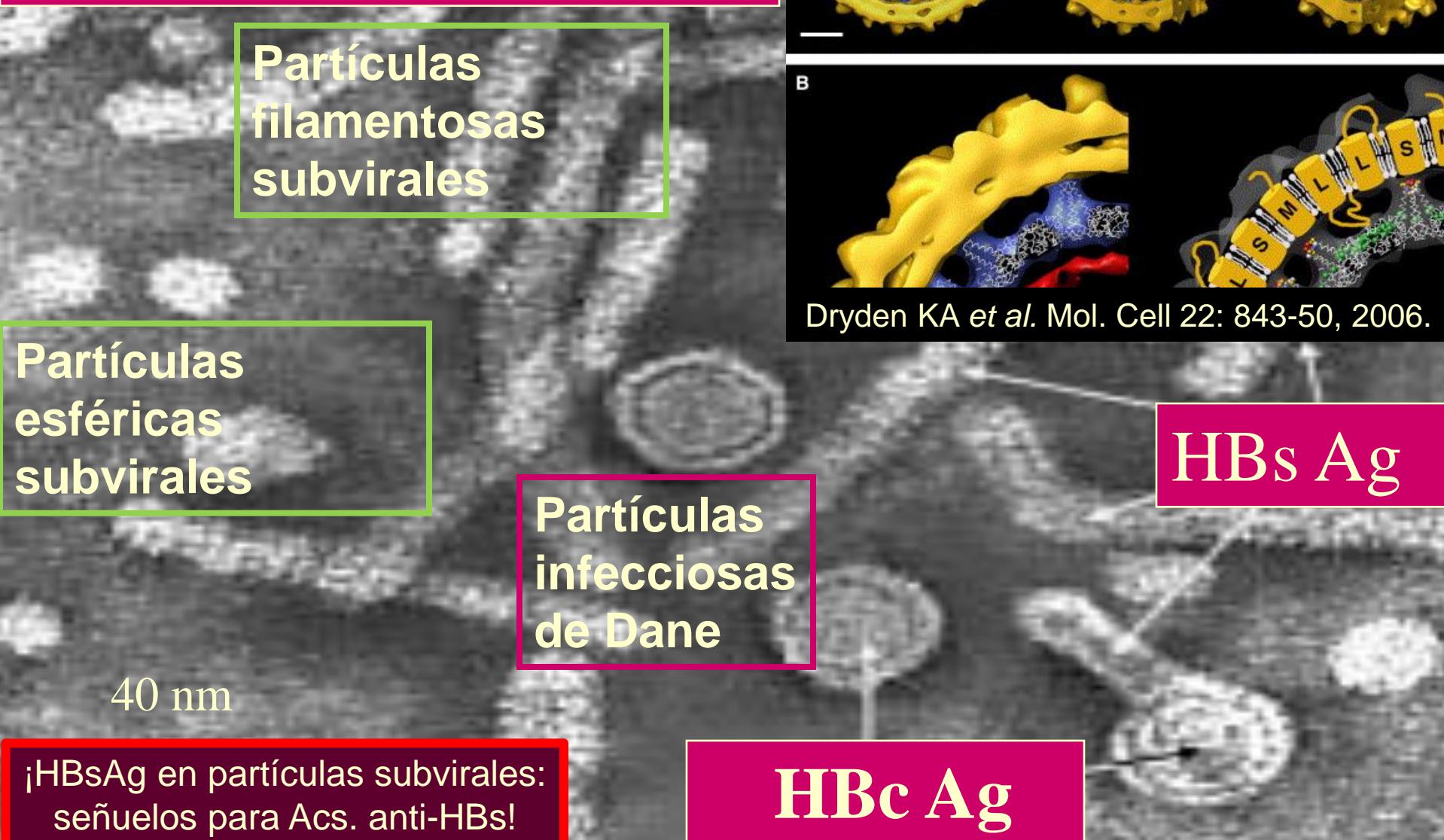
HBV

# Sustituciones aminoacídicas en VP1 de HAV emergente en Hombres que tienen sexo con hombres (HSH) (variante de escape a la vacuna anti-hepatitis A)



Hepatitis A virus protomer model ([11](#); refined by Ming Luo, University of Alabama, Birmingham, AL, USA), which includes the locations of all of the substituted residues in viral protein 1 detected in the isolated variants during 2005–2009. A) Front view of the external surface. B) Lateral view. C) View of 2 adjacent protomers, showing the close contact of residues 1171 and 1280. Red, residues forming the immunodominant site; yellow, residues substituted in monoclonal antibody-resistant mutants C6 (W1170C) and P29 (A1187P); green, residues substituted in the identified natural variants. The amino acid substitution V1171A detected in 1 variant is shown in red because this residue belongs to the immunodominant site.

# Complejidad estructural del HBV

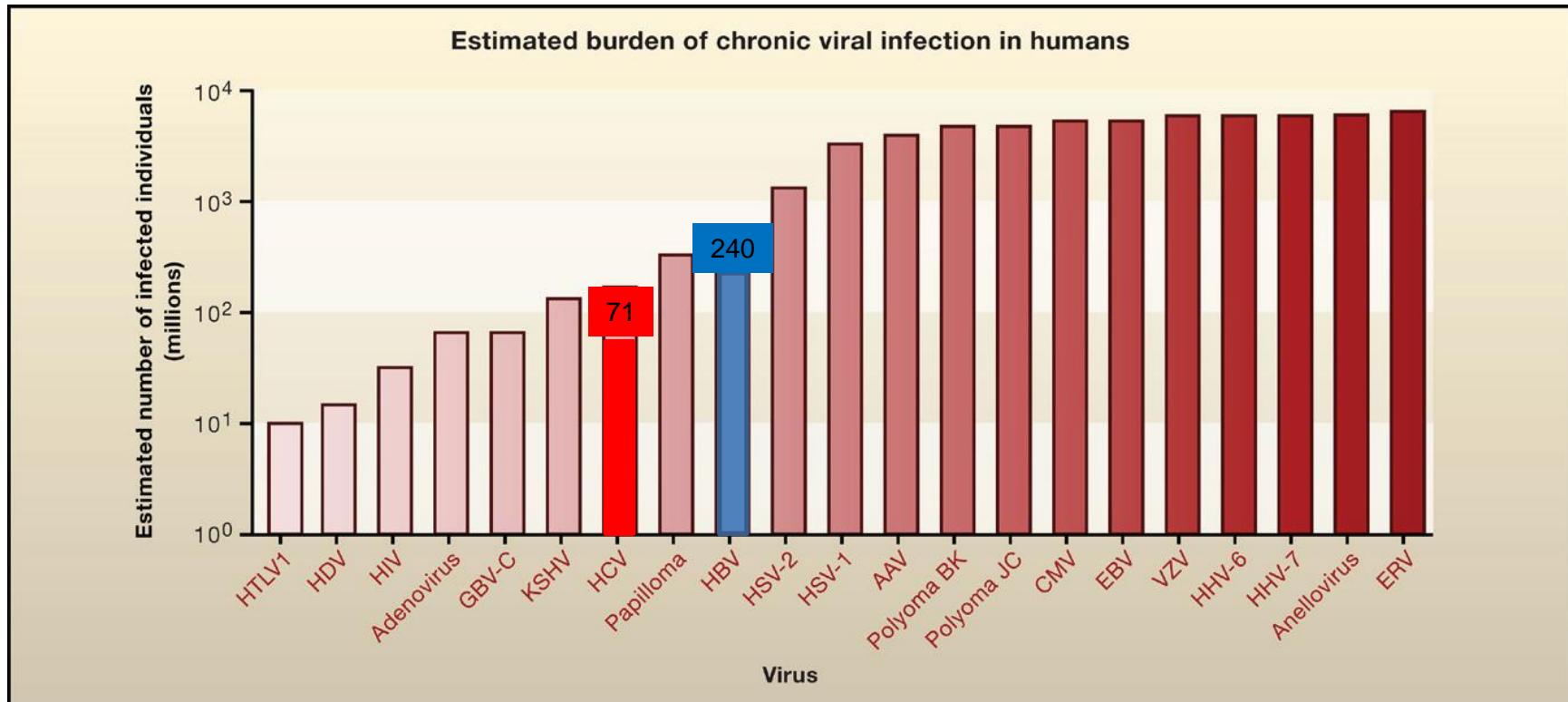


# Contenidos

- Mecanismos generales: evitar el reconocimiento y afectar los mecanismos de defensa.
- Diversidad y variabilidad genética y antigénica.
- ¿Cómo hacen los virus para evitar el reconocimiento mediante la variabilidad / diversidad?
- ¿Cómo hacen los virus para afectar la respuesta inmune del hospedador?
- Algunos ejemplos: HSV, EBV, HIV, HCV, HPV, sarampión, rabia, Ébola.
- Conclusiones

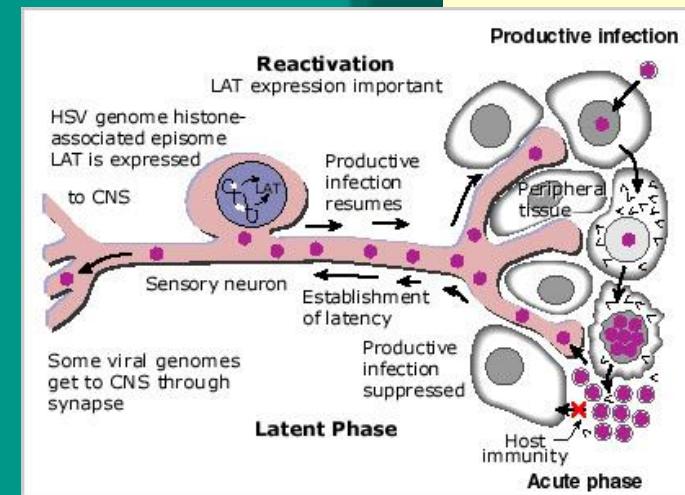
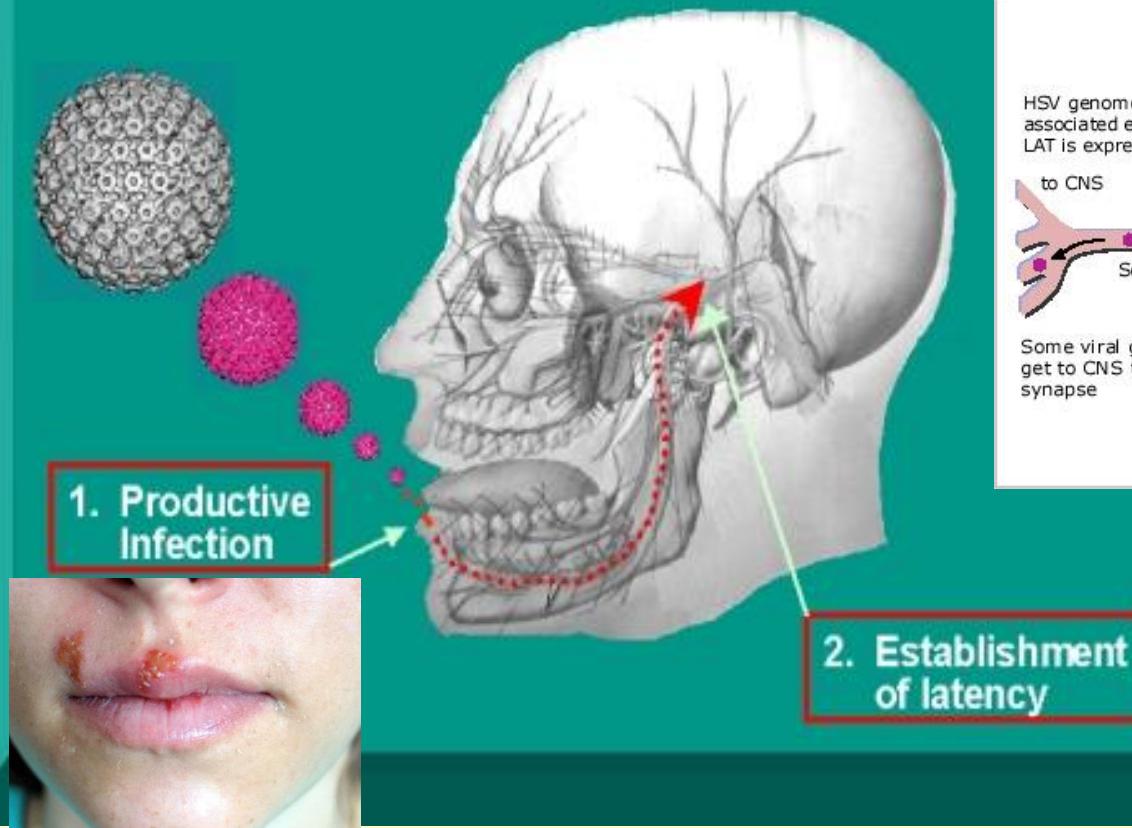
# Millones de infectados persistentemente con virus en el mundo de hoy...

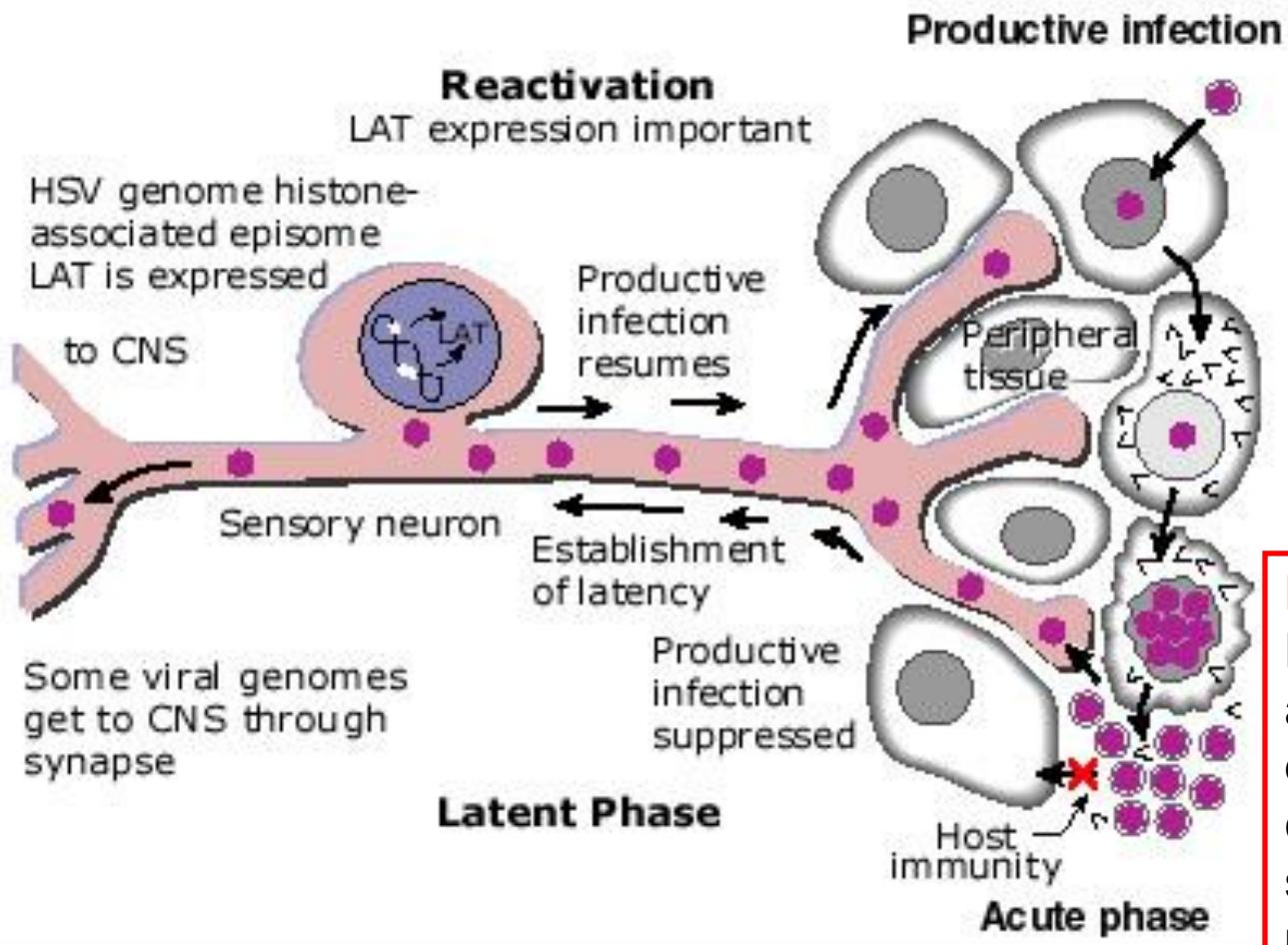
Para una población mundial de 6.500 millones



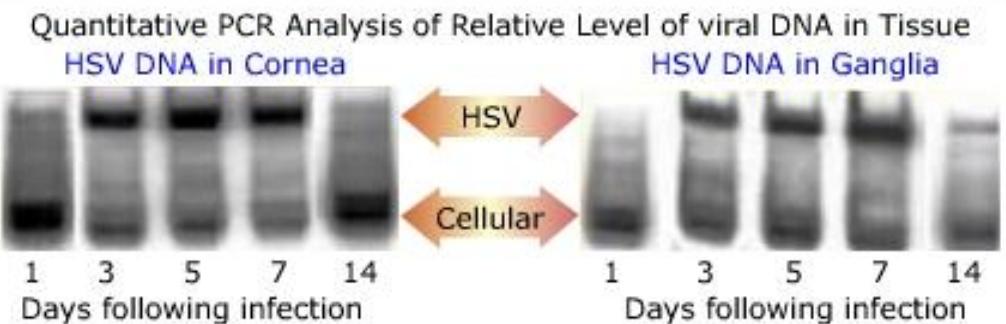
# Expresión génica restringida reversible (latencia): otra forma de intentar evitar algunos efectores del sistema inmune...

## HSV life cycle: Establishment of latency.

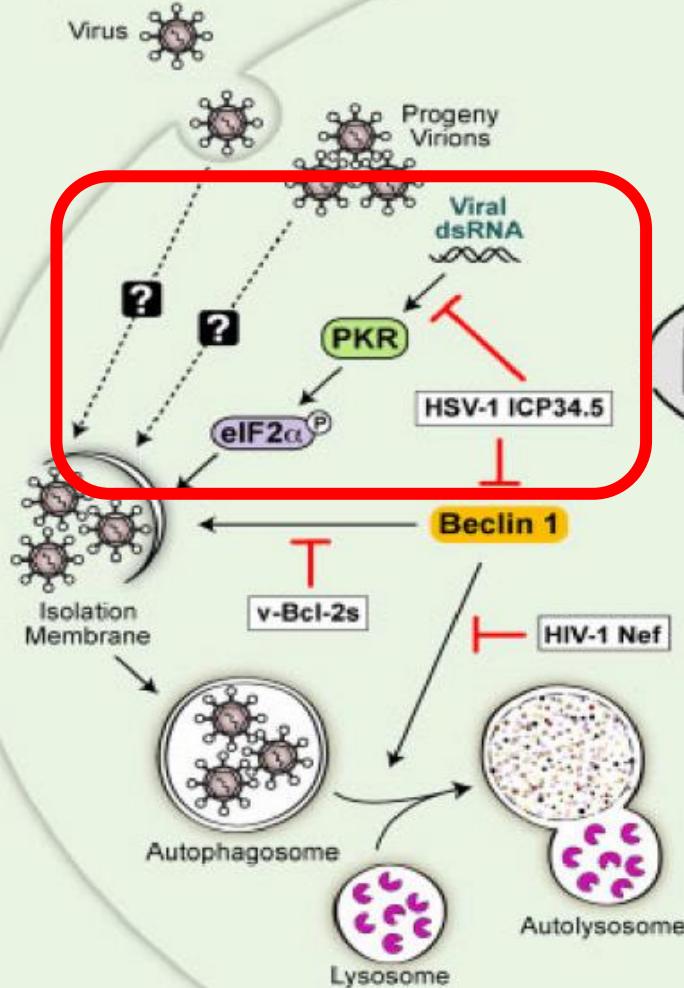




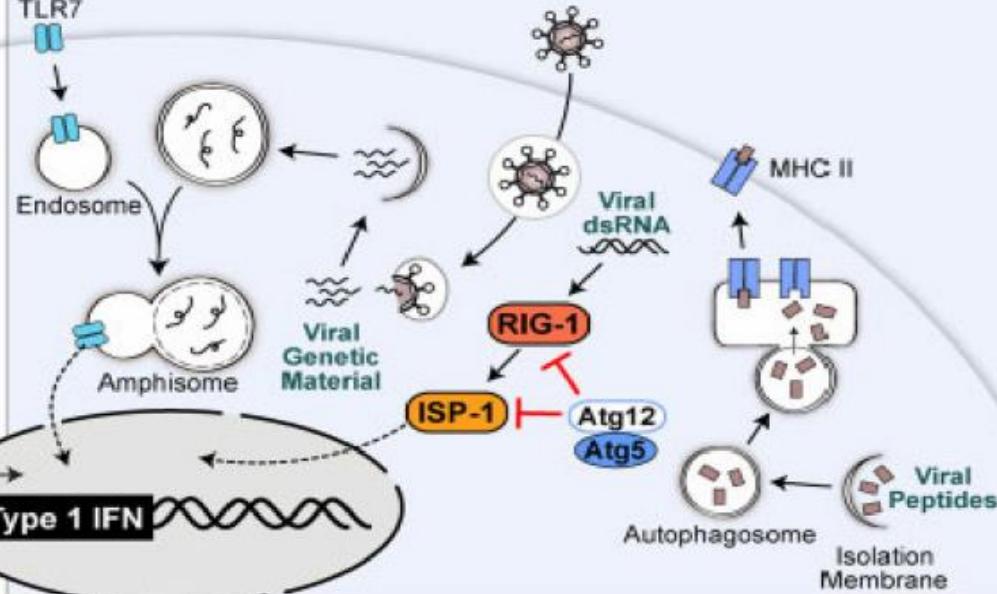
**Latencia del HSV:** el virus NO replica ni expresa antígenos en tanto se detecta respuesta inmune celular y humoral sistémicas eficientes y protectoras



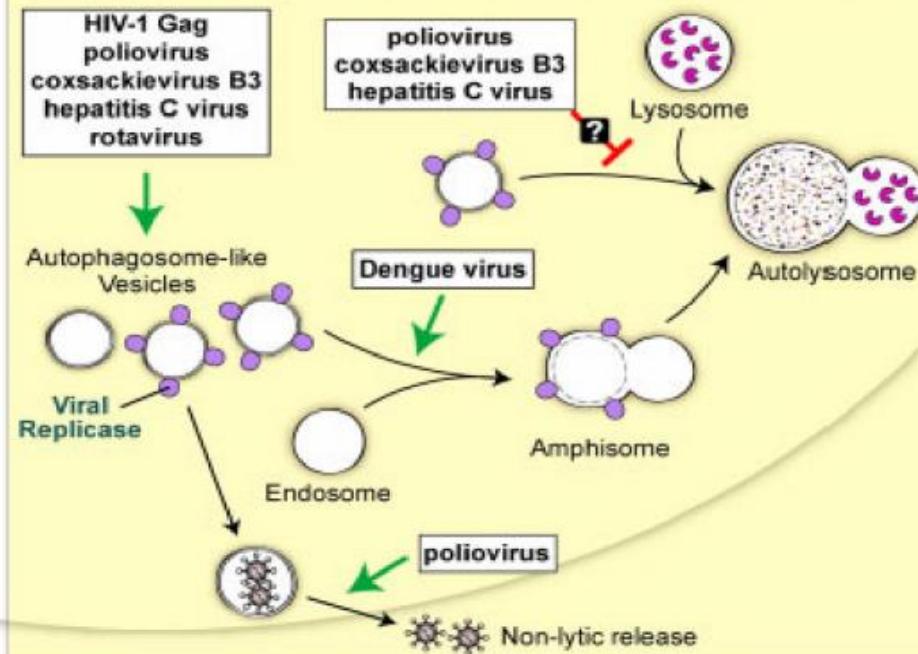
## XENOPHAGY



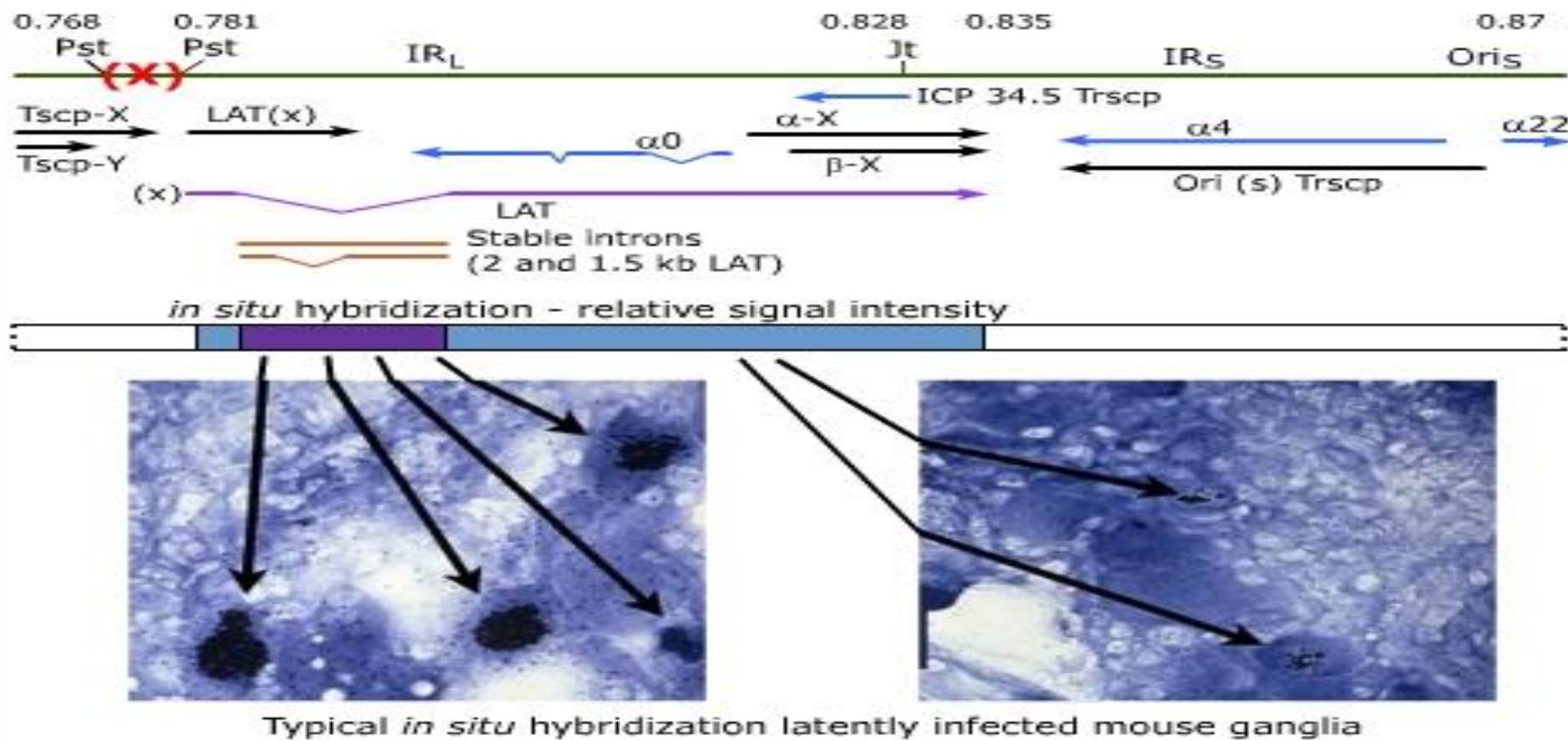
## INNATE AND ADAPTIVE IMMUNITY



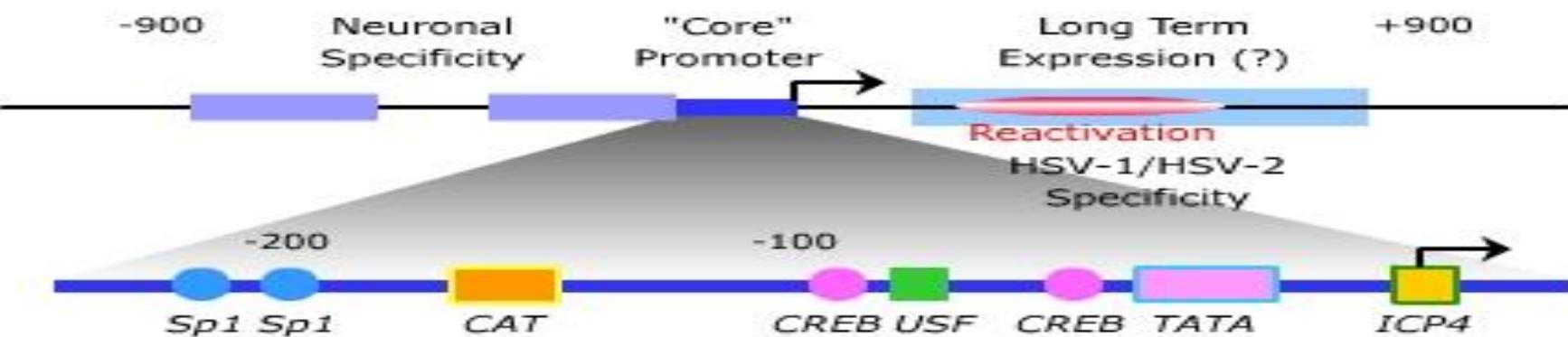
## SCAFFOLD FOR RNA VIRUS GENOME REPLICATION AND MORPHOGENESIS



## HSV Latency Associated Transcription



## The HSV LAT Promoter



# miRNAs:

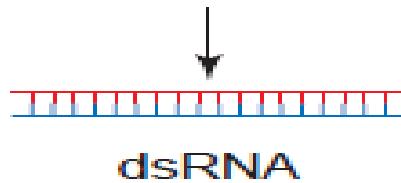
5 miRNAs derivan de los transcriptos LATs:

- 1 inhibe la traducción de ICP0 (alfa 0)
- 1 inhibe la expresión de ICP4 en neuronas

1 miRNA no derivado de los transcriptos LATs

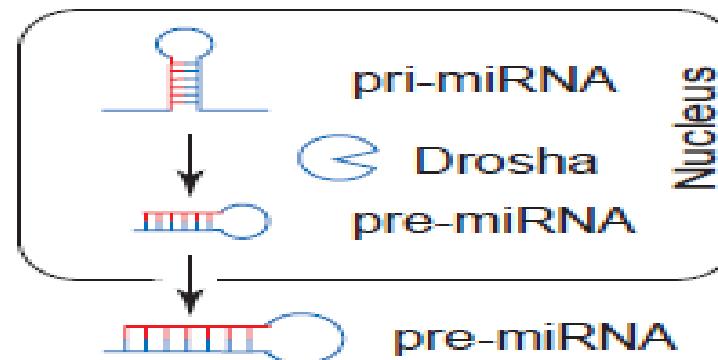
inhibe γ 34.5 (factor de neurovirulencia)

# Virus



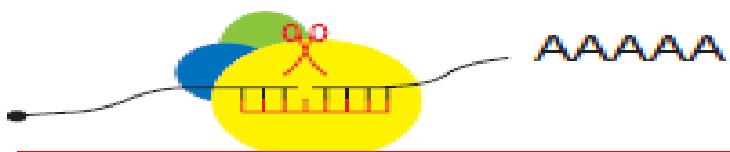
**Ver video:**

[https://www.youtube.com/watch?v=cK-OGB1\\_ELE](https://www.youtube.com/watch?v=cK-OGB1_ELE)



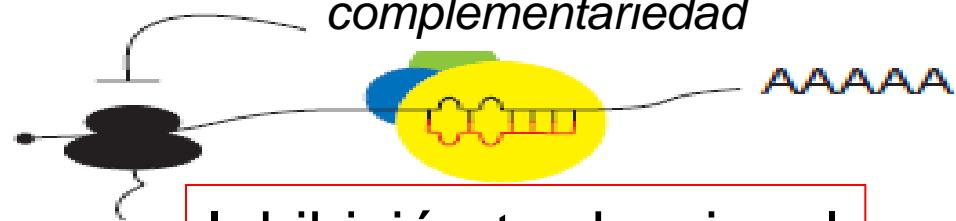
**Reconocimiento de la secuencia blanco**

*Perfecta complementariedad*



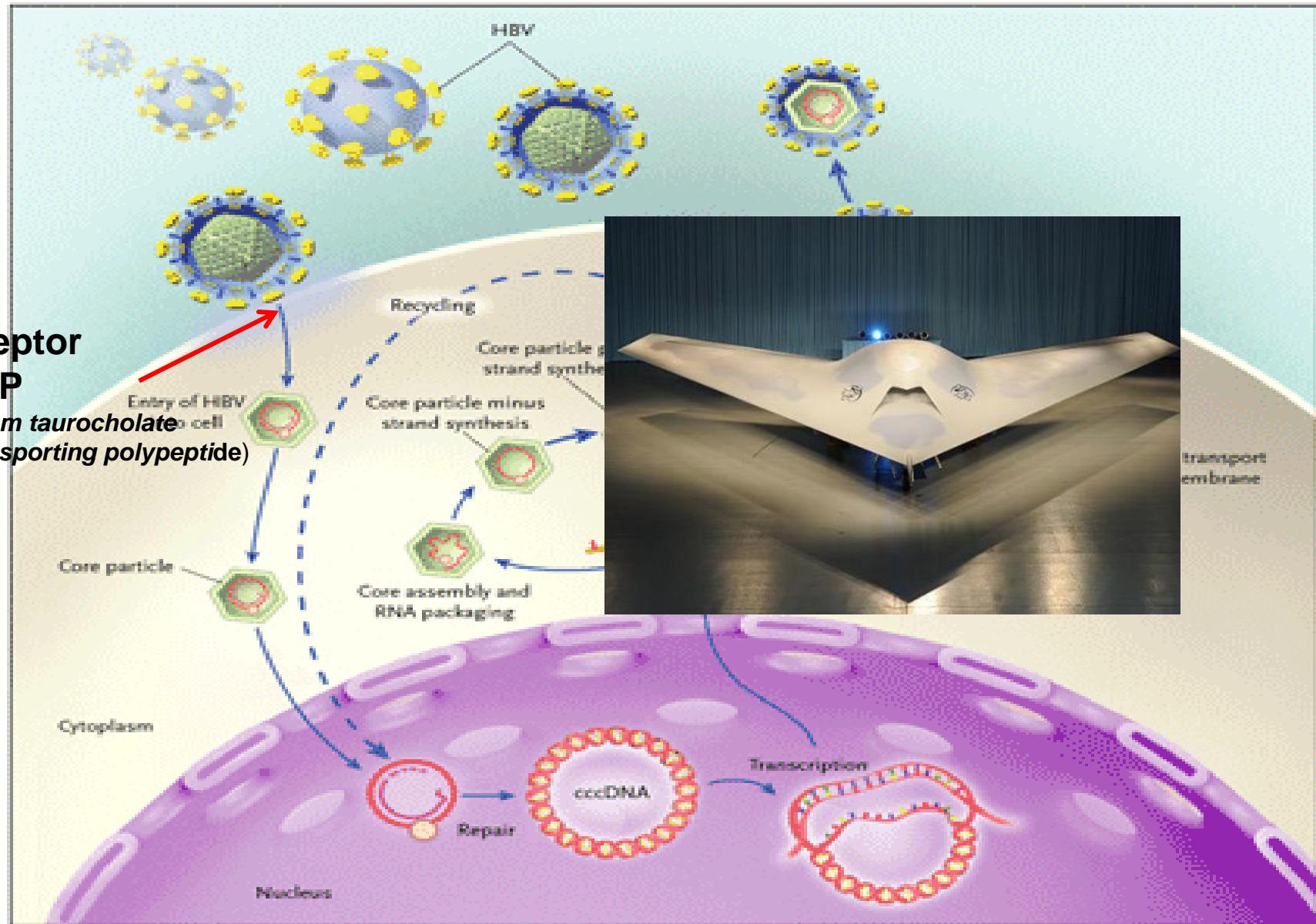
**Clivaje del RNA blanco**

*Imperfecta complementariedad*



**Inhibición traduccional**

# Ciclo replicativo del HBV



# Enantema en la mononucleosis infecciosa por EBV



# **Adenopatías cervicales dolorosas en la mononucleosis infecciosa por EBV**



**A**

## Mantenimiento del DNA viral como episoma



### 2. EBNA-1 (EBV)

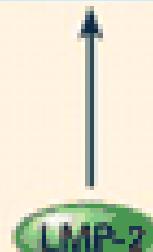
Proteasoma: “estoy *aburrida de esperarte...*  
Gly-Ala-Gly-Ala-Gly-Ala-Gly-Ala-Gly-Ala...

## Proliferación B

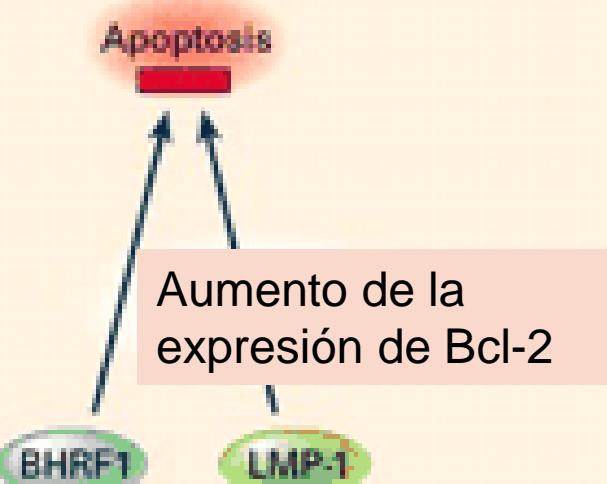
↑ de la expresión de proteínas virales



## Prevención de la reactivación de la latencia

**B**

## Apoptosis



## Inhibición del crecimiento de células transformadas

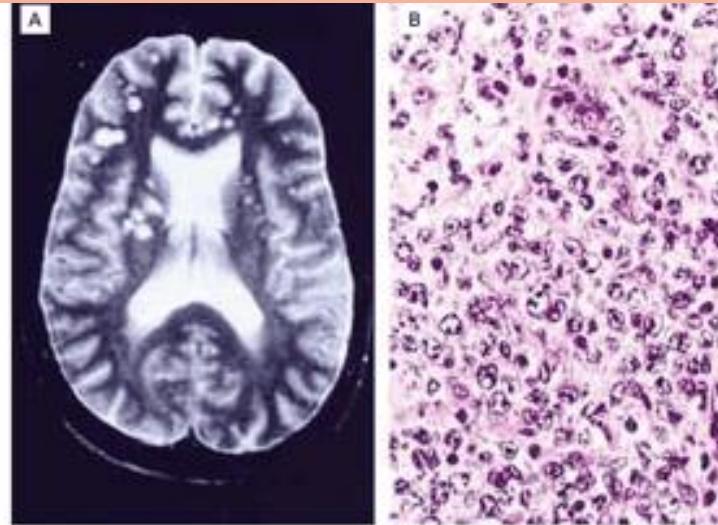
### Interferón



Viroquina  
IL-10 símil

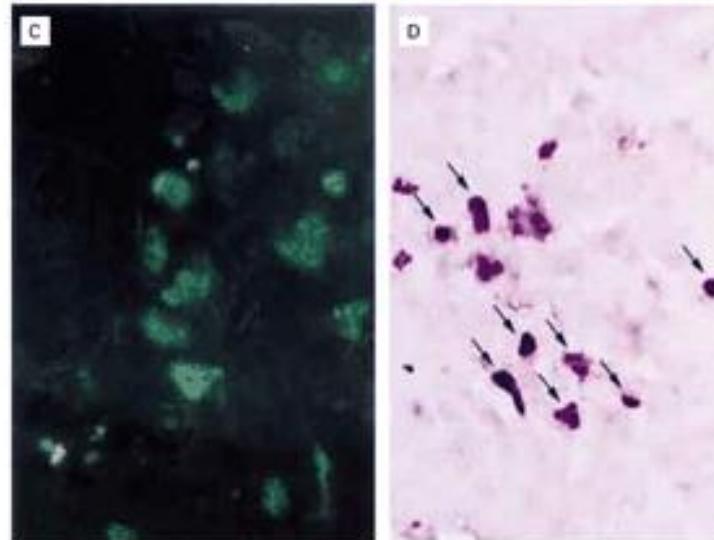
# *Enfermedad linfoproliferativa en una paciente infectada con EBV*

Múltiples  
nódulos en  
cerebro



Linfoma inmunoblastico  
en tejido perirrenal

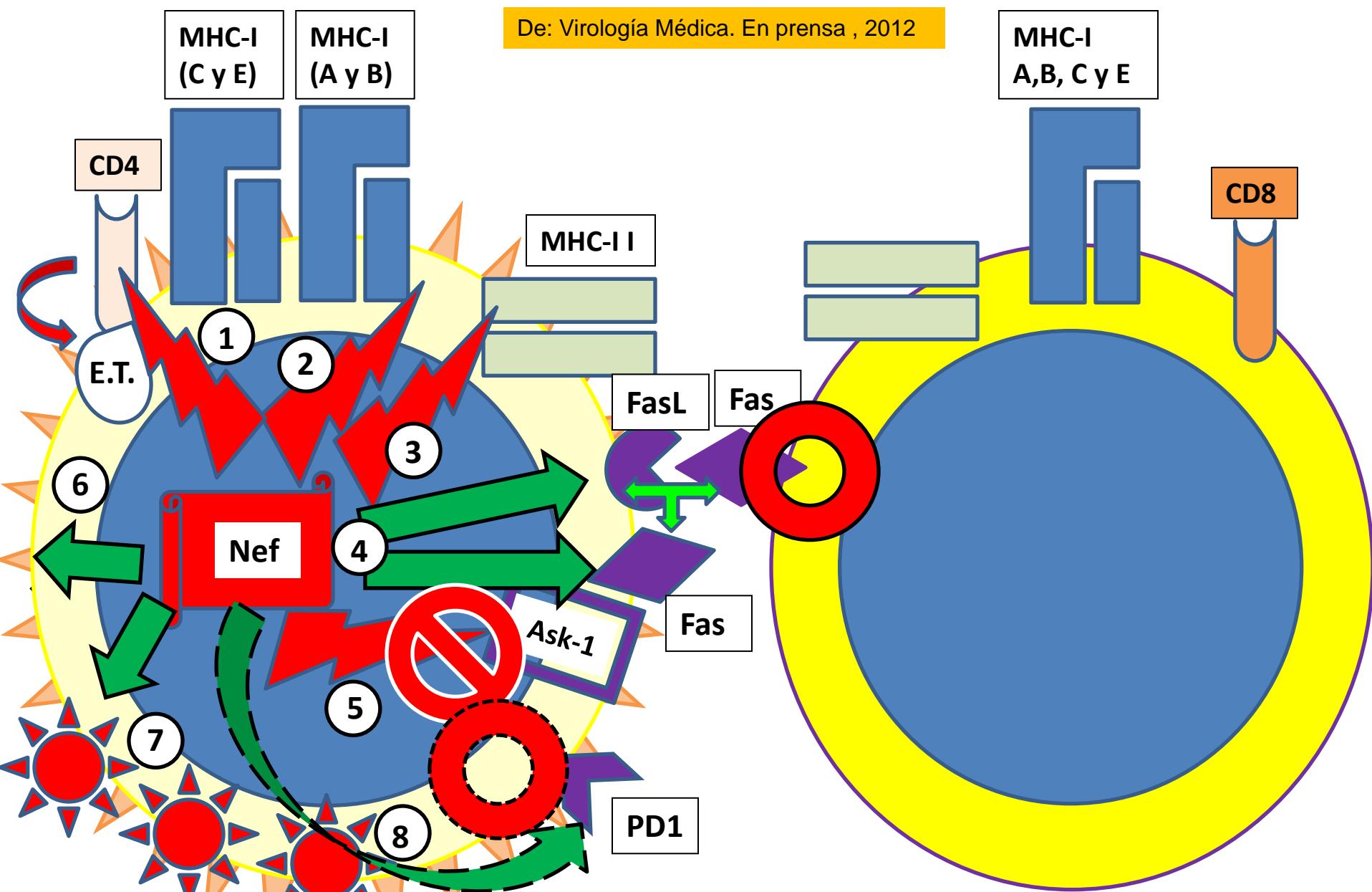
Detección de Ag  
EBNA-2  
(IF)



Detección de  
**EBER**  
(*Epstein Barr  
encoded RNA*):  
**inhibe la PKR**  
(y por ende la  
apoptosis)

HIV





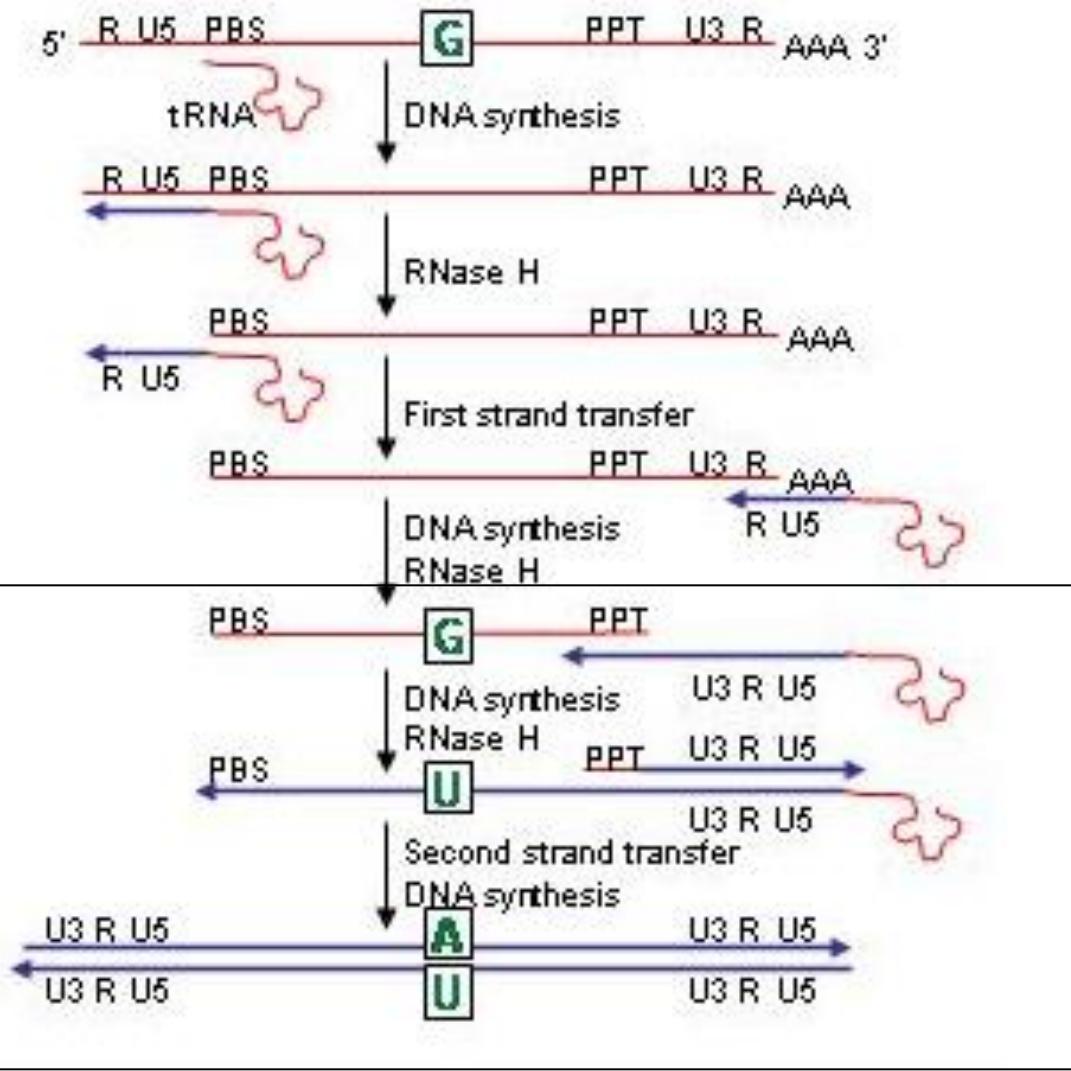
*Apoptosis del LT CD4<sup>+</sup> infectado (vía PD1)  
e inhibición de la señal mediada por Fas*

*Apoptosis del LT CD8<sup>+</sup>  
no infectado (vía Fas)*

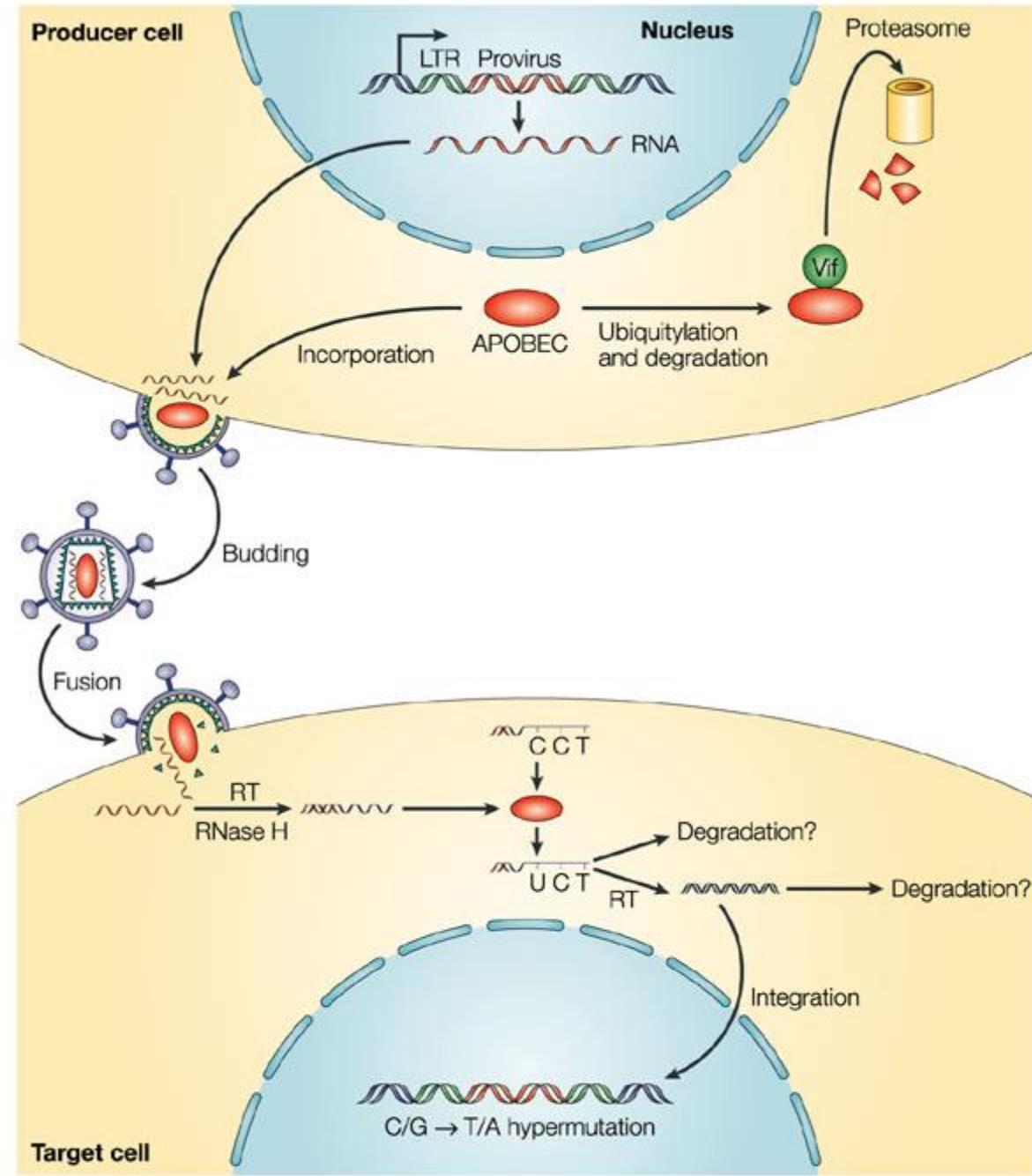
# Vif

- Vif es un proteína viral accesoria (23kDa) cuyo nombre es el acrónimo de Factor de infectividad viral (*Viral infectivity factor*).
- Cumple su rol en etapas tardías del ciclo viral interaccionando con proteínas celulares de la familia APOBEC (*apolipoprotein B mRNA-editing enzyme catalytic polypeptide-like editing complex*) citidin-deaminasa que edita ARN viral)

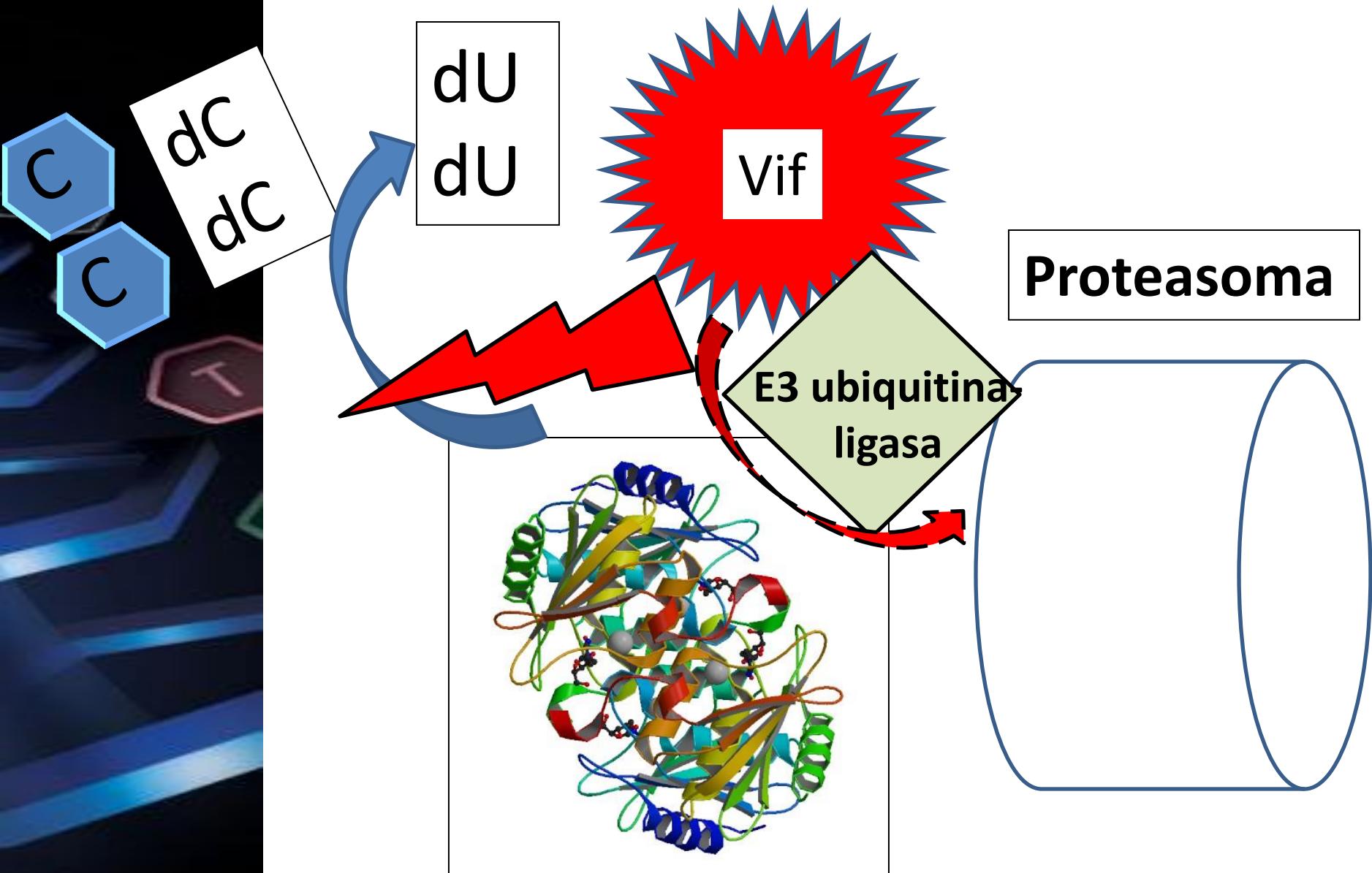
# Transcripción Inversa



**APOBECs**

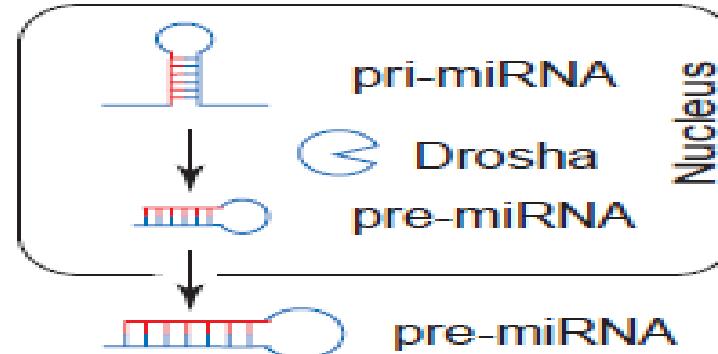
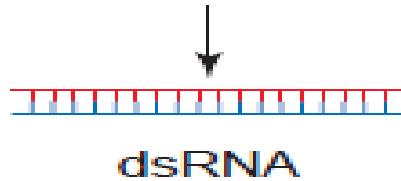


Modelo para la interacción  
Vif/APOBEC 3G



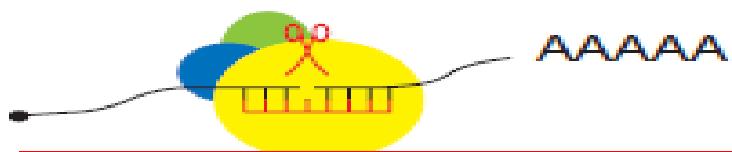
# APOBEC3G

# Virus



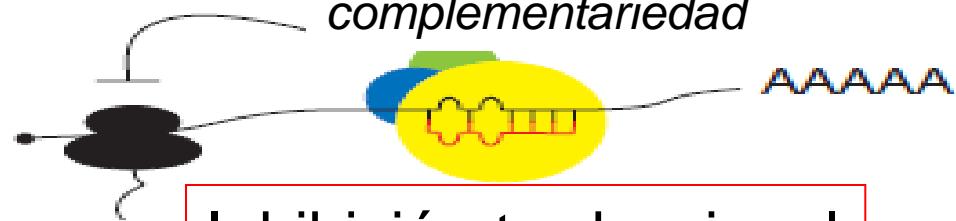
**Reconocimiento de la secuencia blanco**

*Perfecta complementariedad*



**Clivaje del RNA blanco**

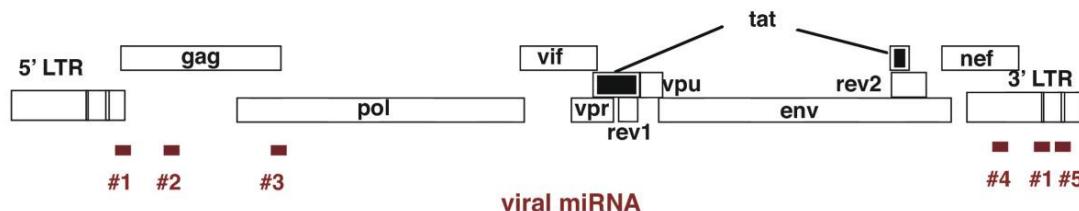
*Imperfecta complementariedad*



**Inhibición traduccional**

a)

HIV pNL4-3



b)

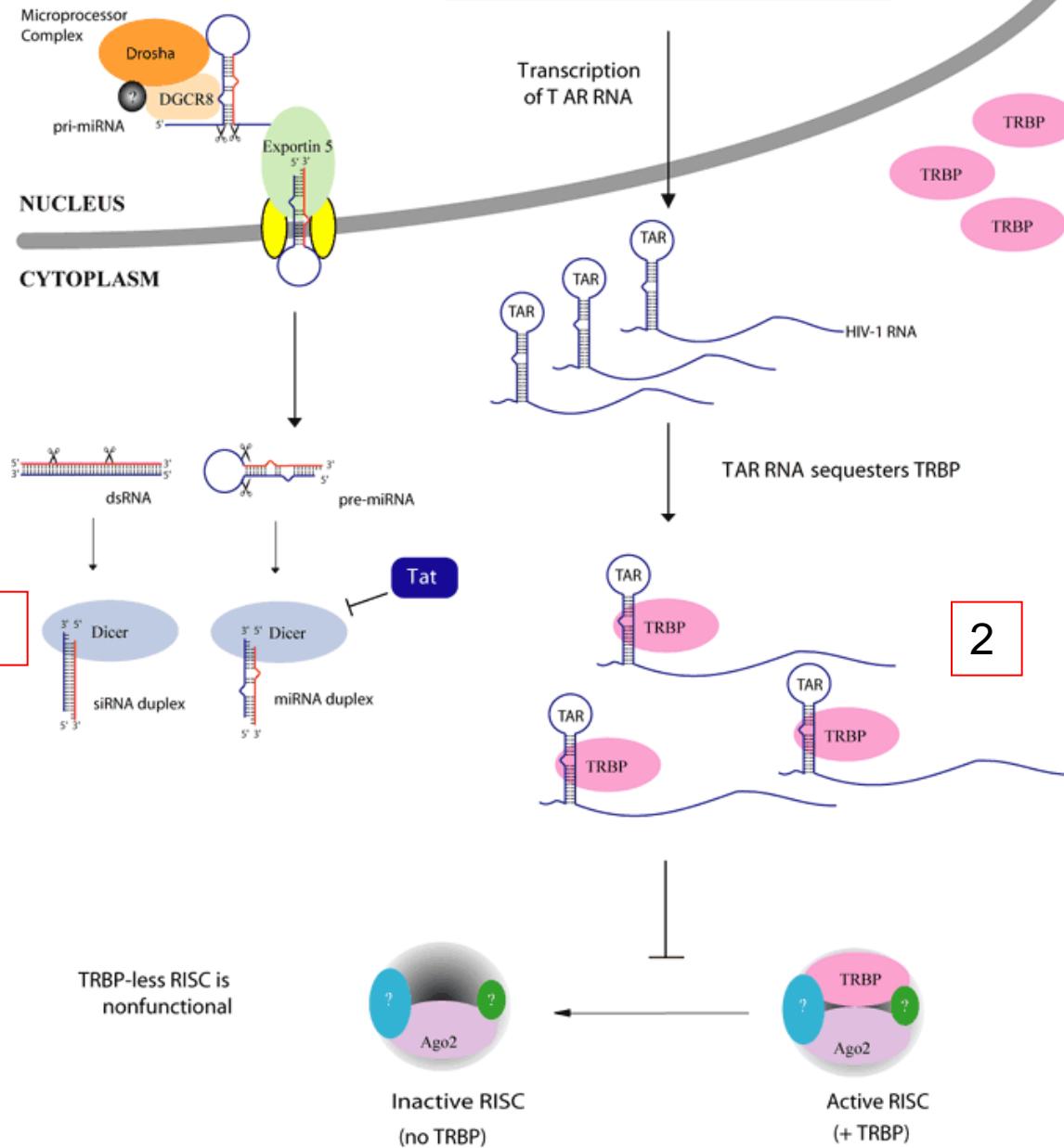
viral miRNA	predicted precursor structure	mature vmiRNA sequence	localization on HIV genome
#1	<pre>           C   C           A   U   U   C   U          GUA UGGGU UCUCUGGUUAG CCAGA GAGC           U CGU ACCCA AGGGAUCAAUC GGUCU CUCG           C               A   G         </pre>	<pre>           UGGGUCUCUCUGGUUAGACCAG           CUCUCUGGCUAACUAGGGAAACC         </pre>	449-518 TAR
			9524-9593 U3-R
#2	<pre>           AU           U   A   G   C   C   C   A   U   U   U          UUACCC GUGCA AA UC AGG GG AUGGU U          AAUGGG UACGU UU AG UCC CU UACCG G A C           A   A   U   C   A   A   A   G         </pre>	<pre>           CCCUAUAGUGCAGAACCUCCAG           CCUGAACUUUAAAUGCAUGGGU         </pre>	1182-1259 gag
#3	<pre>           A   A   U   U   U   A   U   C   C   C           GGUU ACCGA GAGA UUUU AGGGAAAG UCUGGCCUUC           A   C   C   G   G   G   A   G   G   G           A   C   C   A   C   C   U   U   U   U   U         </pre>	<pre>           UUJAGGGAAAGAACUGGCCUUCC           GGGAAAGGCCAGGGAAUUUUUUU         </pre>	2079-2159 gag-pol frameshift
#4	<pre>           UG           A   A   C   A   GA   A   AG   U           UGG CC UG GA   GAAGUGUUAG GUGG GU           A   C   G   G   G   C   C   U   U   A   A           A   C   G   G   G   C   C   U   U   A   A         </pre>	<pre>           CCUGAGAGAGAAGUGUUAGAGU           CUAGCAUUUCAUCACGUGGCC         </pre>	9304-9374 nef
#5	<pre>           U   A   A   C           UAAC GGG AC CACUGCUU AAGC CCAA           GUUG CCC UG GUGAUGAA UUCG GAGUU           U   G   U   C   U   C   G   U         </pre>	<pre>           GGGAAACCCACUGCUUAAGCCUC           UUCAAGUAGUGUGUGGCCGUU         </pre>	9574-9649 R

## Evidencias de miRNAs En el genoma de HIV

**nef:**

Regulan negativamente su expresión, manteniendo baja viremia (asociación con progresión lenta al SIDA)

# Mecanismos de evasión a miRNAs

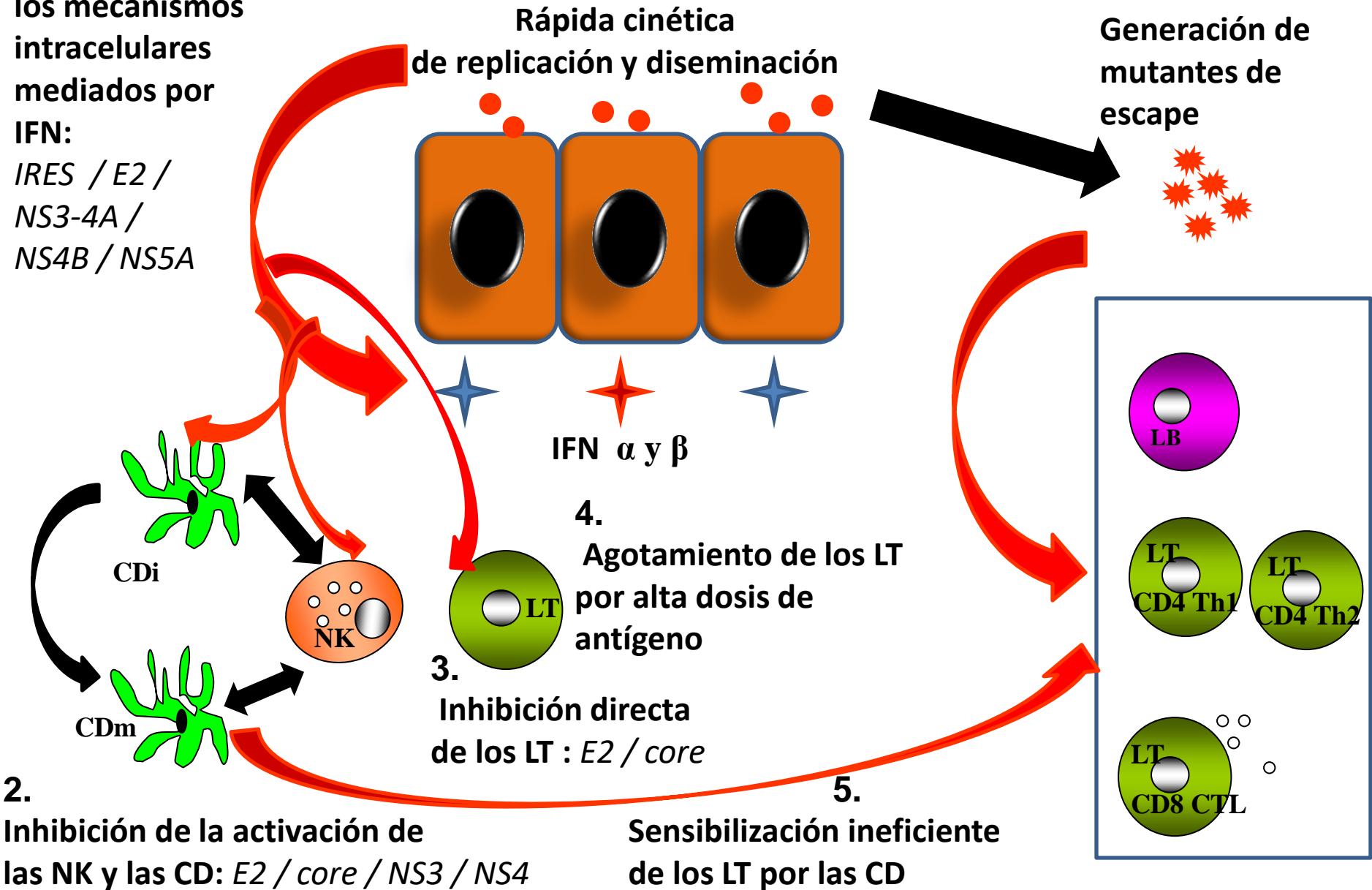


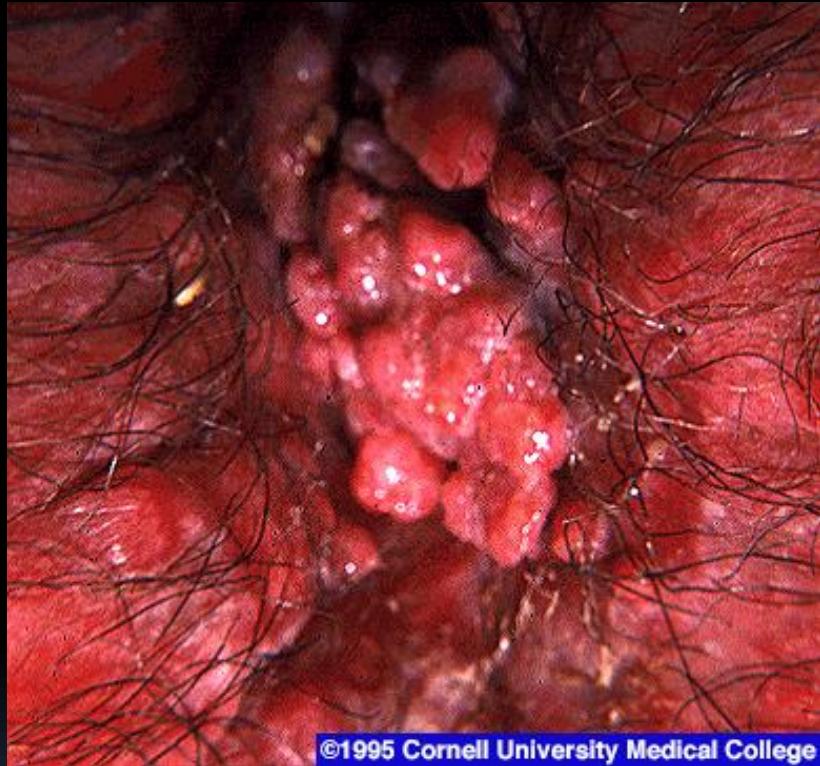
**1- Inhibición de Dicer por Tat.**

**2- Secuestro de TRBP por TAR**

1. Inhibición de los mecanismos intracelulares mediados por IFN:  
IRES / E2 /  
NS3-4A /  
NS4B / NS5A

## INMUNOPATOGENESIS DE LA INFECCIÓN POR HCV

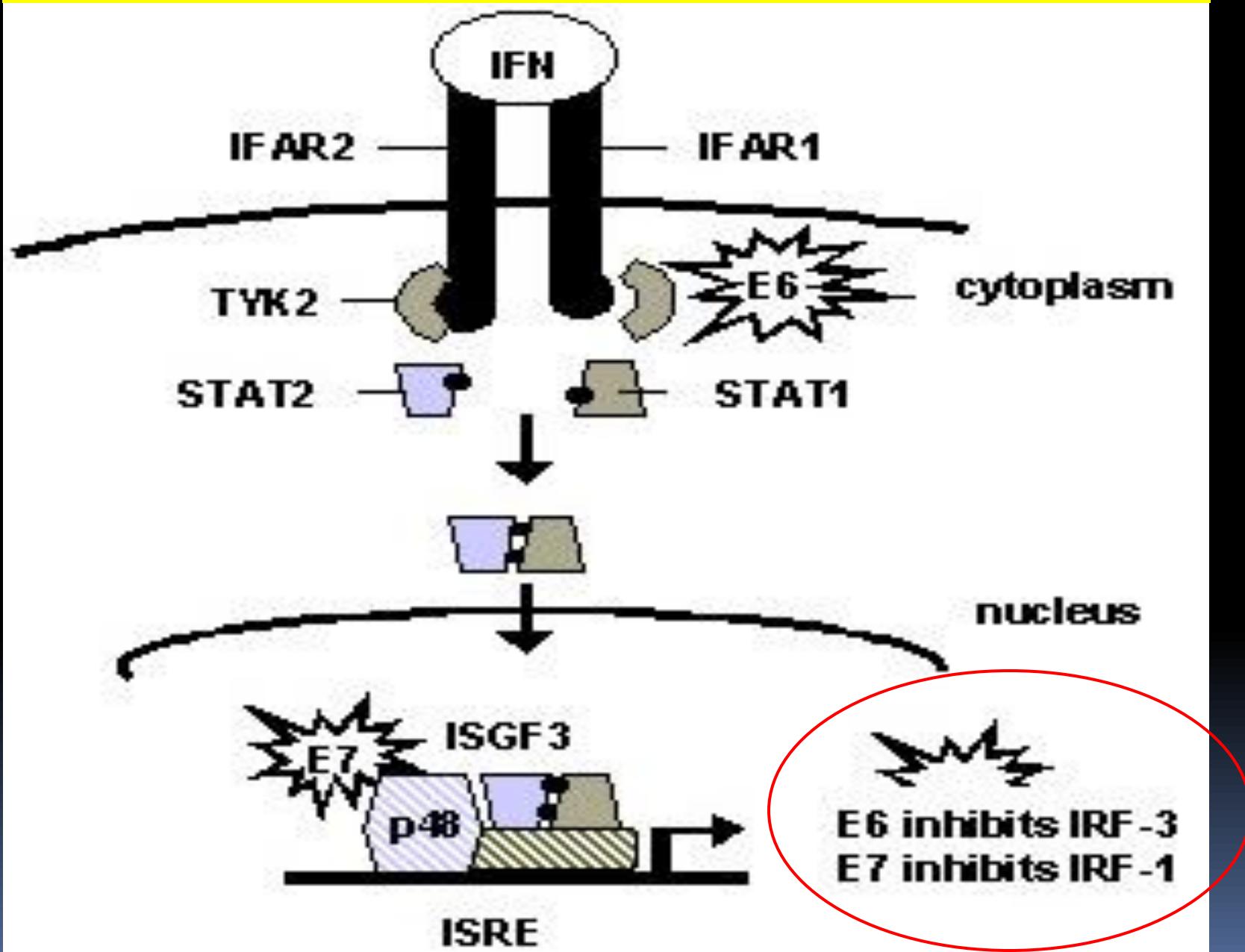




©1995 Cornell University Medical College

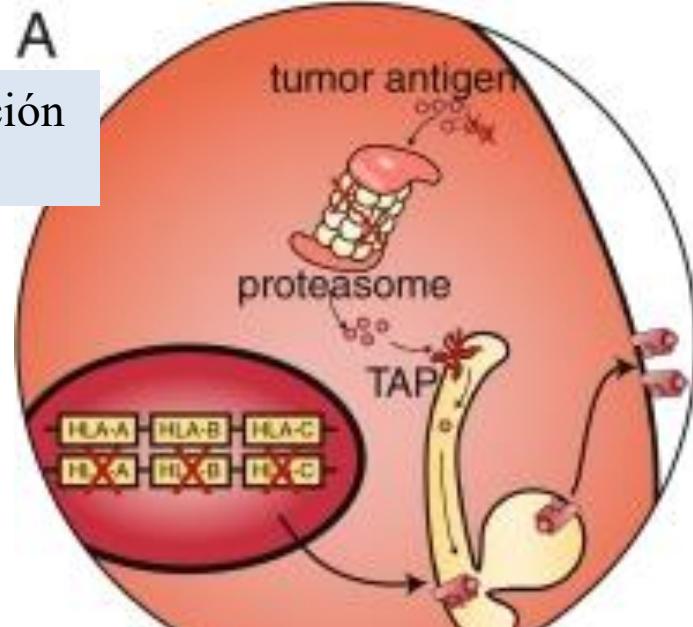
## Lesión genital maligna por HPV

## Interferencia en la inducción de la expresión génica mediada por IFN

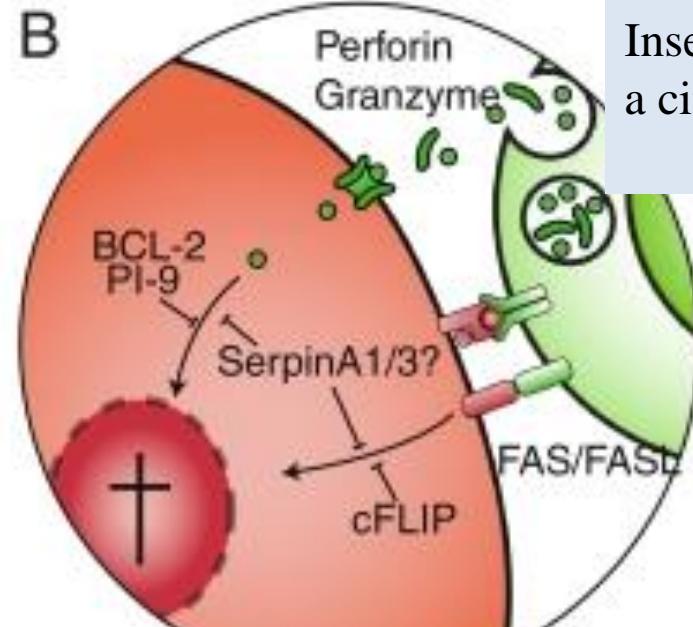


**A**

↓ Presentación  
Ag

**B**

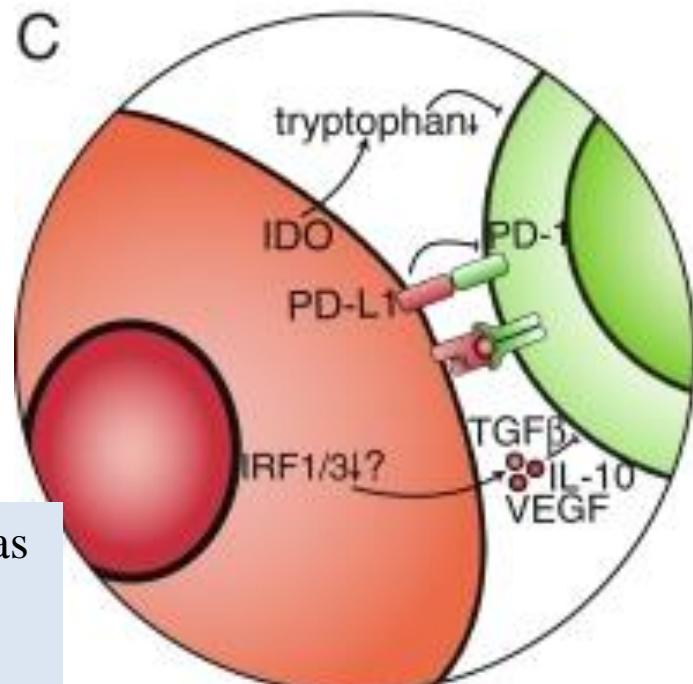
Insensibilidad  
a citotoxicidad  
por CTL



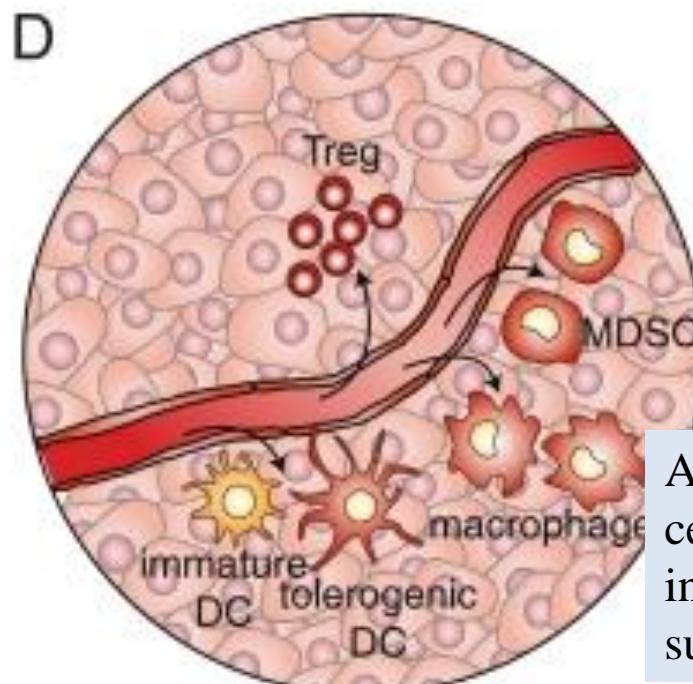
## Otras 4 estrategias de evasión del HPV a la Rta. inmune

**C**

↑ citoquinas  
inmuno-  
supresoras

**D**

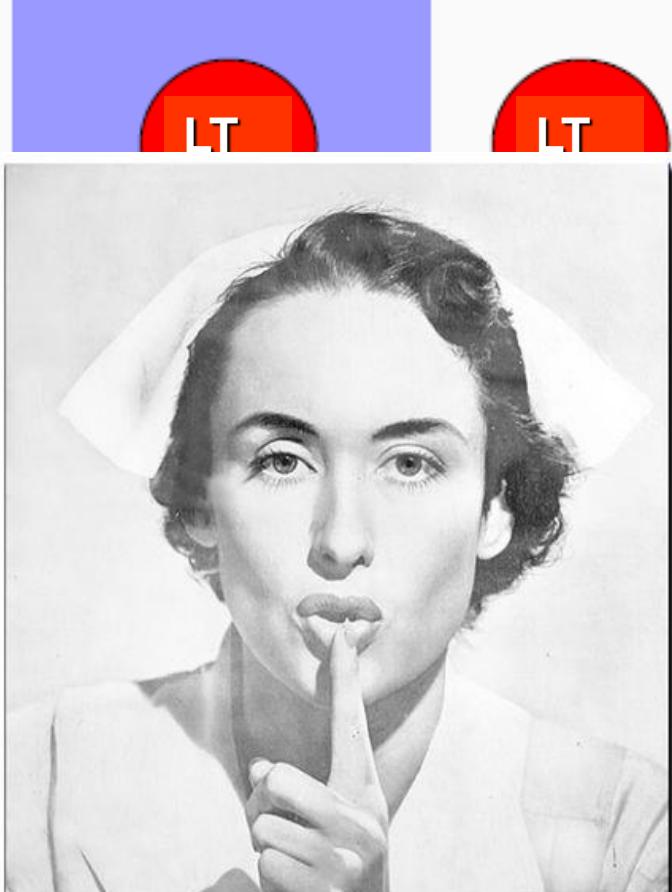
Atracción de  
células  
inmuno-  
supresoras



Aprendimos que también existe  
Evasión a la respuesta inmune...

¡En las infecciones agudas!  
*(algunas de ellas, tienen un curso grave o fatal)*

# Inmunosupresión por virus sarampión: síntesis



Hay silenciamiento inmune



Apoptosis de  
linfocitos

Proliferación  
anormal

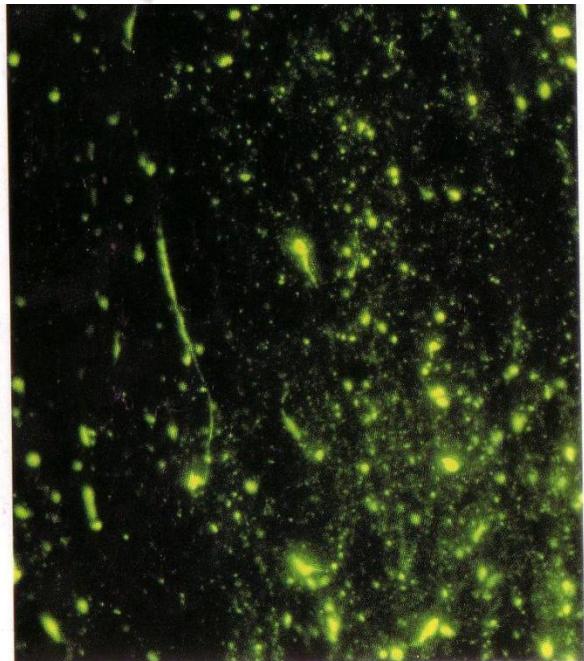
Citoquinas  
inmuno  
moduladoras



Perfil Th2

Defectuosa  
presentación  
antigénica

Excepcional caso de sobrevida  
a la rabia (EE.UU).  
NEJM 352: 2508-14, 2005.

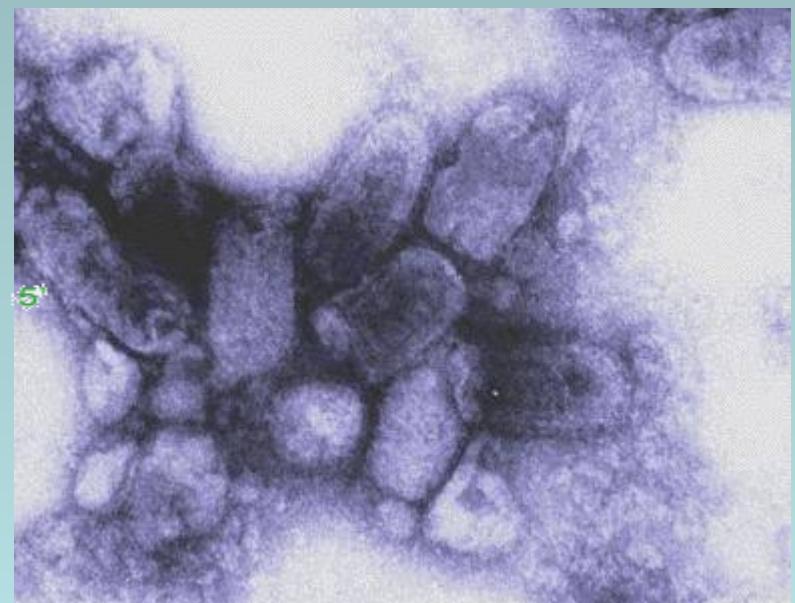
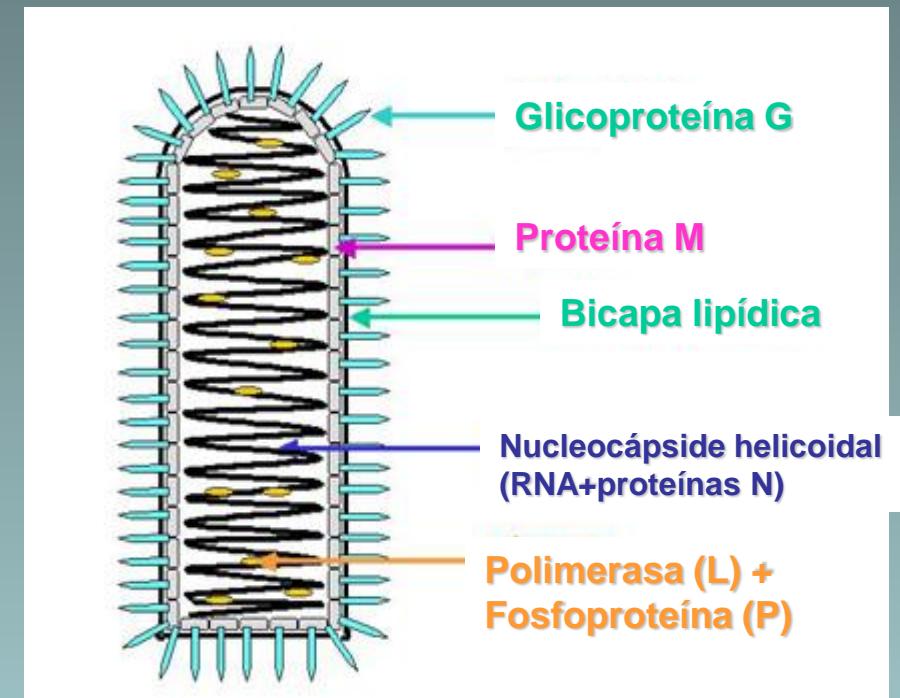


Ag viral en SNC

# Rabia

# Virus rabia

- Familia *Rhabdoviridae*
- Género *Lyssavirus* (genotipo 1)
- Partícula de 170 nm x 70 nm
- Virión envuelto con forma de bala
- Simetría helicoidal
- Genoma RNA simple cadena, polaridad (-)
- Espículas glicoproteicas que protruyen



**59.000 muertes / año en el mundo (OMS)**

## Reservorio: Animales de sangre caliente



**CICLO URBANO**



**CICLO SALVAJE**



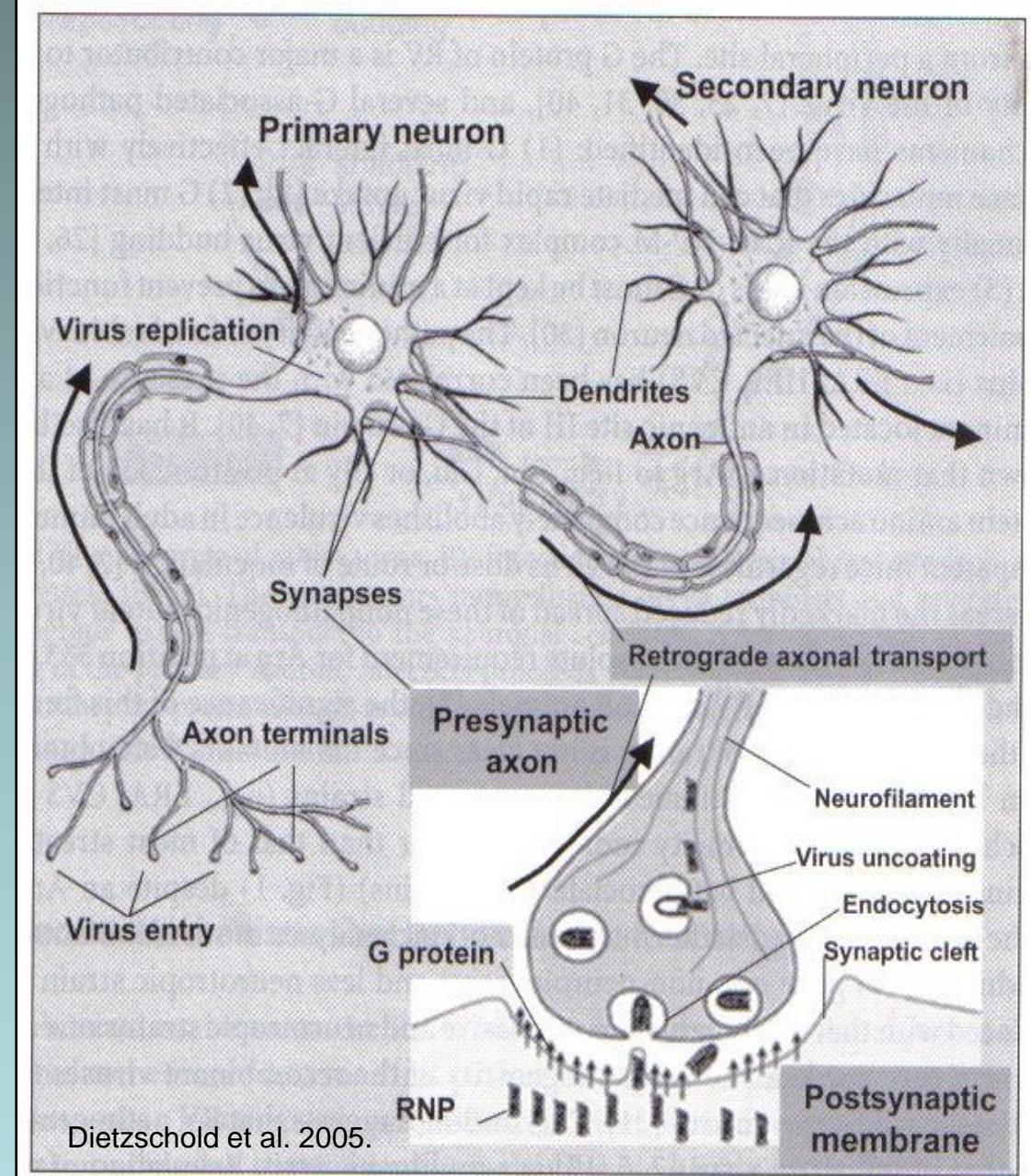
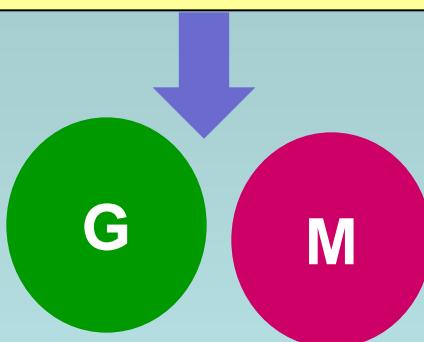
# Diagnosis of a human rabies case in Jujuy, 2008.

Instituto de Zoonosis Dr. Luis Pasteur, Jujuy, Argentina.

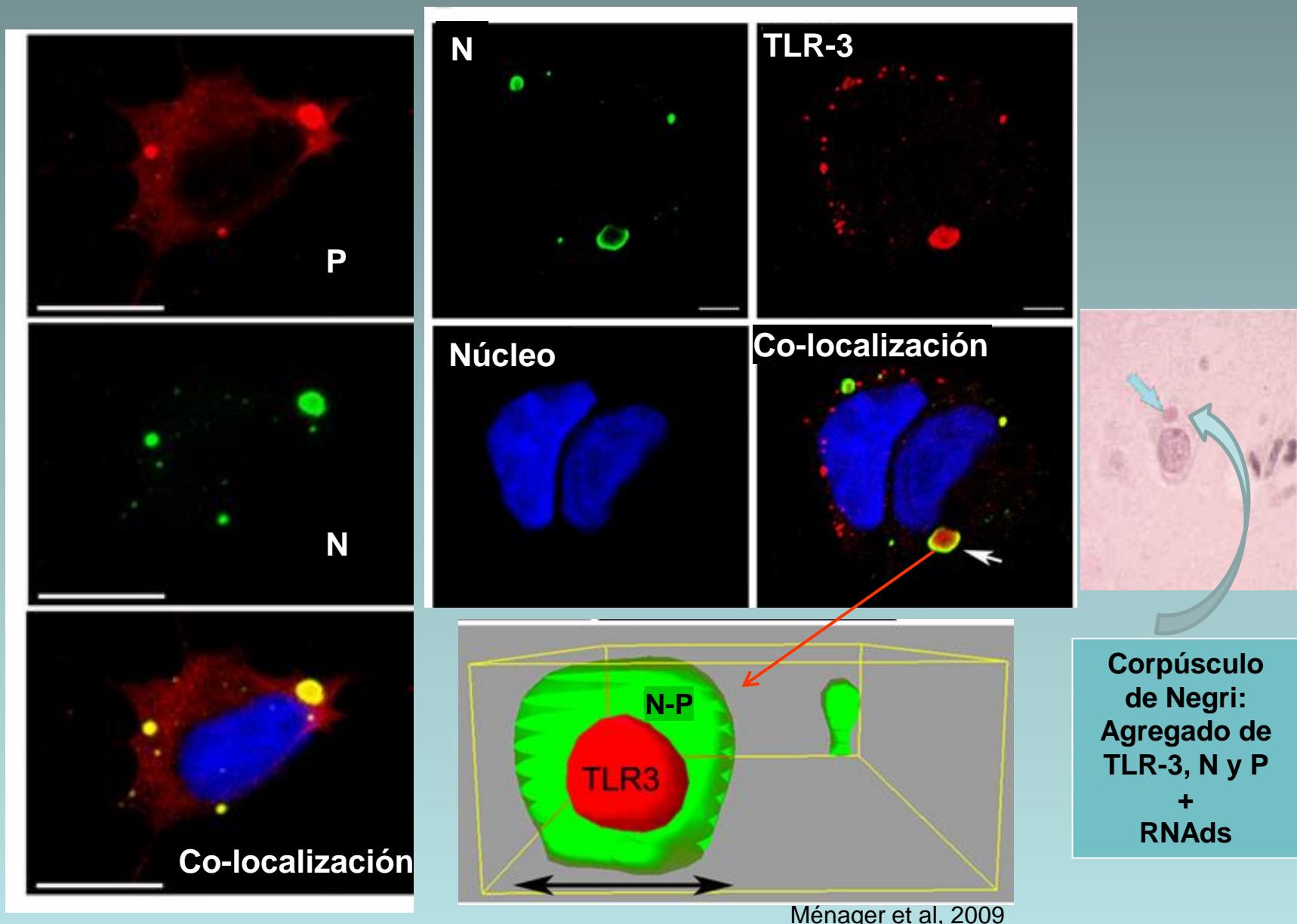
- **Abstract**
  - On July 22, 2008, a previously healthy **8 years old boy** from Jujuy, Argentina, died of **encephalitis** later confirmed as rabies. **Diagnosis** was made on the basis **rabies-specific antibodies** presence in a serum sample and it was **confirmed by detection of the viral antigens in brain necropsy using the immunofluorescent test**. Antigenic characterization identified dog as source of infection. Molecular analysis recognized the same genetic variant circulating in Jujuy since 2003. This report presents the patient's clinical course and the epidemiologic investigation that revealed a **dog bite 60 days before the illness** onset and the lack of rabies treatment.
- Gury Dohmen F et al. **Medicina (Buenos Aires)** 2009;69(6):643-6.

# Patogénesis celular

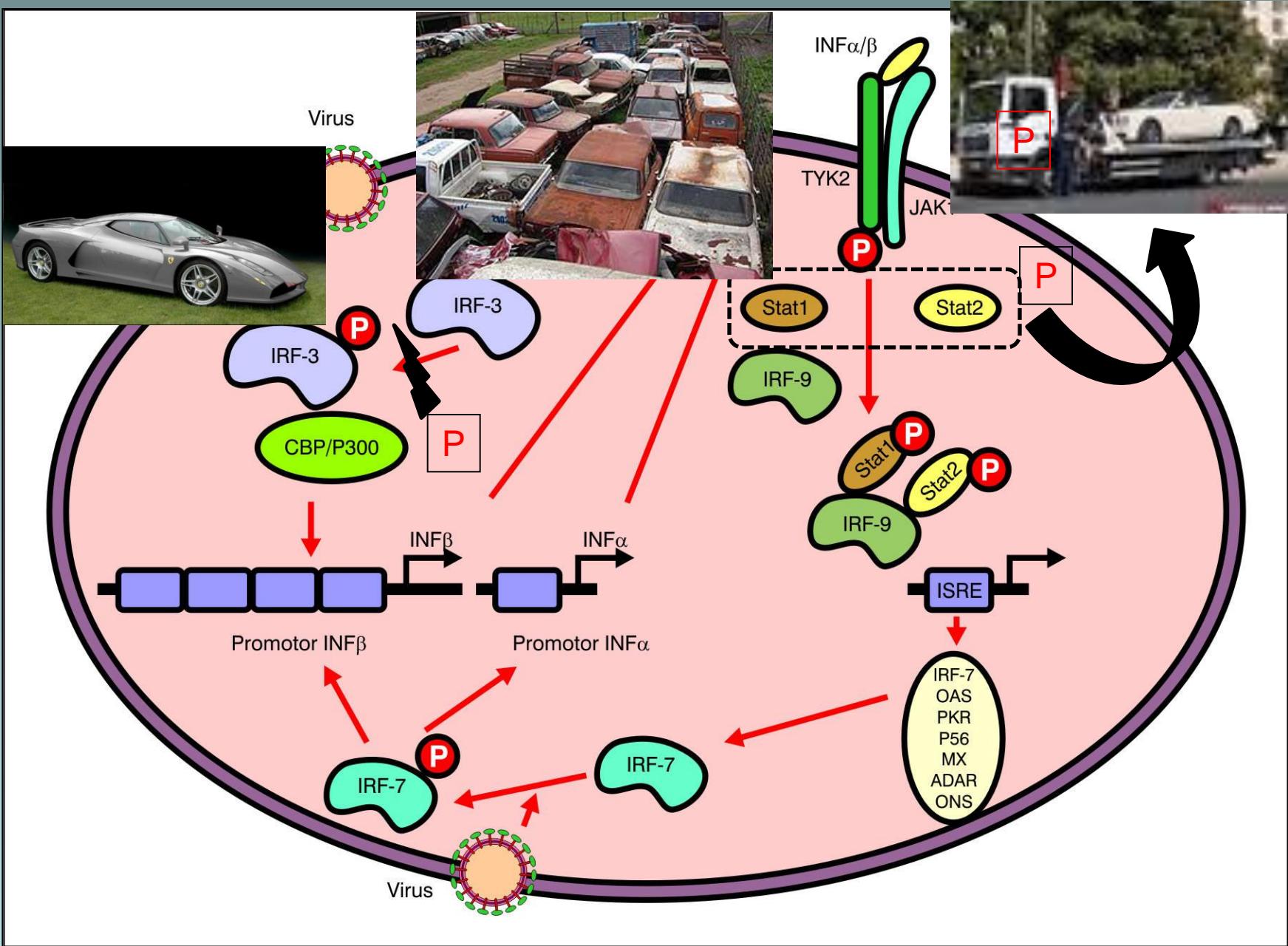
**La neuroinvasividad del virus se sostiene en su capacidad para migrar al sistema nervioso central (SNC) a través del transporte axonal retrógrado y la diseminación trans-sináptica.** El virus rabia se disemina desde el sitio post-sináptico al sitio pre-sináptico a través de endocitosis mediada por receptores.



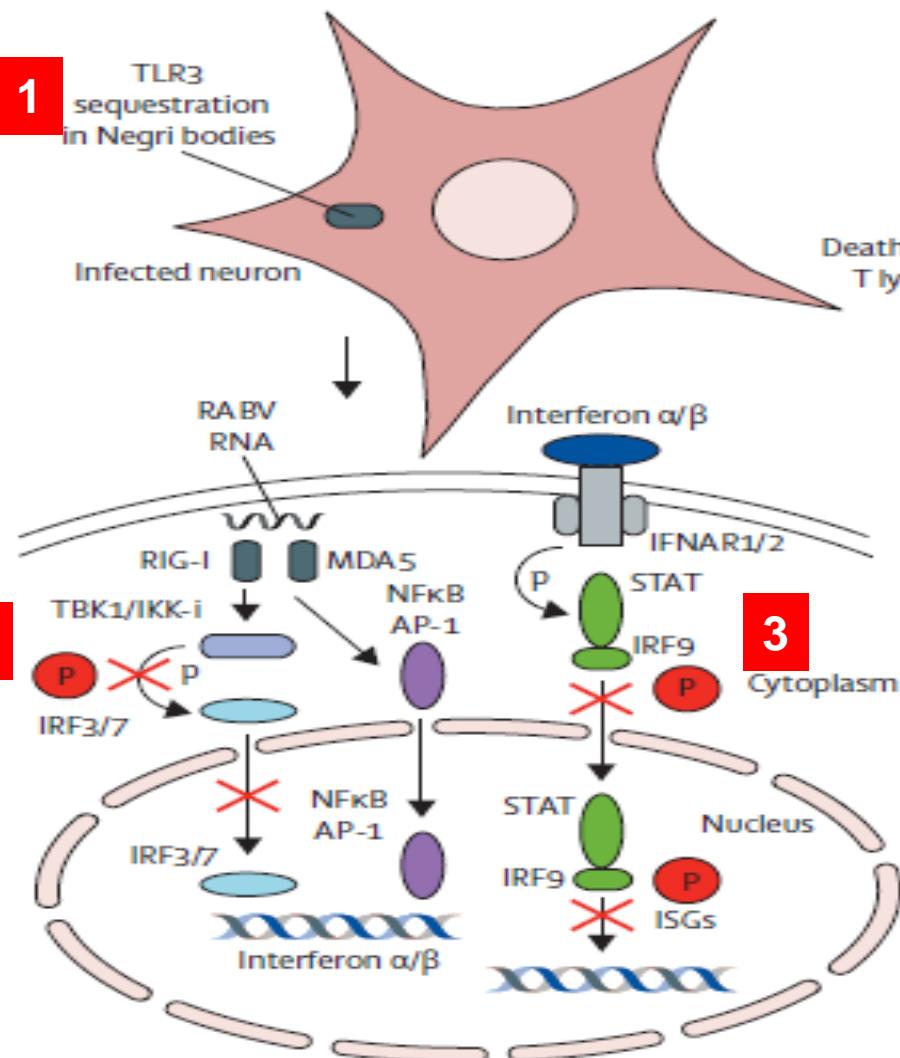
# Formación de los Corpúsculos de Negri



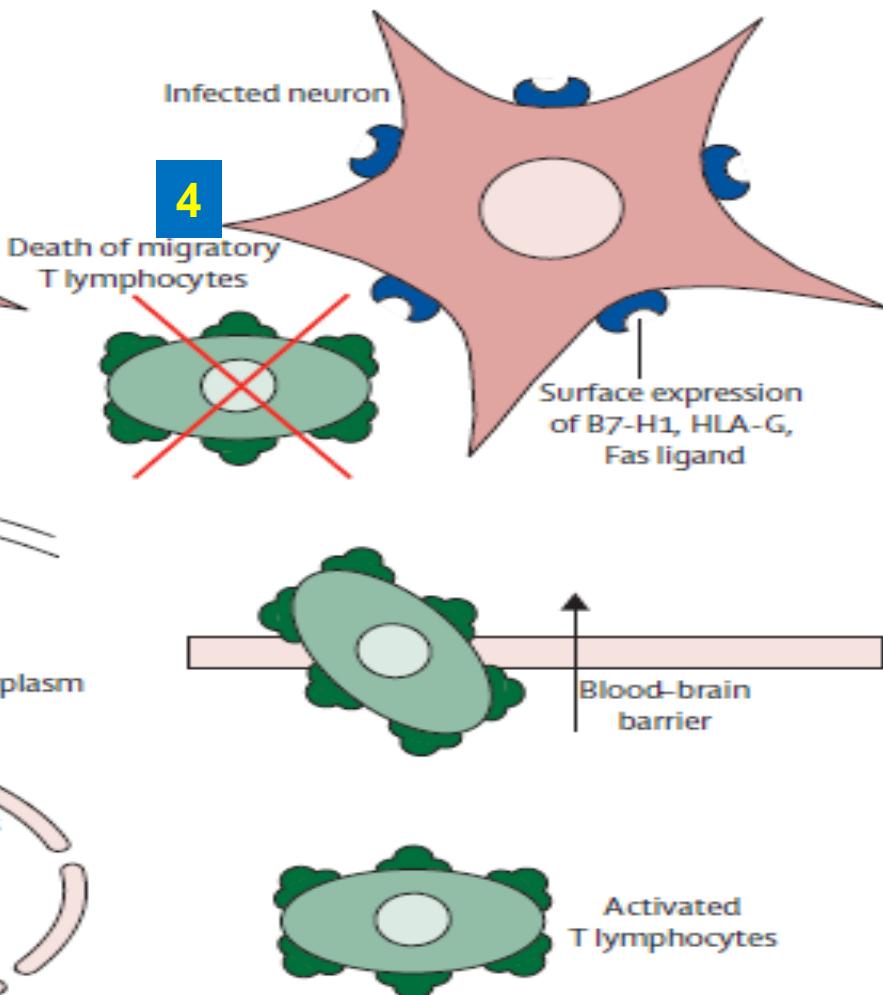
# Regulación del sistema IFN $\alpha\beta$



### A Rabies virus inhibition of innate immune response



### B Evasion of adaptive immune response



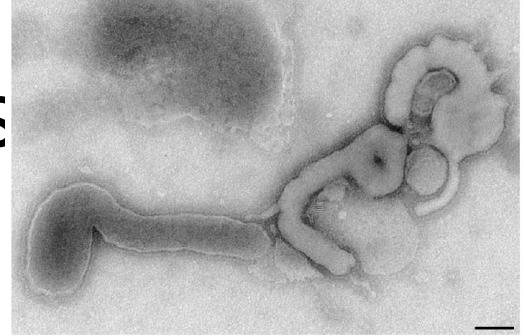
# El virus infecta linfocitos y macrófagos



Linfopenia

Inhibición  
de la  
Respuesta  
Inmune  
Adaptativa

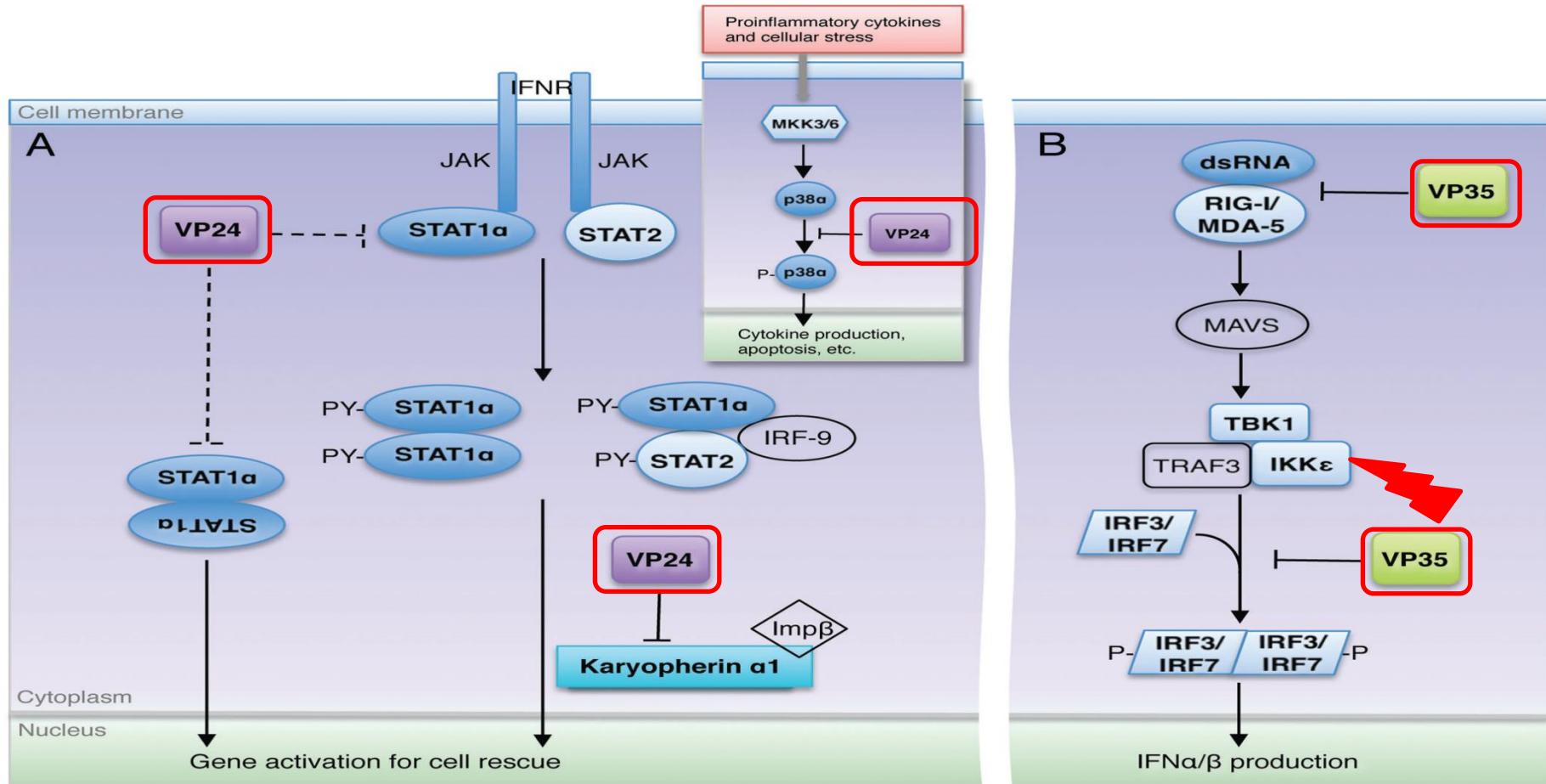
# Hemorragias producidas por ebolavirus

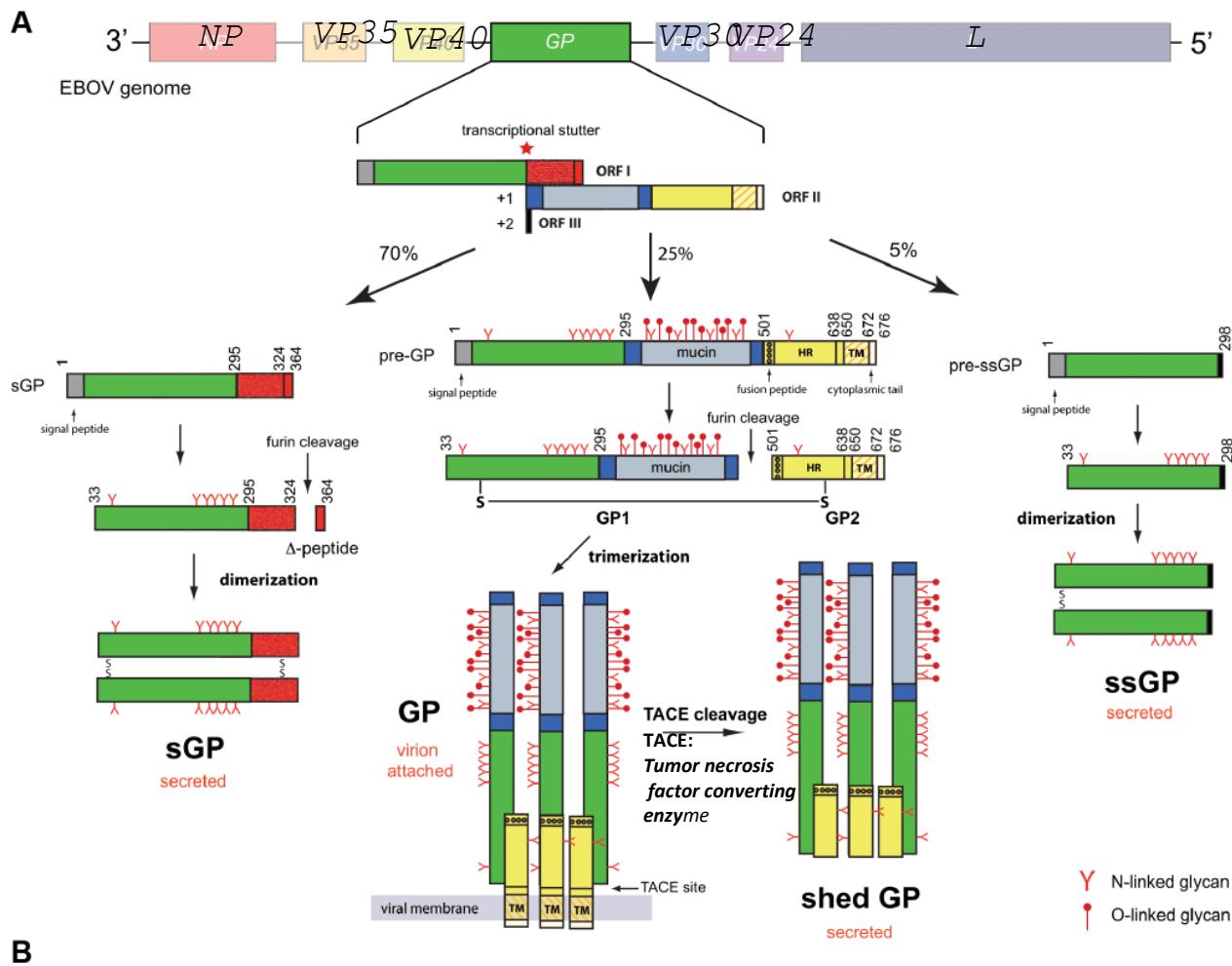


# Evasión viral a la Rta. inmune innata y adaptativa

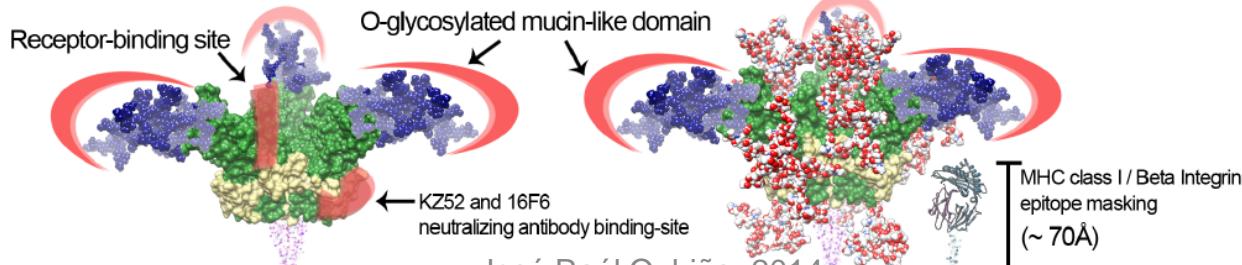
- ✓ Evasión al interferón
- ✓ Evasión a los anticuerpos neutralizantes
- ✓ Evasión a la respuesta T CD8+

# Evasión al interferón: inhibición del transporte de STAT1 $\alpha$ al núcleo y del reconocimiento del dsRNA por helicasas



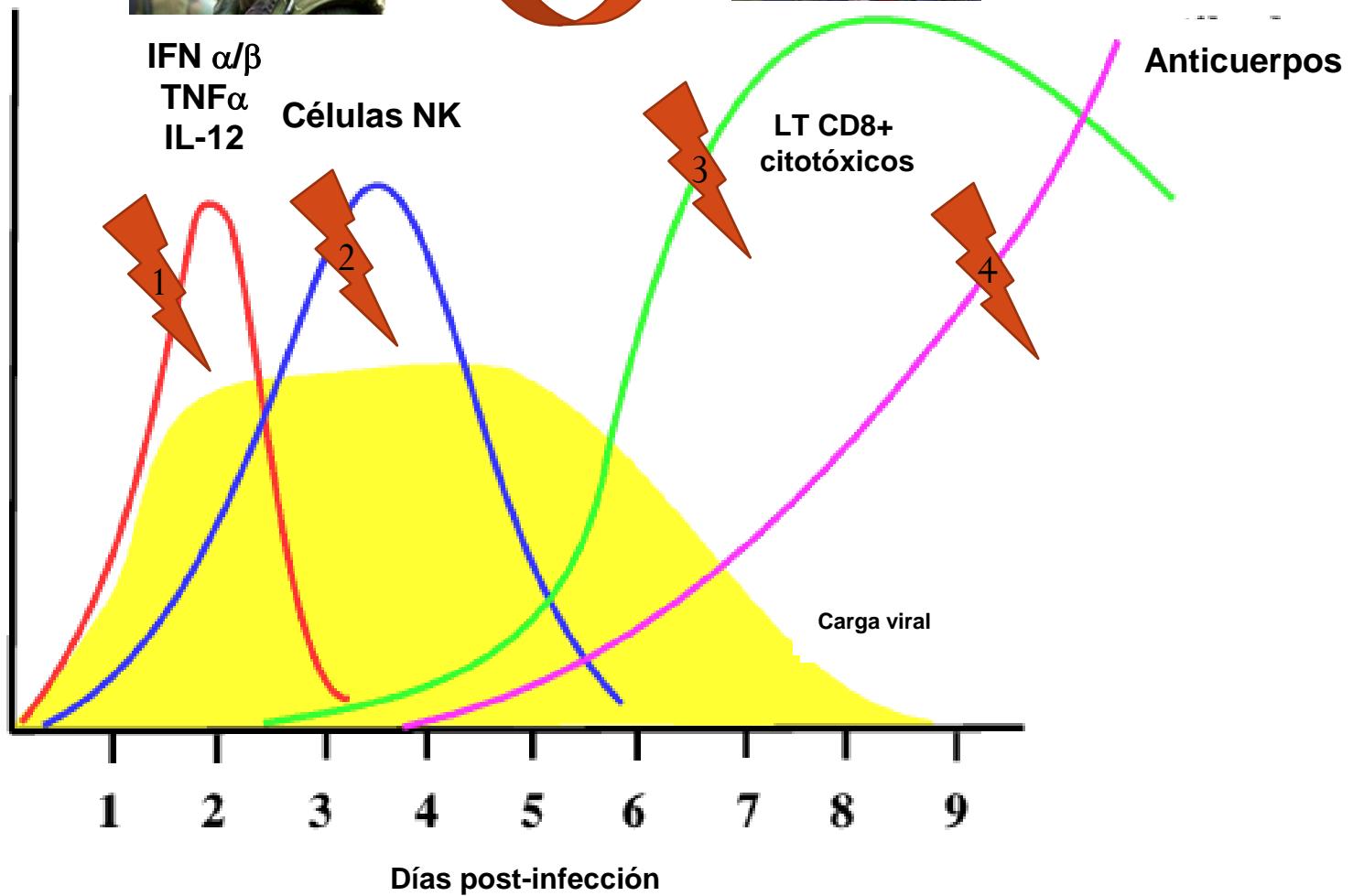


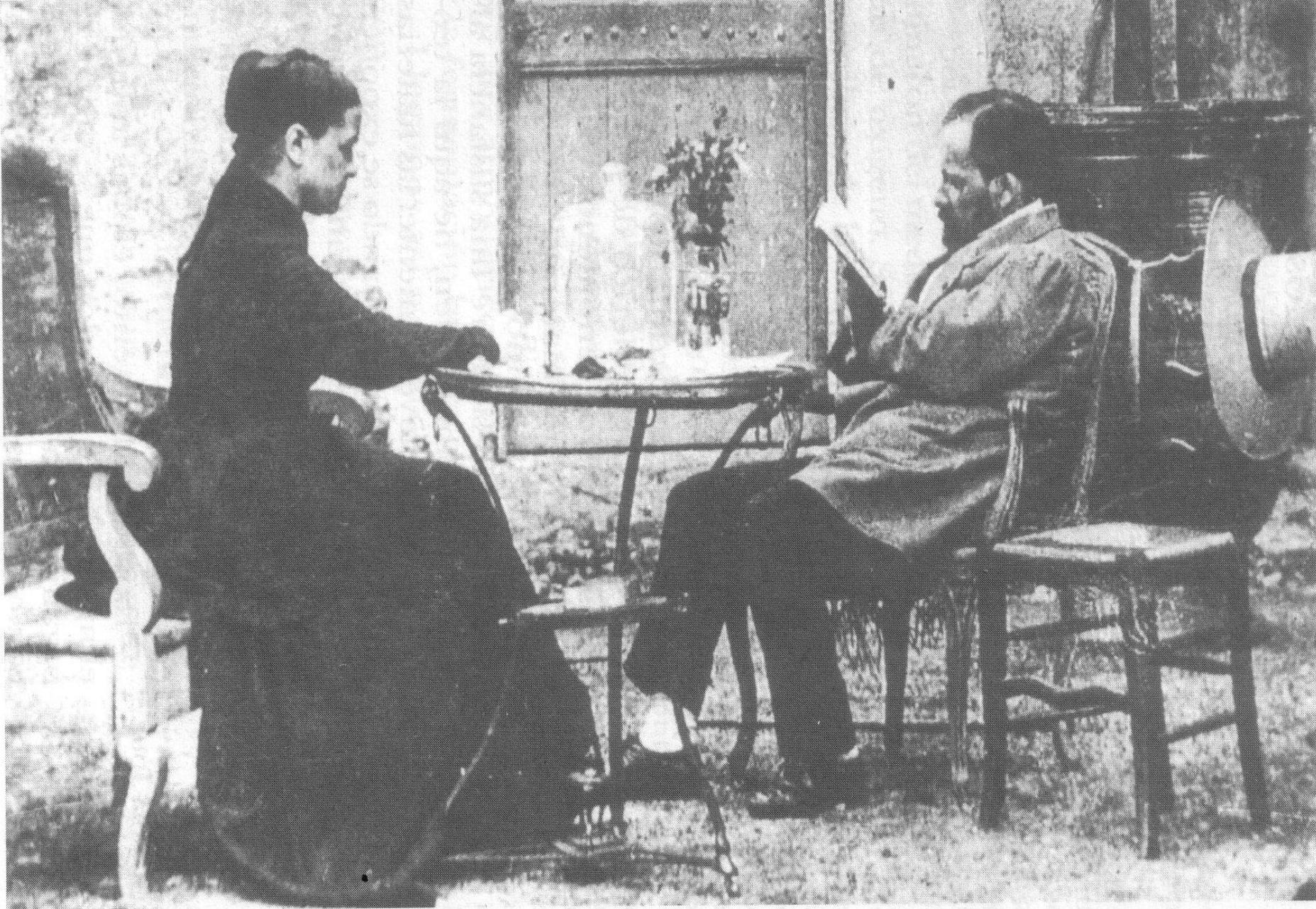
**B**



# Contenidos

- Mecanismos generales: evitar el reconocimiento y afectar los mecanismos de defensa.
- Diversidad y variabilidad genética y antigénica.
- ¿Cómo hacen los virus para evitar el reconocimiento mediante la variabilidad / diversidad?
- ¿Cómo hacen los virus para afectar la respuesta inmune del hospedador?
- Algunos ejemplos: HSV, EBV, HIV, HCV, HPV, sarampión, rabia, Ébola.
- Conclusiones





Marie Laurent, hija del rector de la Universidad de Estrasburgo, se convirtió en Madame Pasteur y en una gran colaboradora del sabio. En la fotografía la vemos tomando dictado de su marido en el jardín de su casa en Pont-Gisquet (1868).

# 28 de septiembre...

- De 1895: Fallece Louis Pasteur



*“Los griegos nos han dado uno de las palabras más hermosas de nuestra lengua:  
**entusiasmo**, un dios interior...”*

*La grandeza de los actos de los hombres se mide por la inspiración de la cual surgen.*

*¡Feliz aquel que tiene un dios interior...!”*