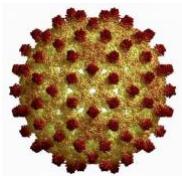


Departamento de Microbiología, Parasitología e Inmunología
Microbiología I

Cátedra 1. Microbiología y Parasitología
Área de Virología



Seminario 14

MODELOS DE INFECCIONES PERSISTENTES

Virus hepatitis B

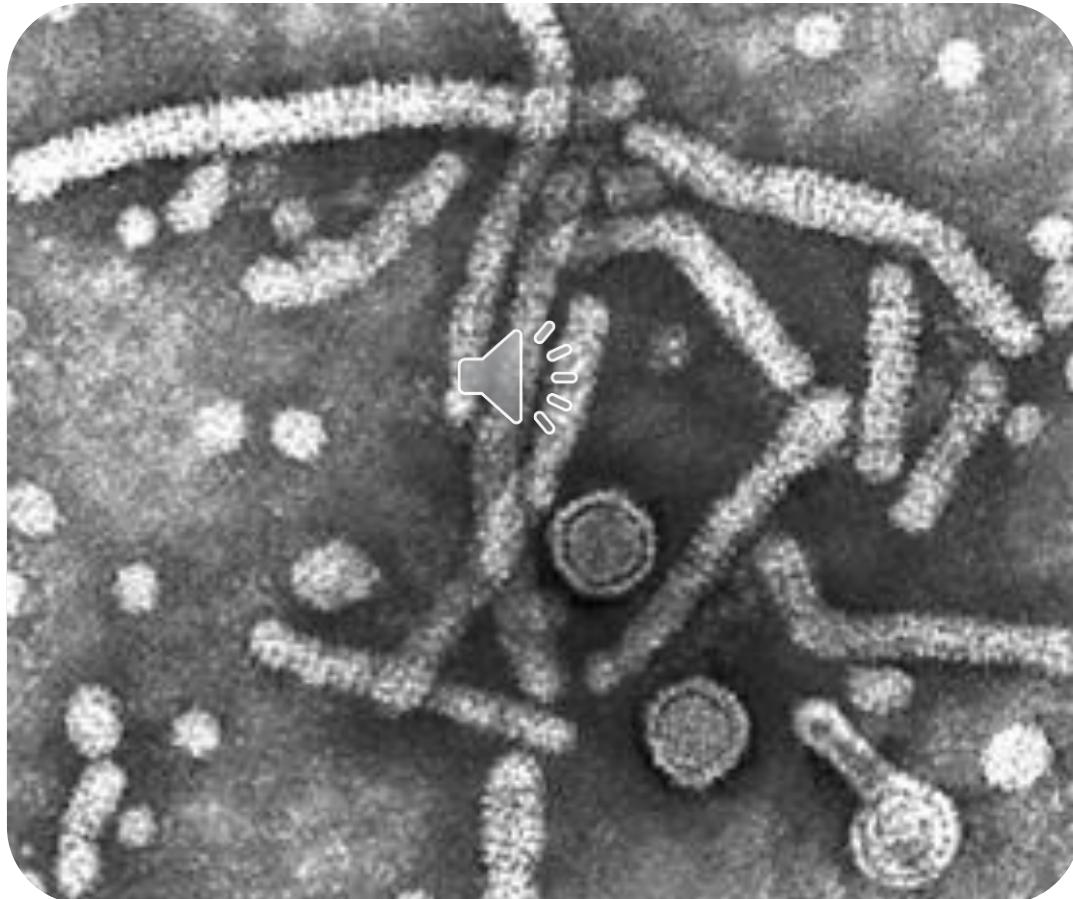
Virus herpes *simplex*



OBJETIVOS

1. Comprender las relaciones entre estructura y función de algunos virus que promueven infecciones persistentes: HBV y HSV.
2. Conocer sus vías de transmisión y estrategias de replicación viral.
3. Analizar los mecanismos inmunopatogénicos de lesión.
4. Explorar los mecanismos que se asocian a la latencia y la cronicidad de algunas infecciones persistentes.

VIRUS HEPATITIS B



VIRUS HEPATITIS B



Horizontal
Sexual
Parenteral



Vertical
Perinatal
Congénita



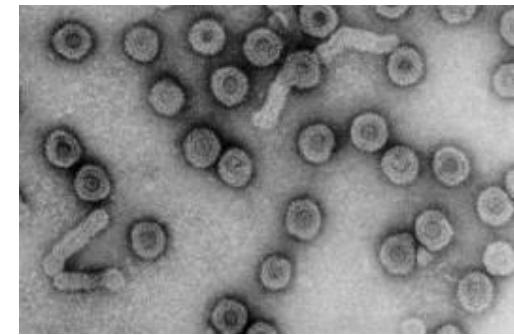
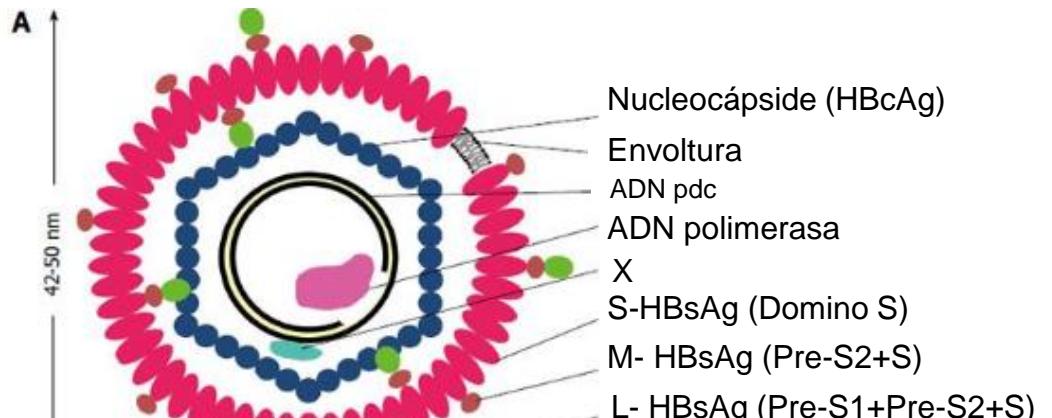
¿Qué diferencias presentan los 3 tipos de partículas virales detectadas en el suero de un paciente infectado con HBV?



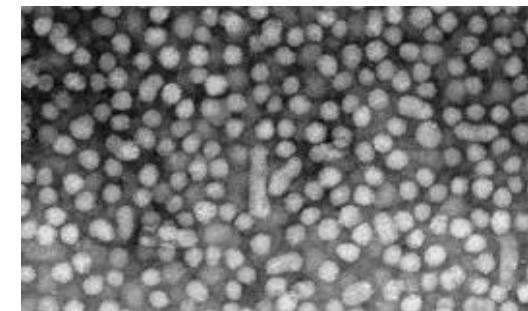
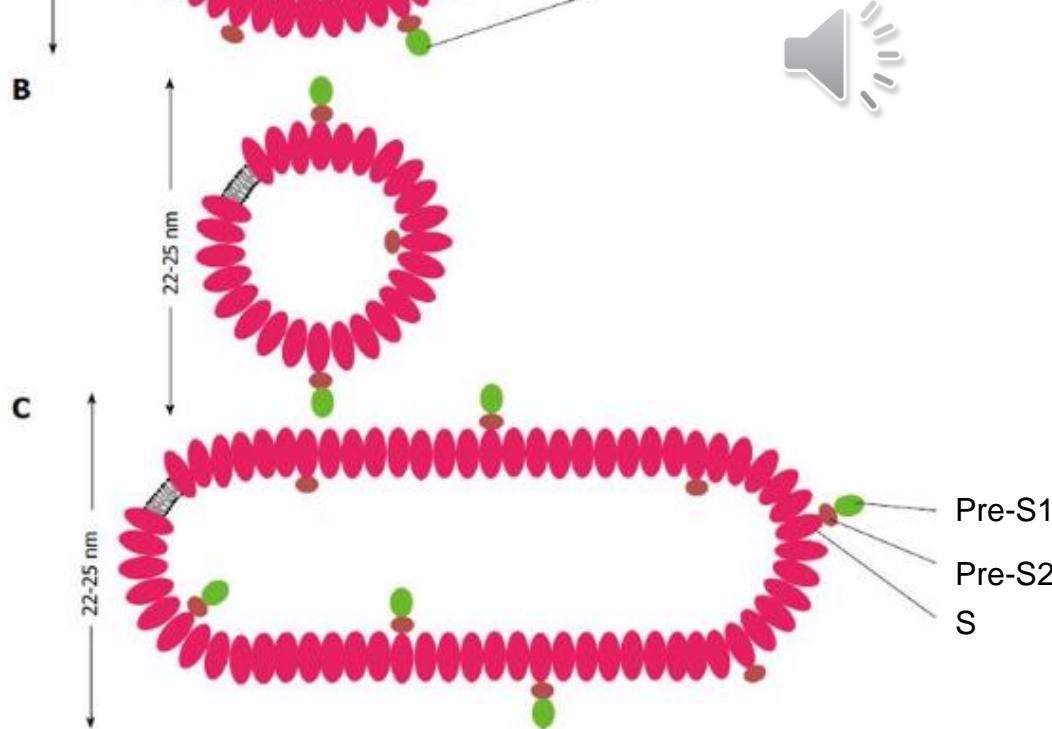
¿Las tres partículas son infecciosas?

¿Se producen en la misma cantidad?

ESTRUCTURA DE LA PARTÍCULA VIRAL



Partículas de Dane

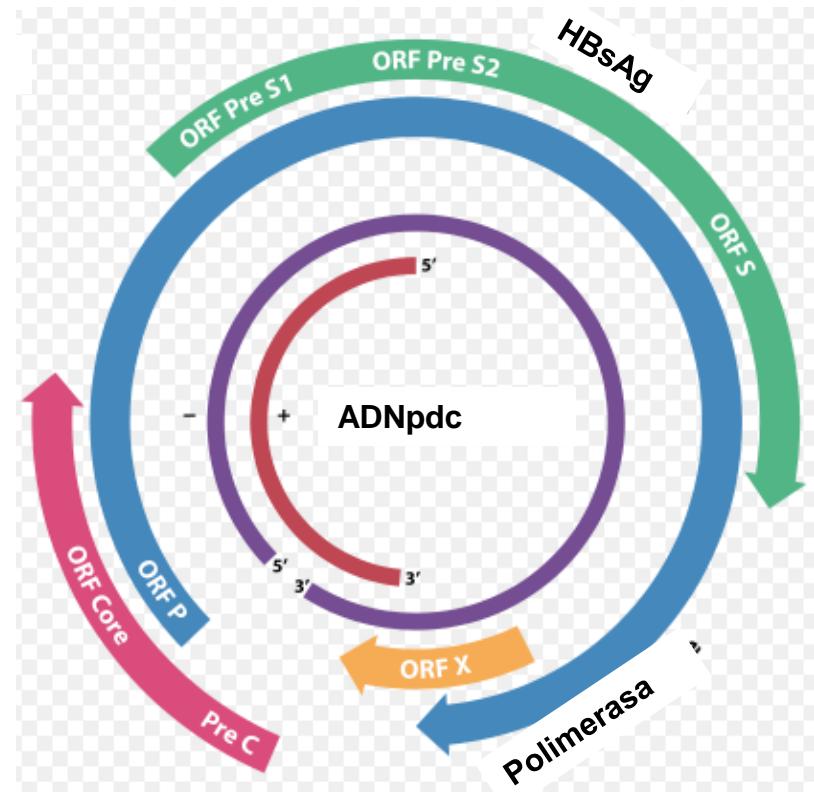
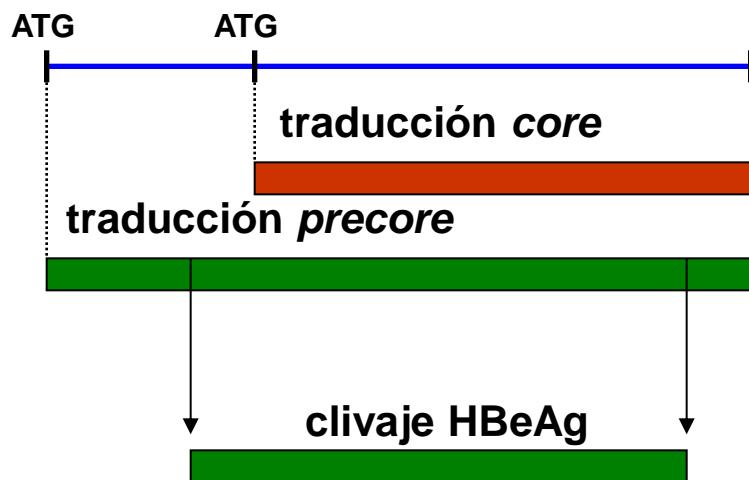
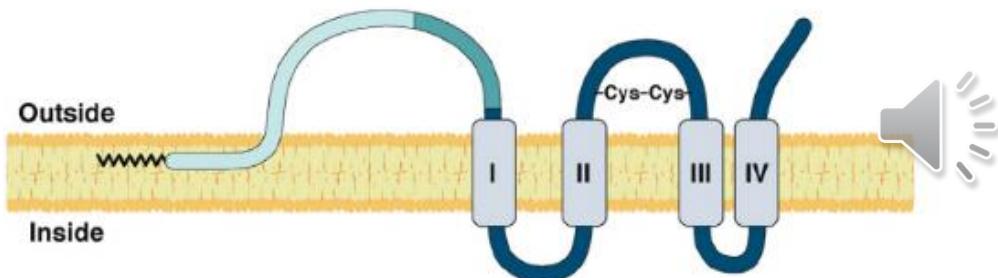
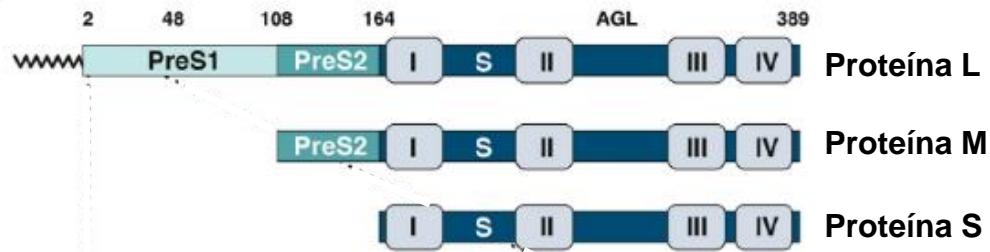


Partículas esféricas



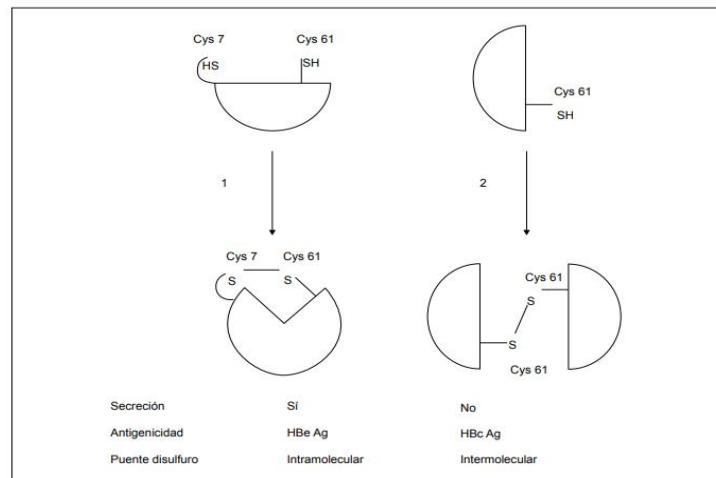
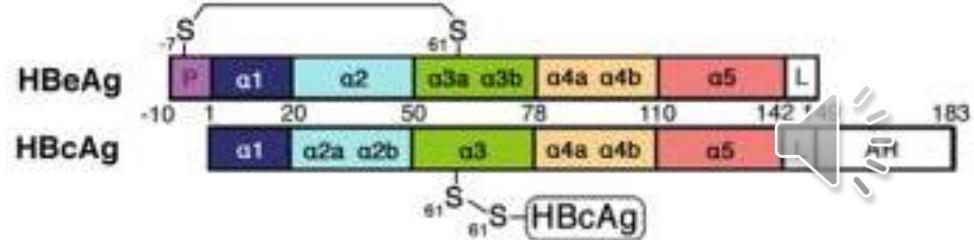
Partículas filamentosas

ESTRUCTURA DEL GENOMA DE HBV

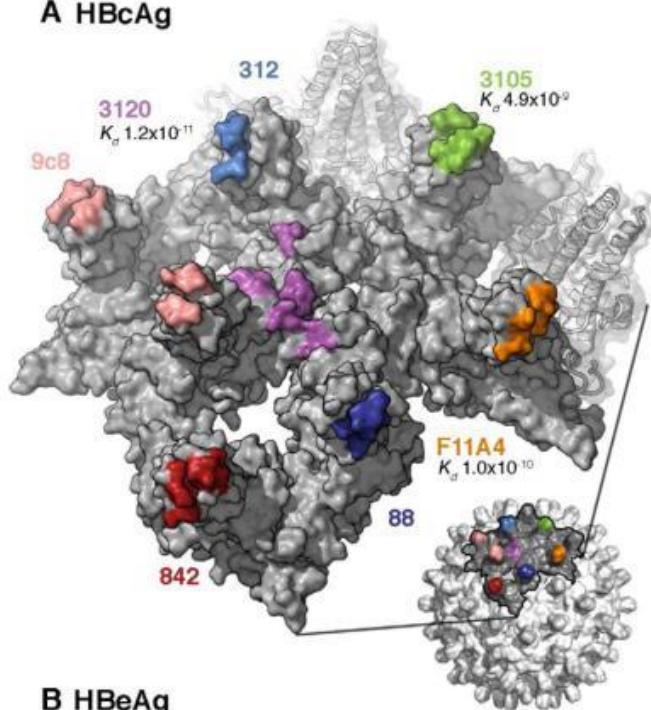


Si HBcAg y HBeAg comparten el 77% de su secuencia aminoacídica.....

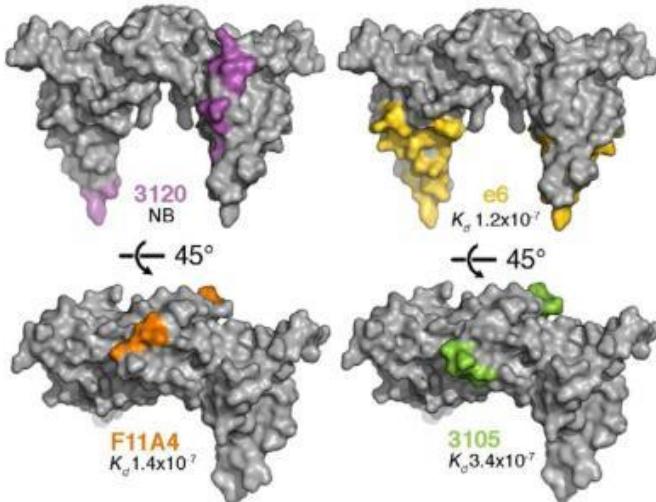
¿Por qué los anticuerpos anti-HBc no se unen al HBeAg?

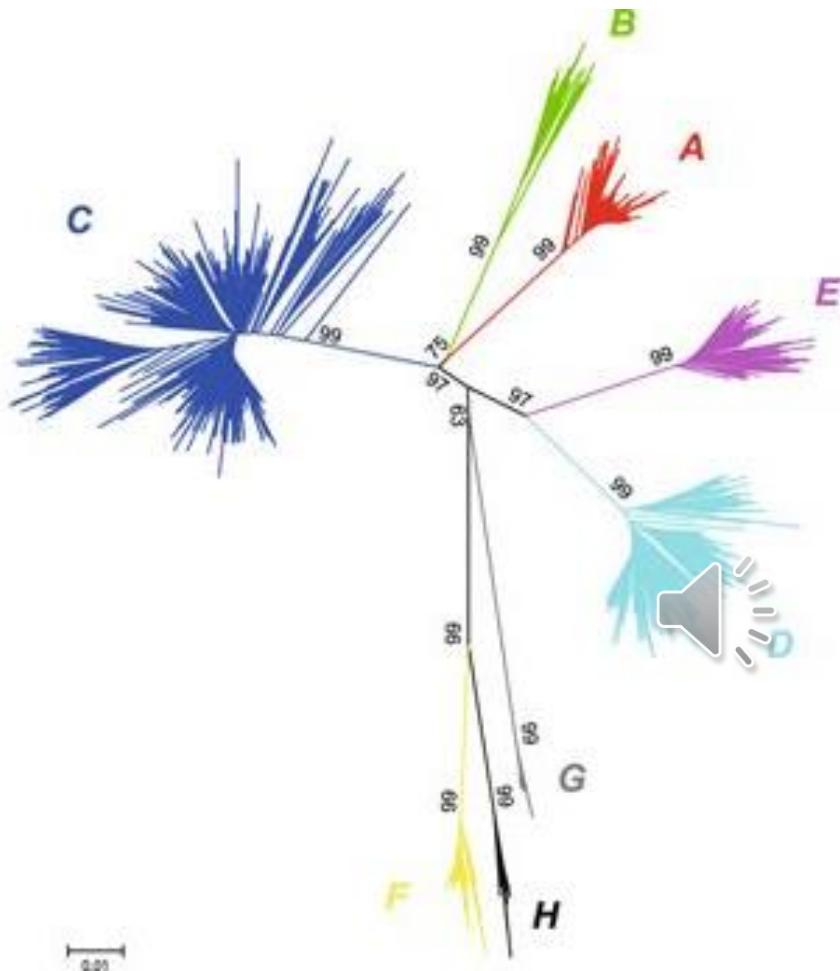


A HBcAg



B HBeAg



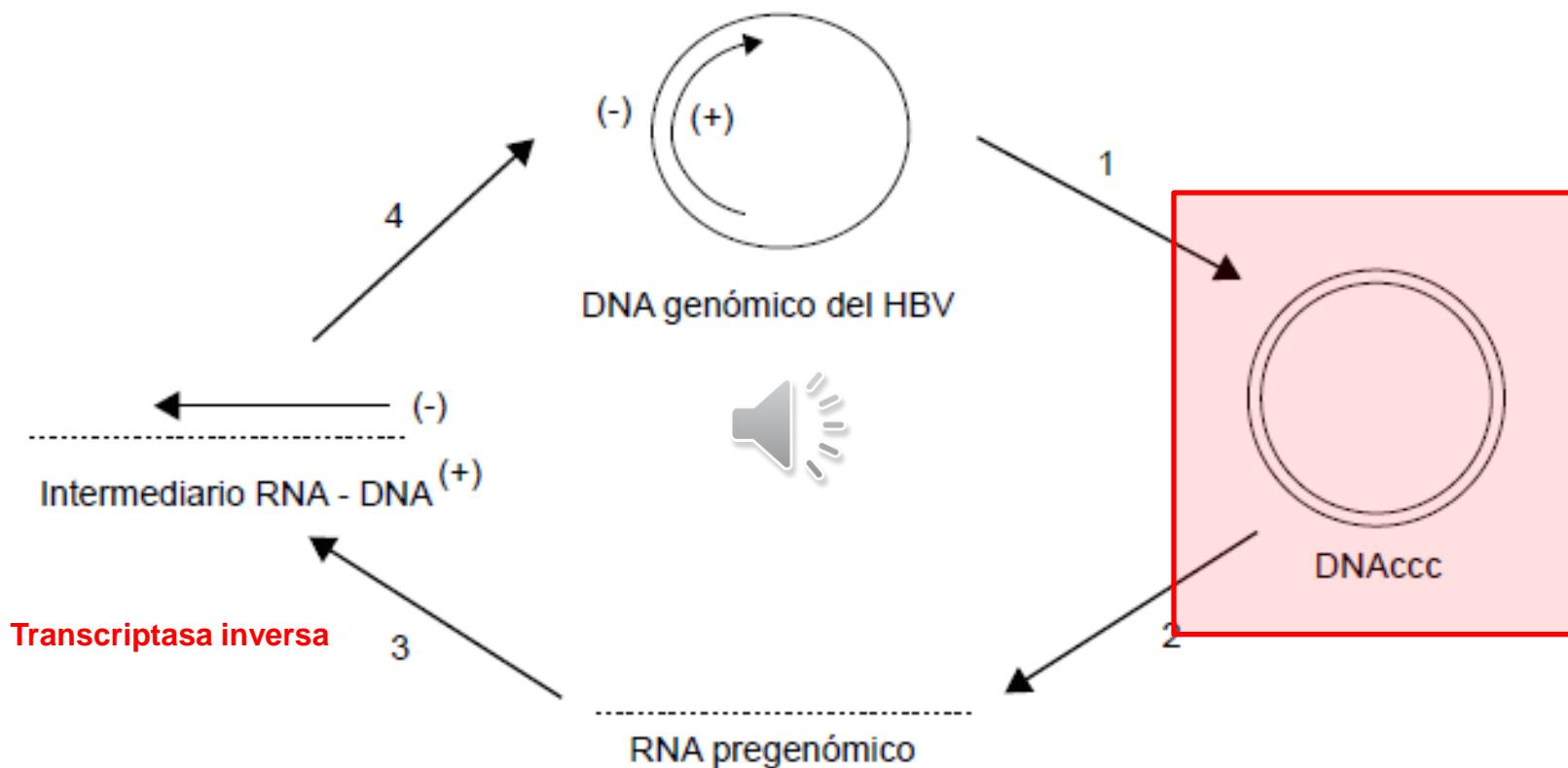


Diversidad genética

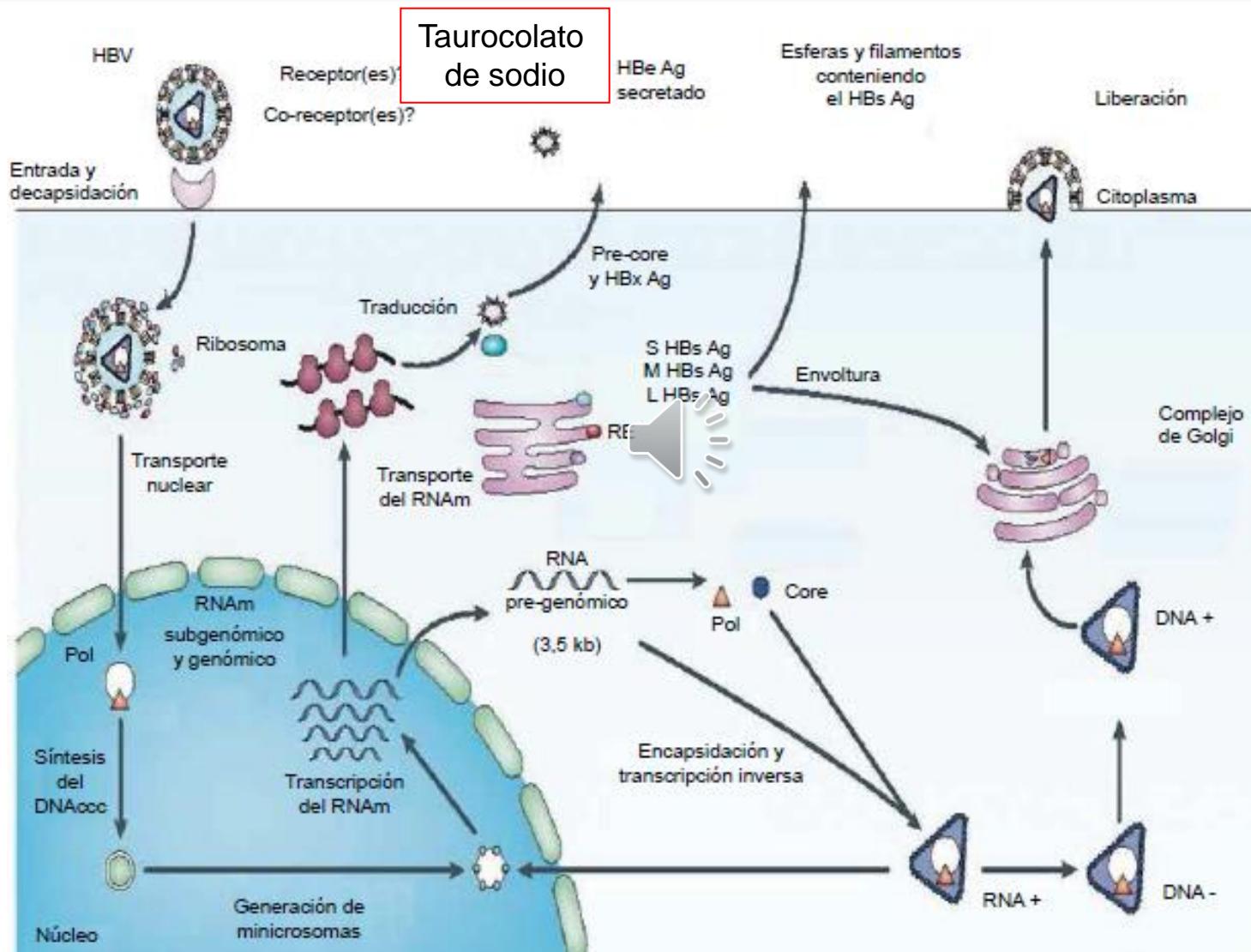
- ✓ Genotipos
 - ✓ Subgenotipos
 - ✓ Cuasiespecies
 - ✓ Recombinantes
 - ✓ Mutantes

¿Qué evento en la replicación viral determina la diversidad genética del HBV?

REPLICACIÓN DEL GENOMA DEL HBV



REPLICACIÓN DEL HBV



GENOTIPOS E IMPLICANCIAS MÉDICAS

GENOTIPO	IMPORTANCIA MÉDICA
A	Frecuentemente asociado a cronicidad pero con mejor pronóstico.
B	Remisión bioquímica sostenida más probable después de la seroconversión HBeAg-antiHBe que el genotipo C.
C	Curso más agresivo. Alta tasa de CHC y cirrosis
D	Frecuentemente asociada con mutante en PreCore (codón STOP)
E	El más distamente relacionado RESPECTO a la cepa vacunal
F	Mediana de edad de Dx de CHC menor que con A-D. (22,5 vs 60 años)
G	Incapaz de sintetizar HBeAg.
H (I-J)	?

TIPO DE INFECCIÓN POR HBV

RECIÉN
NACIDOS

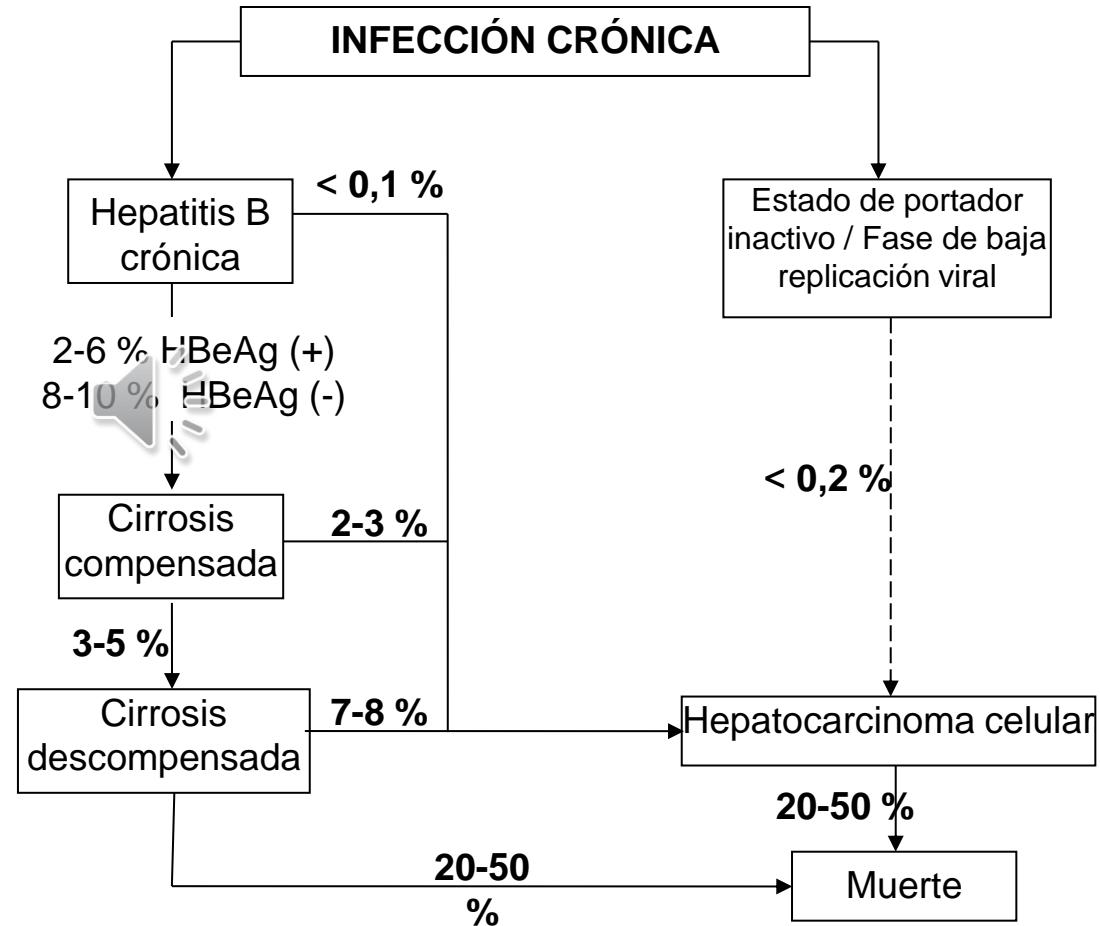
Aguda
(2%)

Crónica
(~98%)

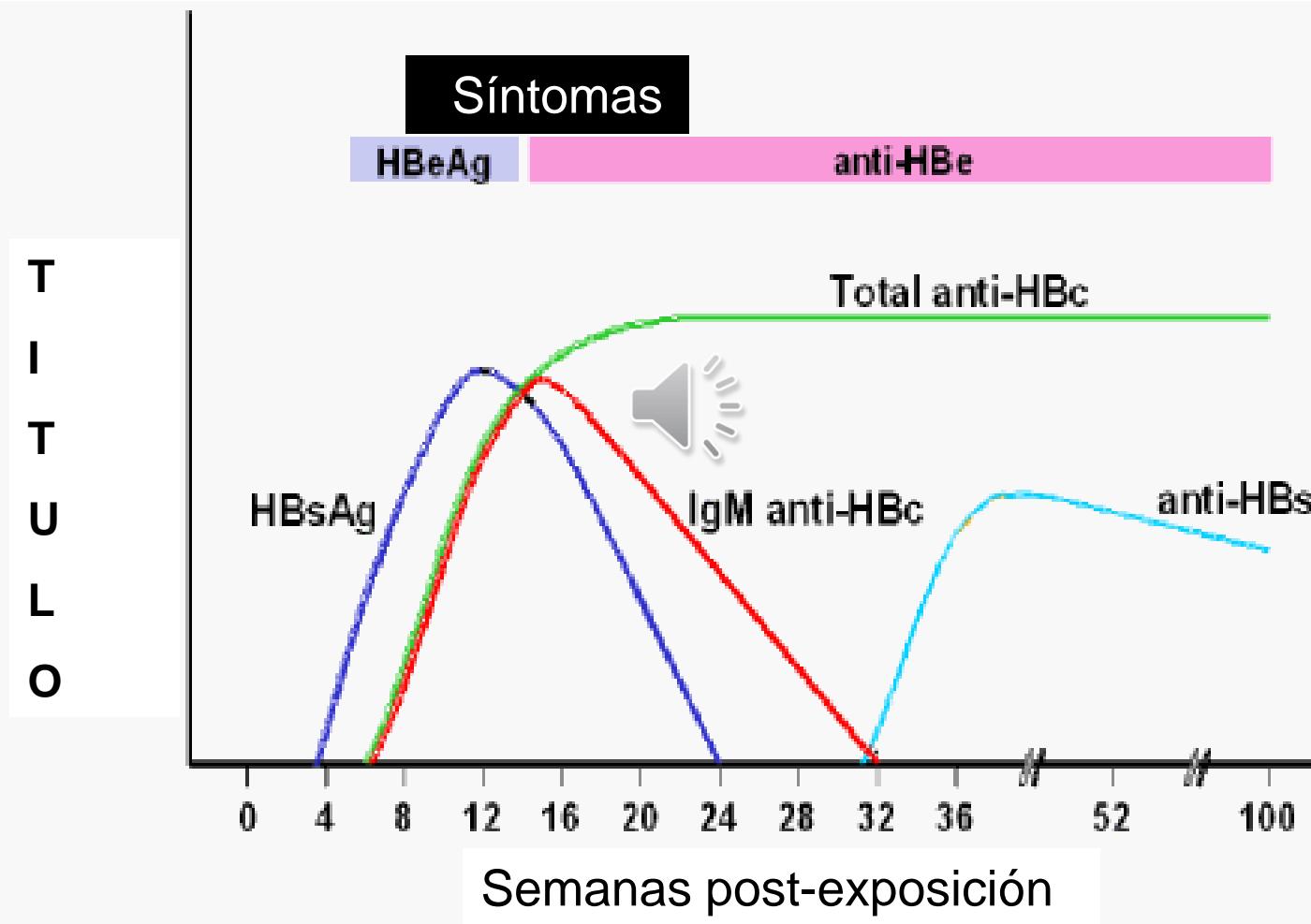
ADULTOS

Aguda
(90-99%)

Crónica
(1-10%)

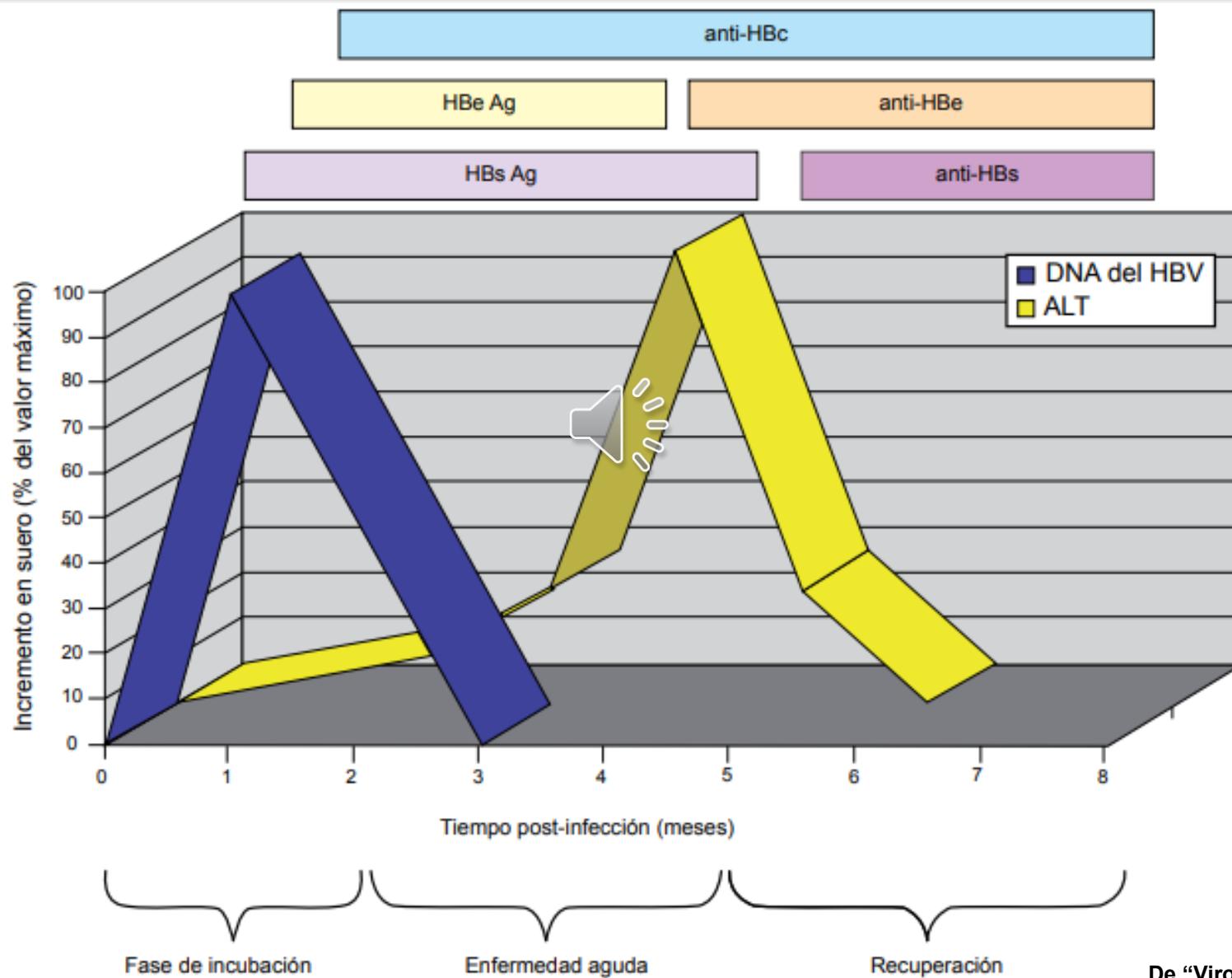


INFECCIÓN AGUDA POR HBV (I)

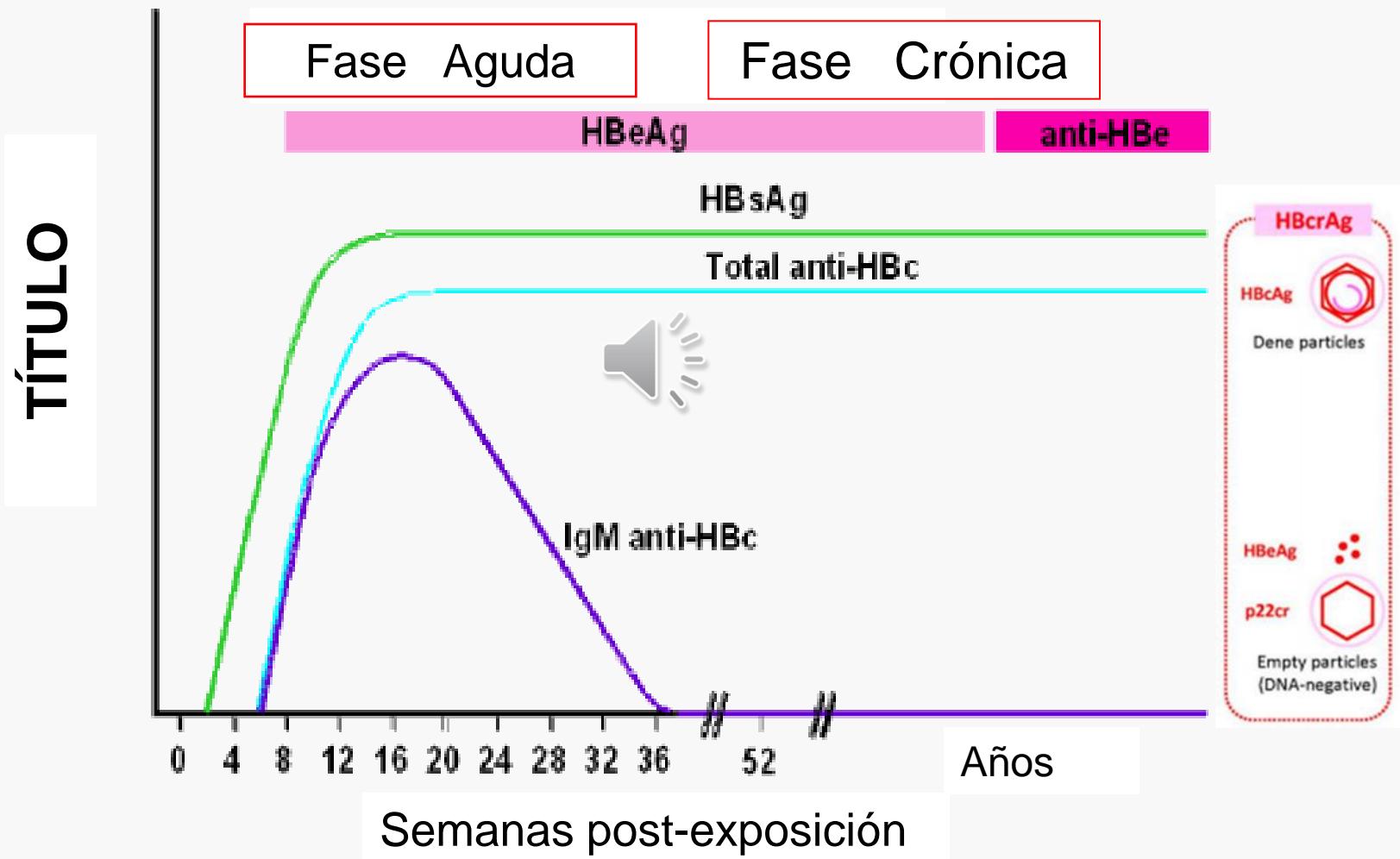


Source: http://www.cdc.gov/ncidod/diseases/hepatitis/slideset/hep_b/slide_3.htm

INFECCIÓN AGUDA POR HBV (II)

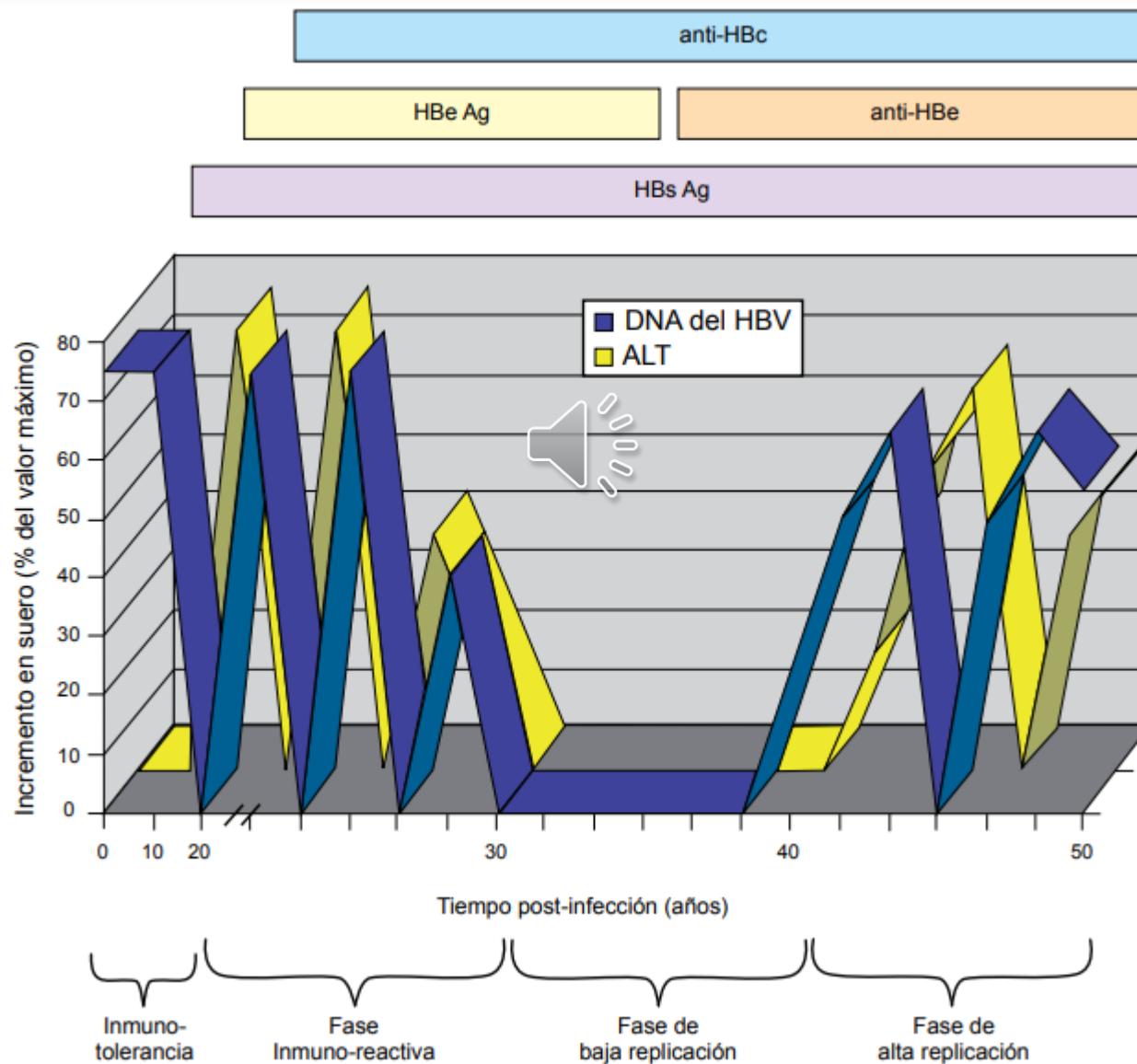


INFECCIÓN CRÓNICA POR HBV (I)



Source: http://www.cdc.gov/ncidod/diseases/hepatitis/slideset/hep_b/slide_3.htm

INFECCIÓN CRÓNICA POR HBV (II)



INFECCIÓN OCULTA

Individuos HBs Ag (-) con o sin marcadores serológicos de previa infección por HBV (anti-HBs y/o anti-HBc) con DNA HBV detectable en suero o tejido hepático.

¿Cuáles pueden ser las causas de seronegatividad para HBs Ag en individuos virémicos?

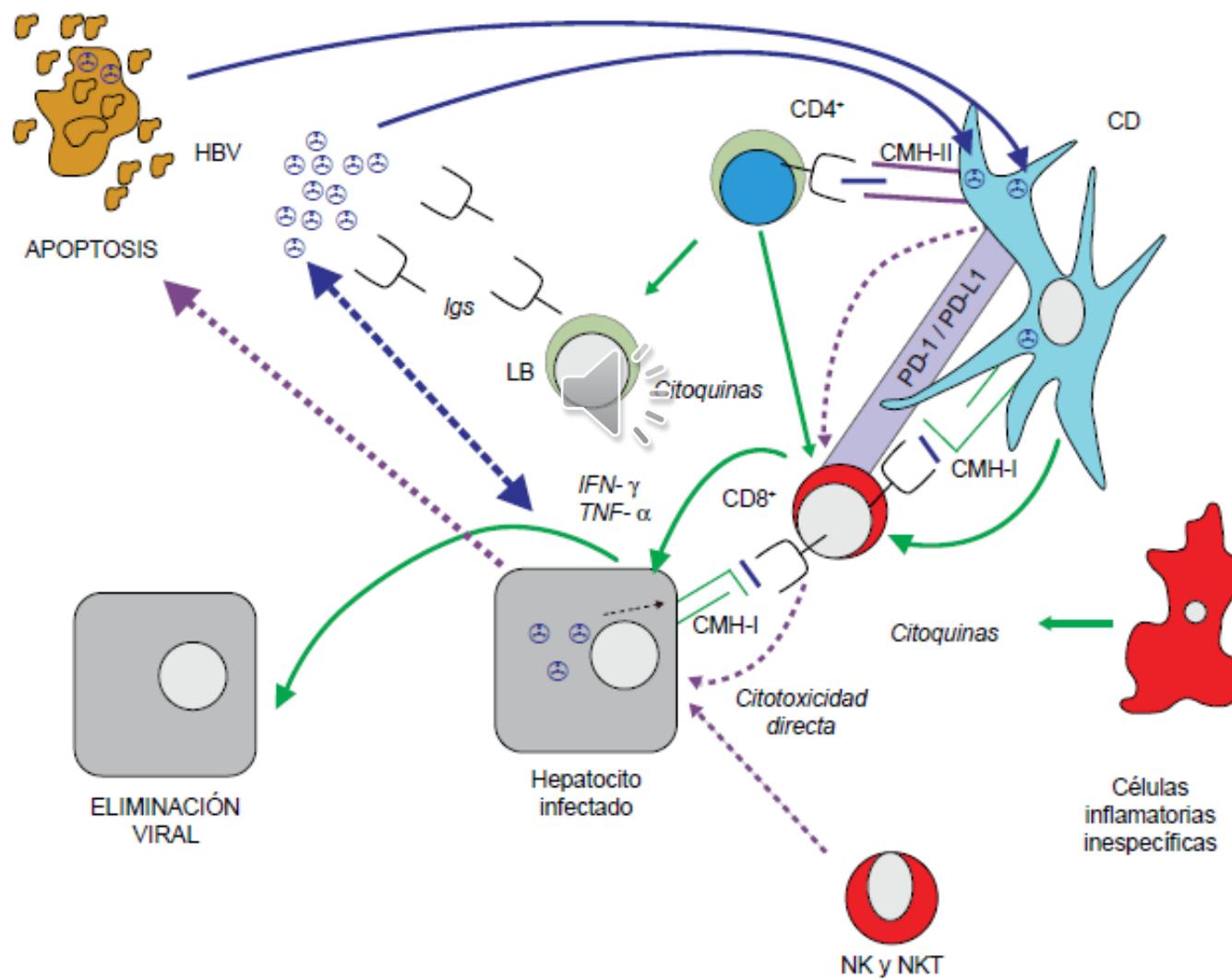


Bajos niveles de HBs Ag para ser detectados en suero mediante los EIE convencionales.

Mutaciones en el gen S que afectan la antigenicidad y su detección por los EIE convencionales

La presencia de inmunocomplejos

INMUNOPATOGENESIS



RESPUESTA INMUNE ANTIVIRAL

DEBIL
OLIGOCLONAL

VIGOROSA
POLICLONAL
MULTIESPECÍFICA

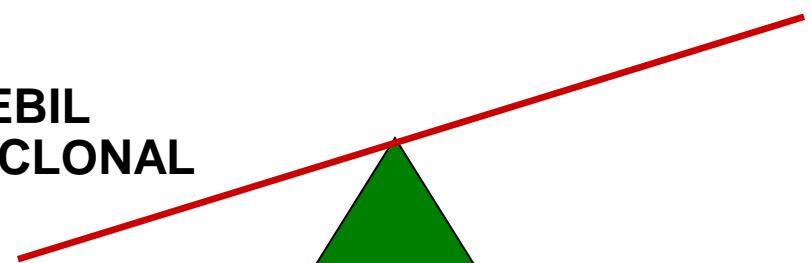
AGUDA



VIGOROSA
POLICLONAL
MULTIESPECÍFICA

PERSISTENCIA

DEBIL
OLIGOCLONAL



DETERMINANTES VIRALES QUE FAVORECEN LA PERSISTENCIA

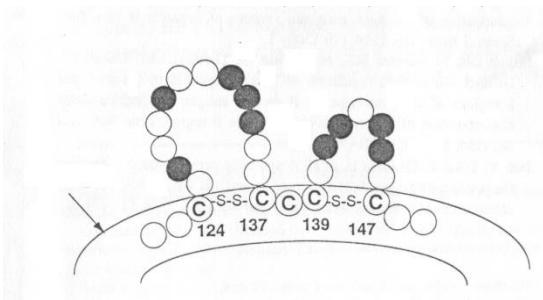
Factores virales y celulares que permiten la persistencia viral

- a) características generales del hospedador;
- b) supresión específica del sistema inmune;
- c) persistencia de formas genómicas estables del HBV dentro de la célula (DNAccc);

- d) infección de sitios privilegiados (info-mononucleares, etc.);
- e) integración del genoma viral al genoma celular, y
- f) generación de variantes / mutantes del HBV que permitan la evasión a la respuesta inmune.

DETERMINANTES VIRALES QUE FAVORECEN LA PERSISTENCIA

ALTA TASA DE MUTACIONES



ESCAPE A LA
RESPUESTA INMUNE
HUMORAL

Mutaciones en el HBsAg que impiden
la unión de anticuerpos anti-HBs
previos

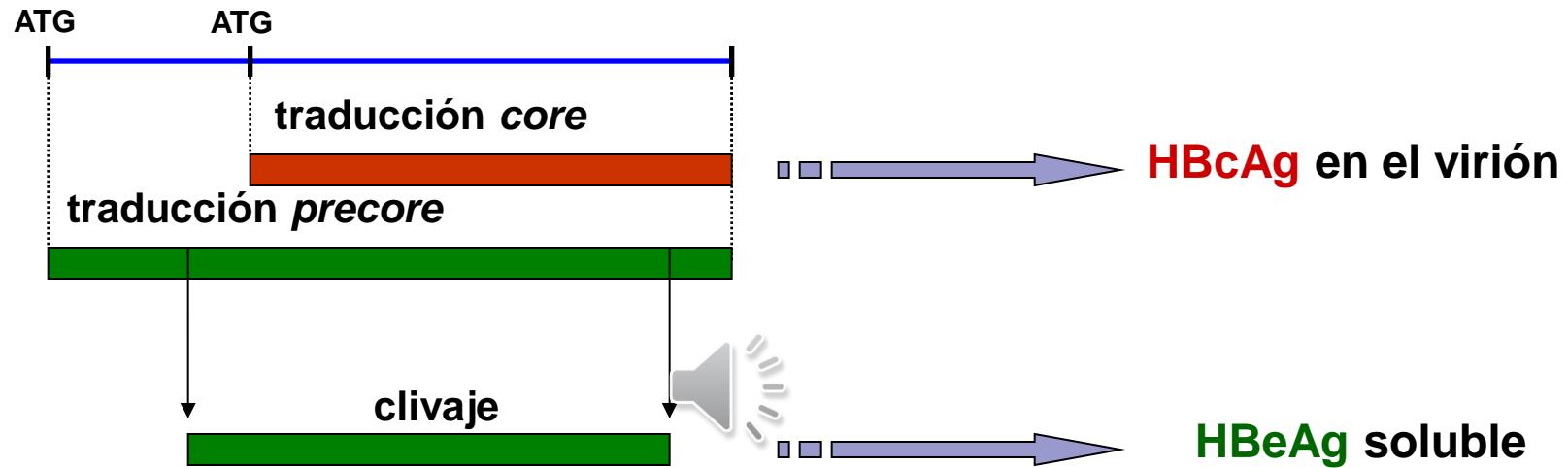
Mutaciones en los epítopes
para linfocitos T



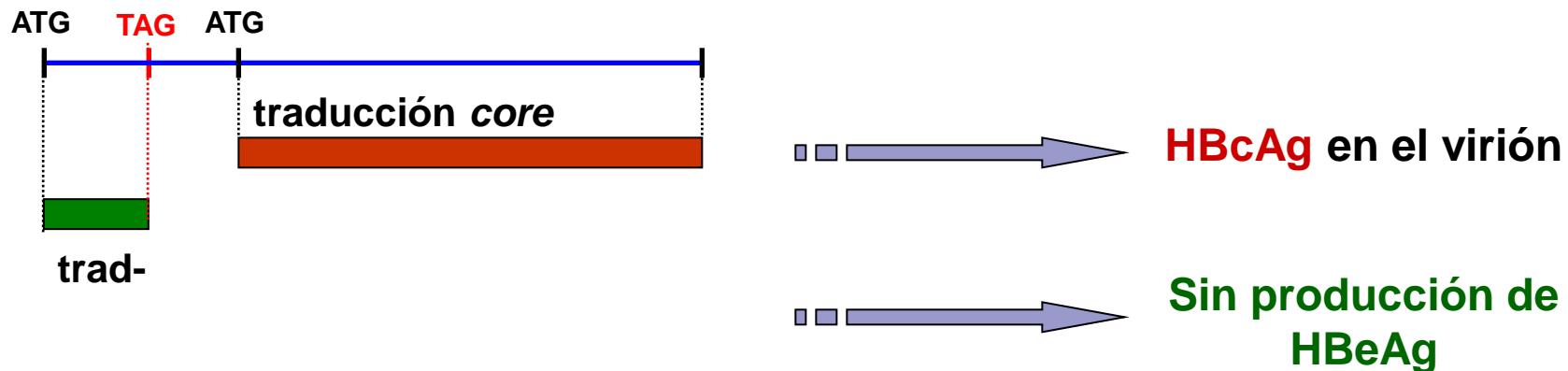
ESCAPE A LA
RESPUESTA INMUNE
CELULAR

DETERMINANTES VIRALES QUE FAVORECEN LA PERSISTENCIA

HBV con síntesis de HBeAg

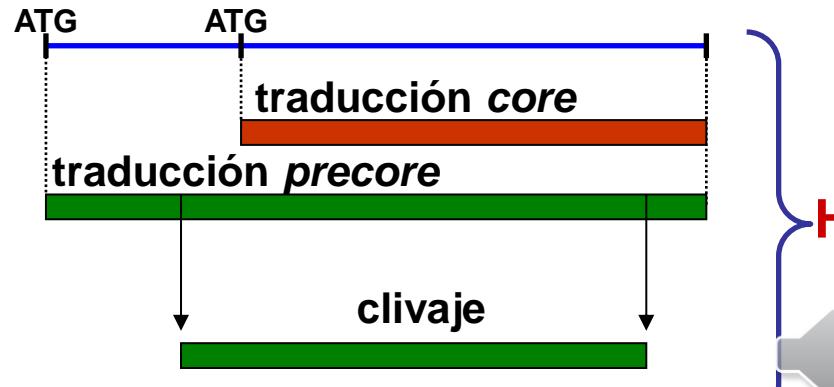


Mutantes de precore sin síntesis de HBeAg



DETERMINANTES VIRALES

HBV CON SINTESIS DE HBeAg



HBcAg y HBeAg comparten epítopes para CD4 y CD8

HBeAg induce respuesta TH2 y produce depleción de TH1 específicas contra el HBcAg

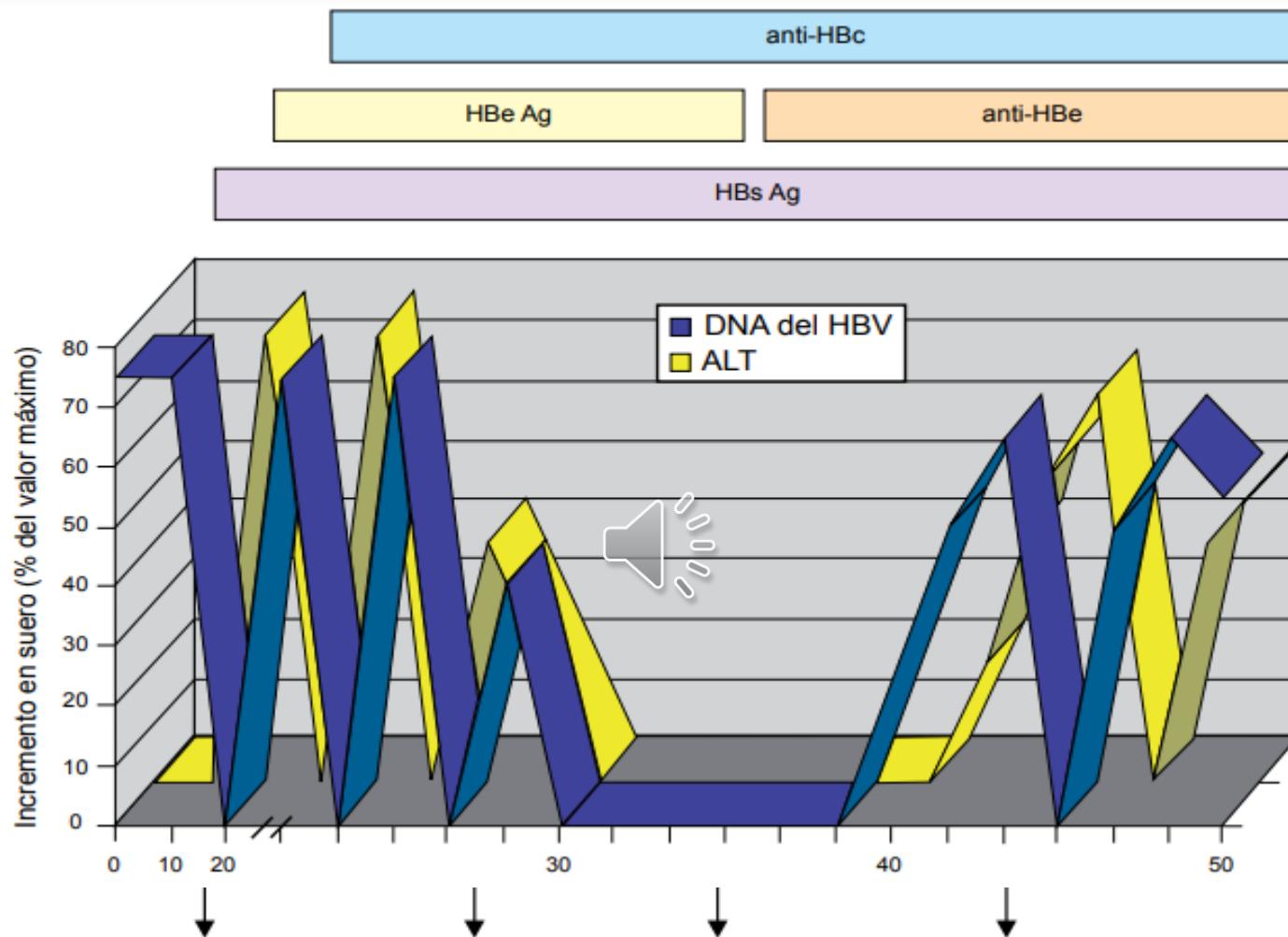
HBeAg atraviesa placenta y llega al timo

PERSISTENCIA

TOLERANCIA

Infección crónica en recién nacidos ~98 %

Fases de la infección crónica por HBV y su correlación con la evolución del genoma viral



Delección del gen C
Nuevo sitio de unión
en el Promotor básico
del core (BCP) al factor
transcripcional HNF1

Mutación T/A
en el BCP
(1762/1764)

Defecto en la síntesis
de HBe Ag y pre-S2
Delección de pre-S2
Cambios de aa en HBc
y HBe Ag

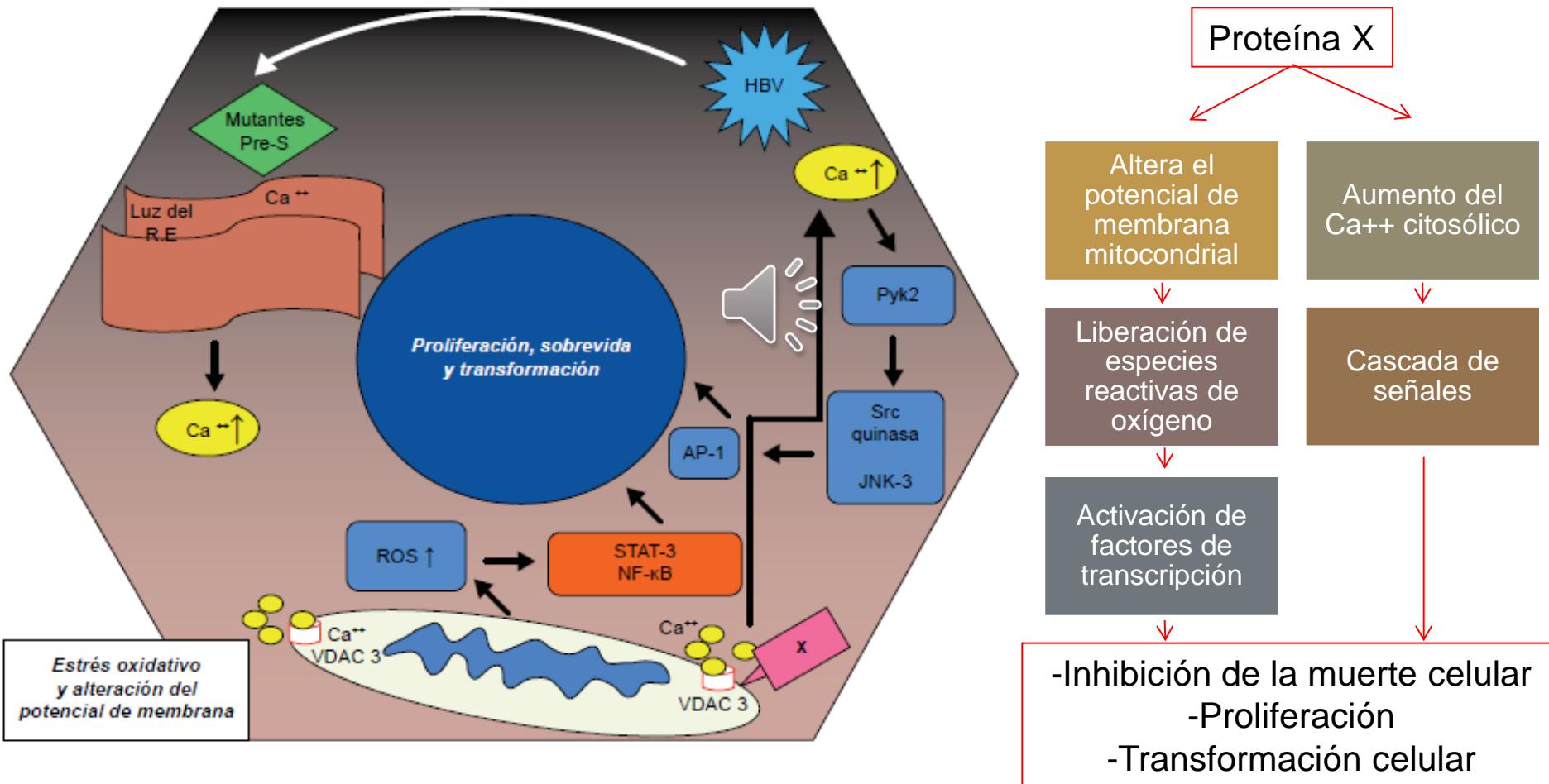
Cambios de aa
en HBs Ag
(determinante a)

PATOGÉNESIS DEL CHC

¿Qué proteínas del HBV

favorecen la generación del CHC?

PATOGÉNESIS DEL CHC



FACTORES DE RIESGO

Factores asociados a un aumento del riesgo de progresión a la cirrosis		
Del hospedador	Virales	Ambientales
<ul style="list-style-type: none">• Edad avanzada• Sexo masculino• Estado inmune	<ul style="list-style-type: none">• Alta tasa de replicación viral• Genotipo (C > B; F)• Variantes del HBV (mutaciones en el promotor basal del core)• F progresión frecuente a fibrosis	<ul style="list-style-type: none">• Co-infección con HDV, HIV o HCV• Consumo de alcohol• Diabetes <i>mellitus</i>• Obesidad
Factores asociados con riesgo aumentado de progresión al CHC		
Del hospedador	Virales	Ambientales
<ul style="list-style-type: none">• Edad avanzada• Sexo masculino• Cirrosis• Historia familiar de CHC• Etnia (asiáticos, africanos)	<ul style="list-style-type: none">• Alta tasa de replicación viral• Genotipo (C > B; F)• F progresión más rápida• Variantes de HBV (mutaciones en el promotor basal del core)• Efecto transactivador de X sobre genes celulares	<ul style="list-style-type: none">• Co-infección con HDV, HIV o HCV• Consumo de alcohol• Diabetes <i>mellitus</i>• Obesidad• Tabaquismo

PATOGÉNESIS DE LAS MANIFESTACIONES EXTRA-HEPÁTICAS

Inmunocomplejos Circulantes



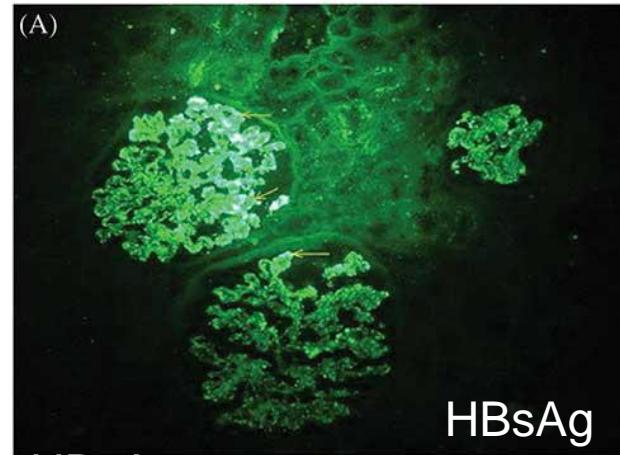
Deposición de inmunocomplejos en vasos sanguíneos, glomérulos y sinovia



Reclutamiento mediado por complemento y receptor Fc; activación de células inflamatorias



Gránulos neutrofílicos, enzimas, intermediarios reactivos de oxígeno



Vasculitis y poliarteritis nodosa

Glomerulonefritis

Artritis

VIRUS HERPES *SIMPLEX*



Todos los miembros de esta familia viral producen infecciones persistentes latentes

LATENCIA:

“Mantención FUNCIONAL del genoma viral, SIN PRODUCCIÓN DE VIRIONES
(esto último con carácter REVERSIBLE).



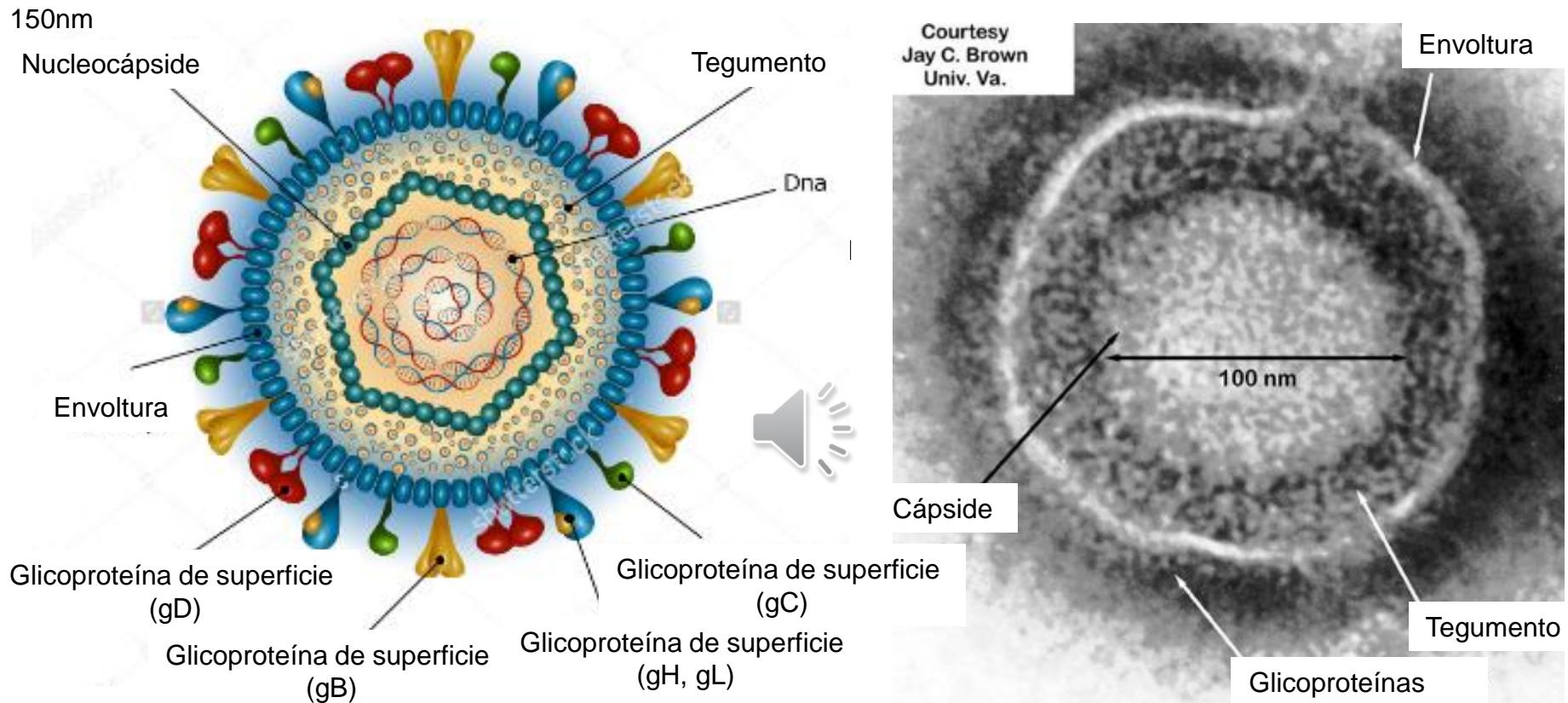
FAMILIA HERPESVIRIDAE

Sub-familia	Virus	Células blanco de la replicación productiva	Células blanco de la latencia
α	HSV-1	Epitelial, queratinocito	Neurona
	HSV-2	Epitelial, queratinocito	Neurona
	VZV	Epitelial, queratinocito, linfocito T, monocito, endotelial, Langerhans	Neurona
β	HCMV	Macrófago, dendrítica, endotelial, músculo liso, epitelial, fibroblasto	Célula pluripotencial hematopoyética (Stem cell) CD34+, macrófago
	HHV-6	Linfocito T CD4	Célula pluripotencial hematopoyética (Stem cell) CD34+, macrófago
	HHV-7	Linfocito T CD4	Linfocito T CD4
γ	EBV	Linfocitos B, epitelial	Linfocito B
	HHV-8	Linfocitos	Linfocitos B

FAMILIA HERPESVIRIDAE

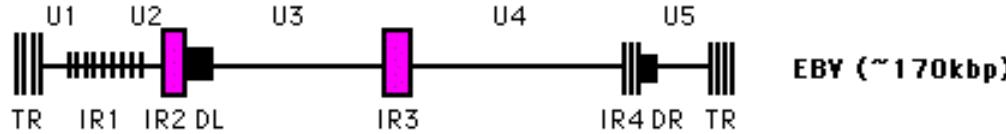
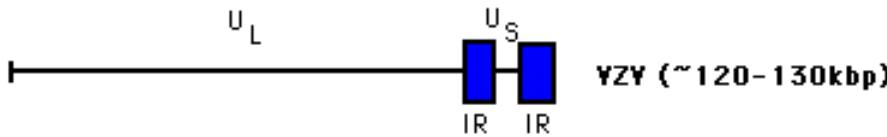
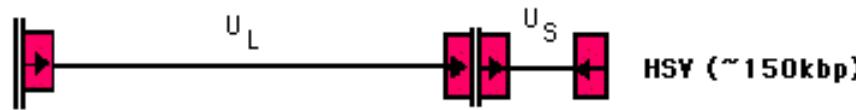
SIMILITUDES	DIFERENCIAS
Morfología: ME (cápside, tegumento, envoltura)	Enfermedades producidas
Estructura: grandes, envueltos, genoma DNA de doble cadena y extenso.	Células blanco de infección productiva vs las de infección latente
Propiedades biológicas: DNA polimerasa viral, Síntesis DNA y ensamblado en núcleo Latencia Alteración de la respuesta inmune	 Infección productiva → lisis celular (α) vs efectos no líticos (en otros)
Infecciones líticas, persistentes latentes y –eventualmente, los γ - transformantes	Estado genómico en la latencia (episomal vs proviral)
Infecciones productivas con expresión génica en cascada (IE, E, L)	Estrategias para el establecimiento y mantenimiento de la latencia
En GENERAL las primo-infecciones ocurren en edades tempranas (ej: HSV, CMV, EBV, VZV) → infecciones de alta prevalencia en la población general.	Disponibilidad de vacunas y tratamiento antiviral específico

ESTRUCTURA DE HSV



- **ADNdc** lineal en el virión (con extremos palindrómicos) y circular en el núcleo de la célula
 - Cápside icosaédrica
 - **Tamaño genómico:** 150-230 kb
 - **Virus grandes:** Codifican 80-200 productos génicos

COMPARACIÓN DE GENOMAS VIRALES



TODOS LINEALES Y CON SECUENCIAS PALINDRÓMICAS QUE
HACEN QUE SE CIRCULARICEN DURANTE LA LATENCIA

TRANSMISIÓN

HSV-1:

Herpes labial:

Saliva

Besos

Compartir vasos/cepillos de dientes

Otras partes del cuerpo:

Contacto con secreción infectada
con la piel

Autotransmisión (principalmente a
los ojos)



HSV-2:

Herpes genital:

Secreciones vaginales

Contacto sexual

Neonato:

Paso por el canal de parto



VIRUS HERPES SIMPLEX

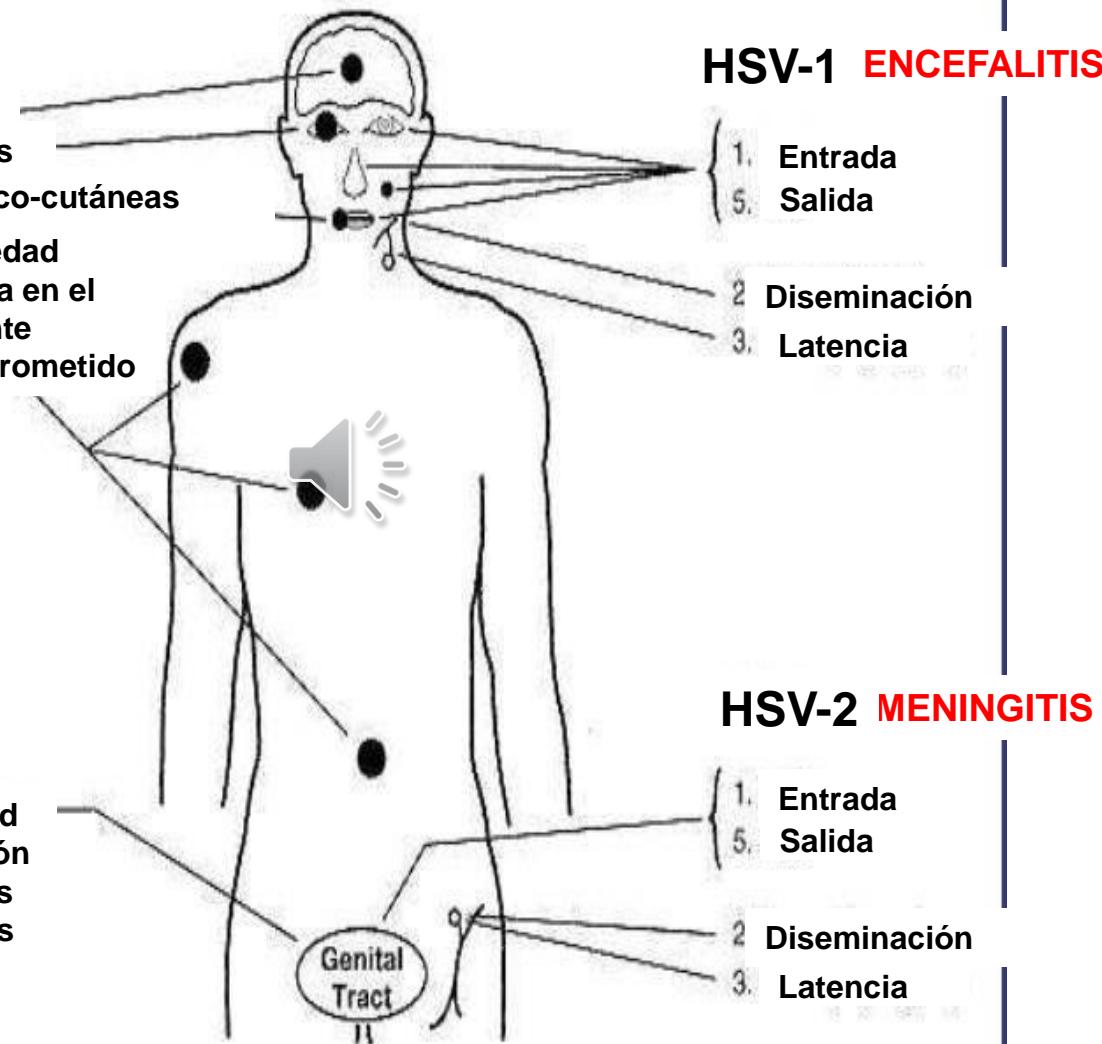


4. Disease

Queratitis

Lesiones muco-cutáneas

Enfermedad
diseminada en el
paciente
inmunocomprometido



Enfermedad
con aparición
de lesiones
recurrentes
Herpes
neonatal

PATOGENESIS DEL HSV

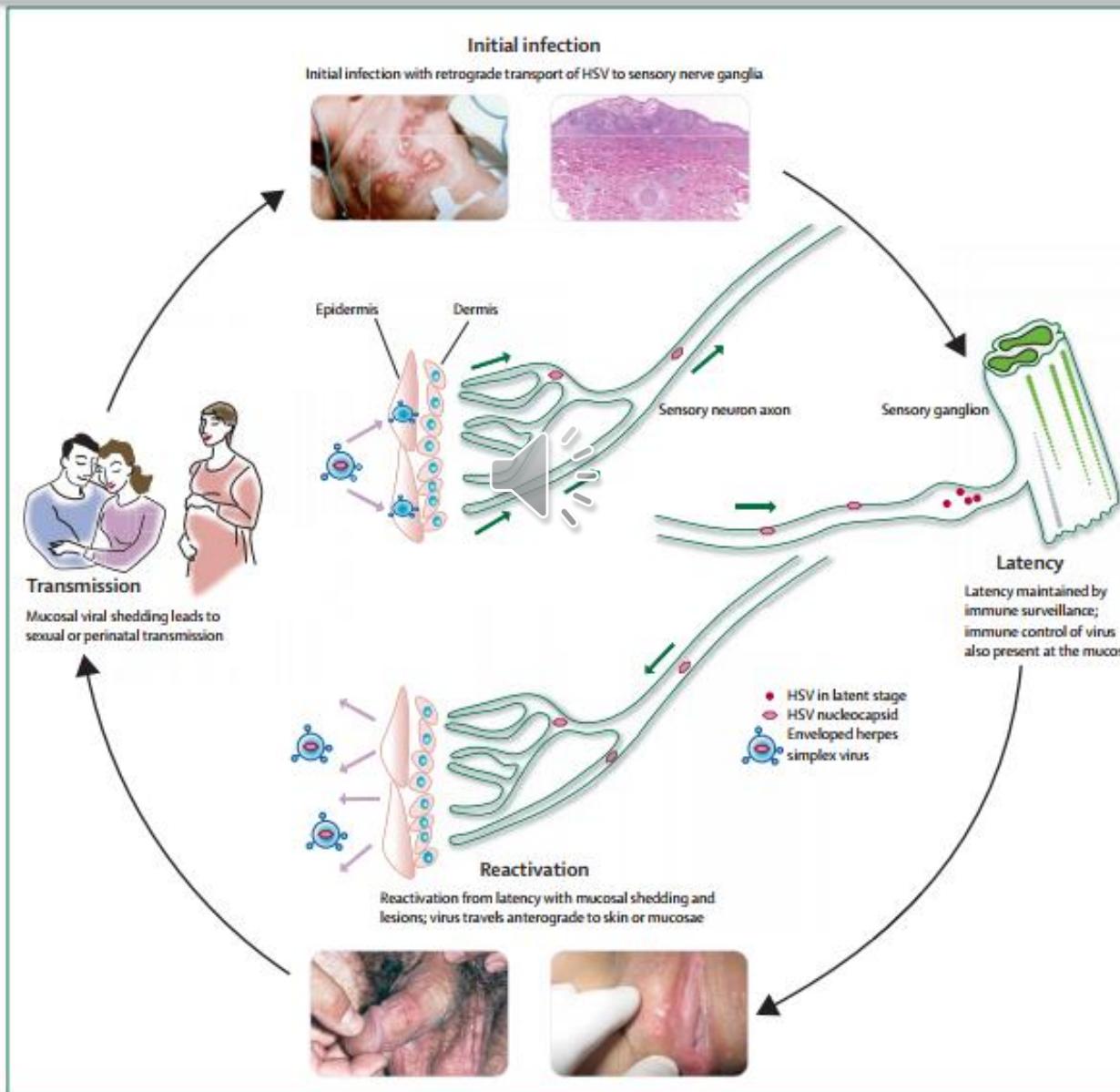


Figure 2: Epidemiology and pathogenesis of mucocutaneous HSV Infection

HSV-1 y HSV-2

HSV-1	HSV-2
Adquirido habitualmente antes de los 6 años de edad	Adquirido habitualmente luego de un contacto sexual
<ol style="list-style-type: none">1) ~ 50% de homología. Son similares y no presentan diferencias funcionales conocidas.2) Usualmente causan infecciones asintomáticas3) Se diseminan por contacto directo (NO hay diseminación epidémica)4) Permanecen en forma latente en cuerpos neuronales.5) La respuesta inmune humoral específica no confiere protección cruzada	



¿VERDADERO O FALSO?

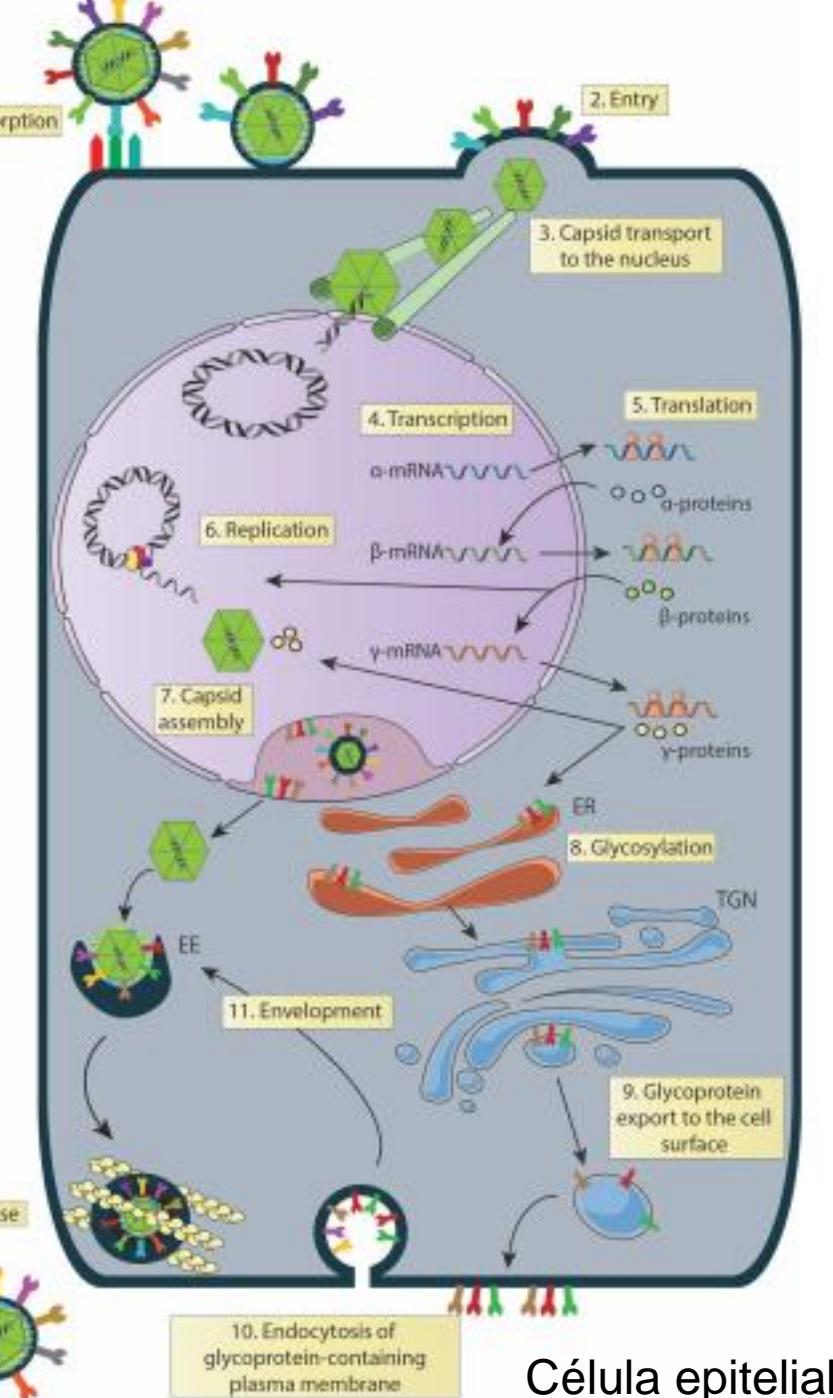
1- Las infecciones por ambos HSV se transmiten fácilmente durante la etapa sintomática. **V**

2- Las re-infecciones por HSV son las que causan complicaciones en la adultez. **F**



3- A partir de la vacunación universal, la frecuencia de infección por ambos virus disminuyó significativamente en todo el mundo **F**

REPLICACIÓN DEL HSV



α = inmediato tempranas

Paralizan el metabolismo celular y bloquean las defensas de la célula hospedadora

β = tempranas

Timidino quinasa (TK), DNA polimerasa

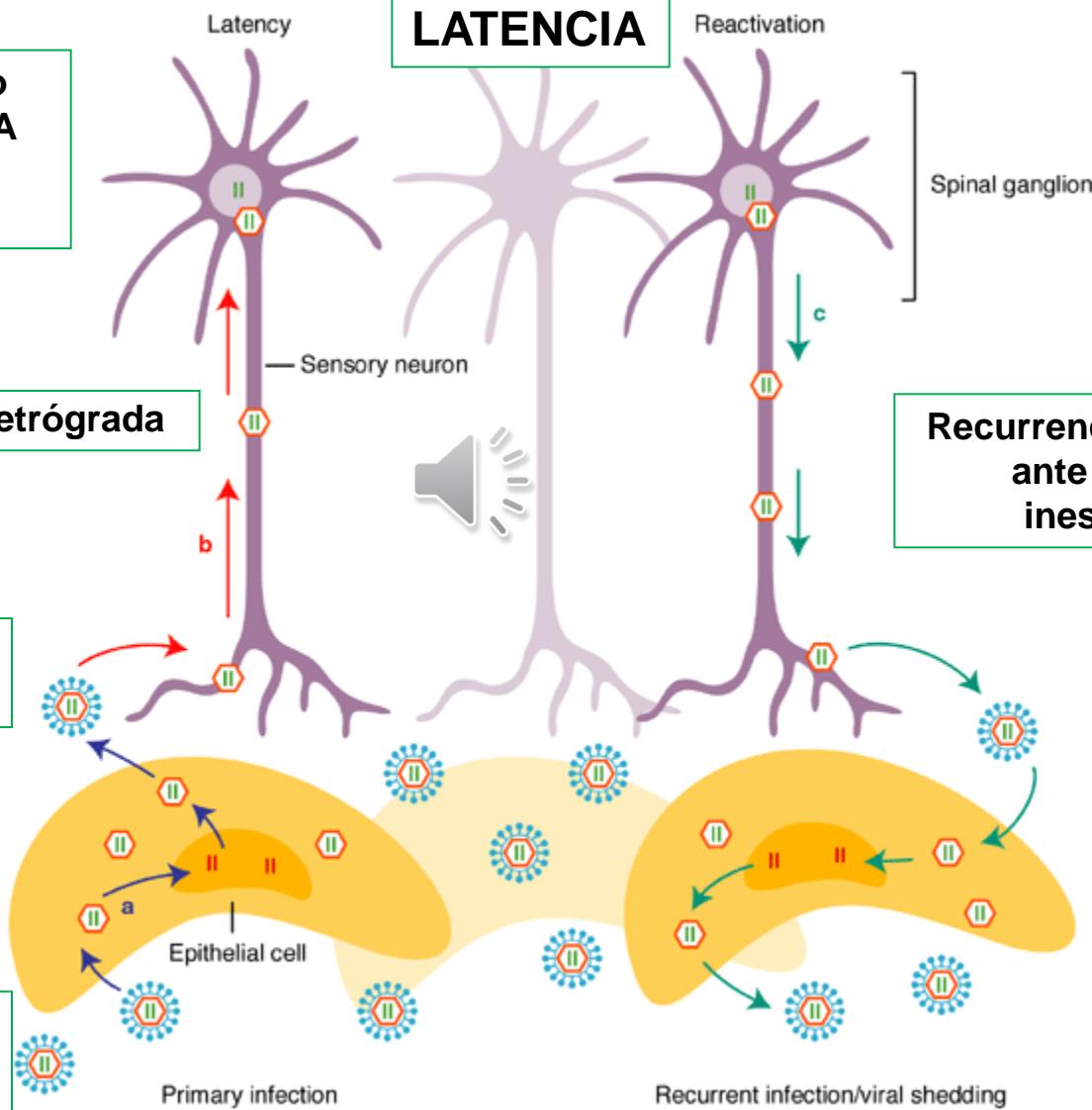
γ = tardías

Proteínas estructurales (cápside, tegumento, envoltura)

PROGRESIÓN DE LA INFECCIÓN

Ubicación en el núcleo neuronal, donde el DNA viral se encuentra en estado episomal

LATENCIA



Progresión intra-axonal retrógrada

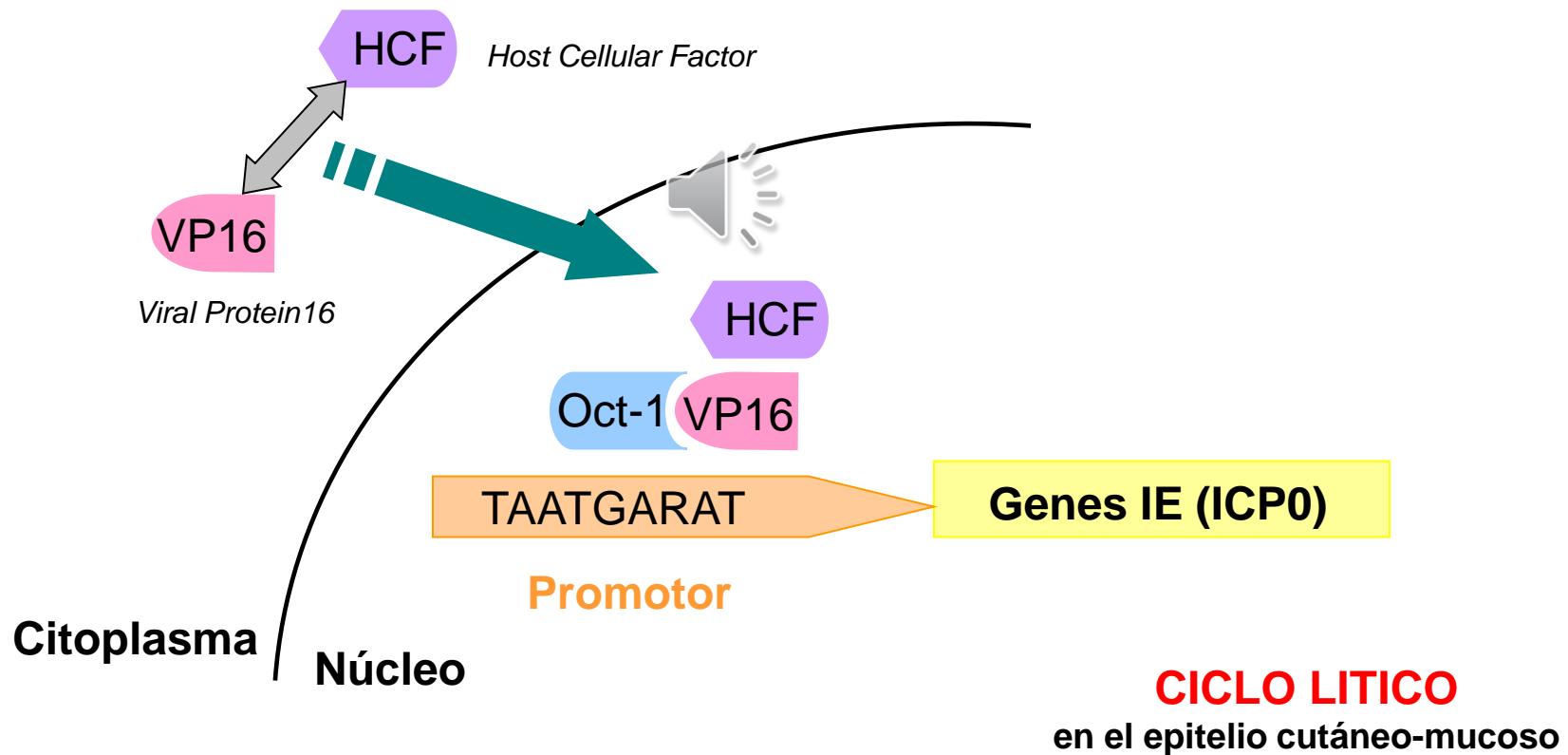
Recurrencias periódicas ante estímulos inespecíficos

Entrada por una terminal de un nervio periférico

Ingreso en la mucosa por microtraumas y replicación en el epitelio

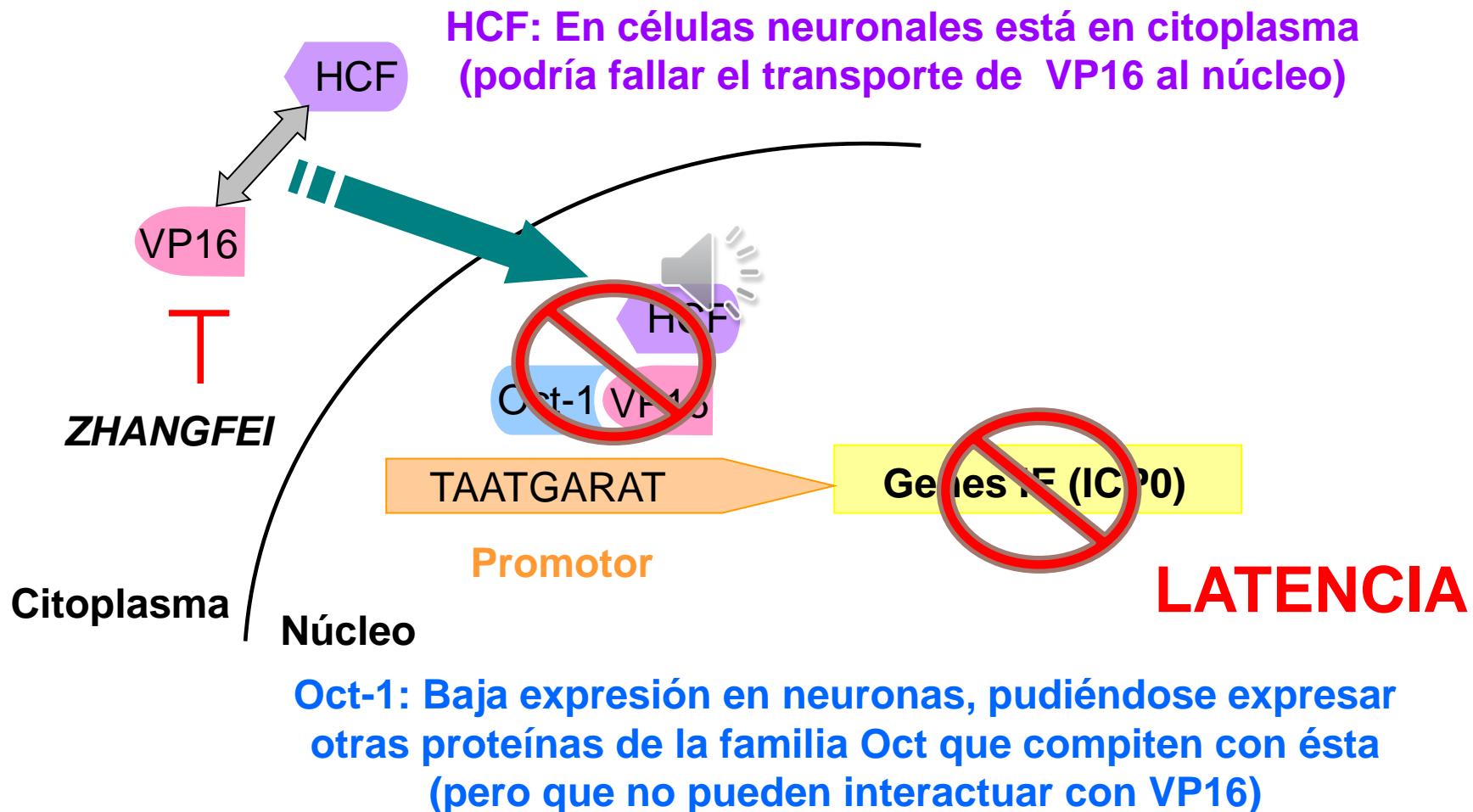
INFECCIÓN PRODUCTIVA-CÉLULA EPITELIAL

VP16 (tegumento): Recluta factores de transcripción celulares y se une a promotores de genes IE → Síntesis de proteínas α (ICP0, ICP4, ICP22, ICP47)



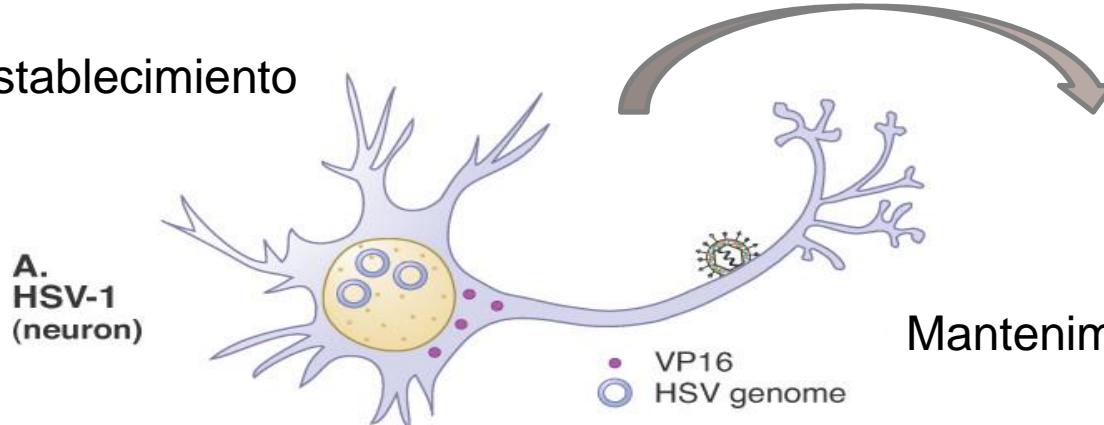
ESTABLECIMIENTO DE LA LATENCIA

VP16 no ingresa al núcleo neuronal

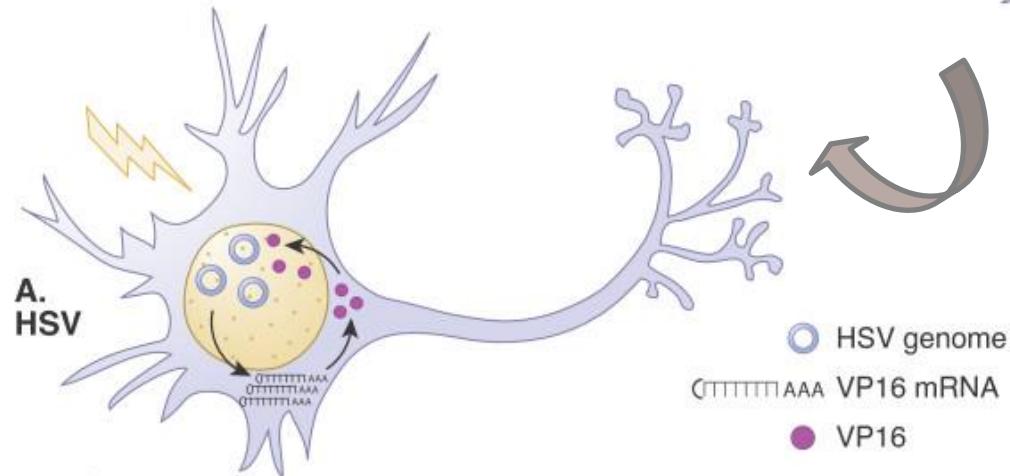


ETAPAS DE LA LATENCIA VIRAL

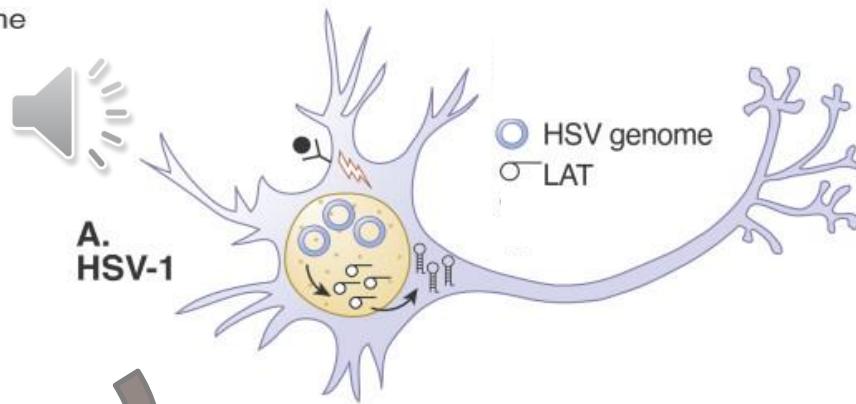
Establecimiento



Reactivación



Mantenimiento



ICP0:

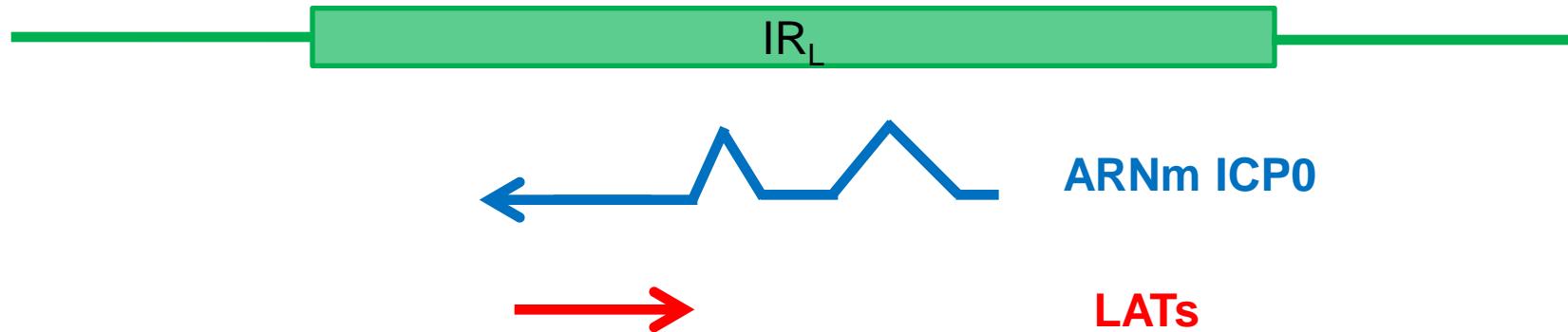
- Favorece la transcripción del genoma
- Induce la degradación de proteínas involucradas en la represión del genoma.

INFECCIÓN LATENTE (NEURONA) MANTENIMIENTO DE LA LATENCIA

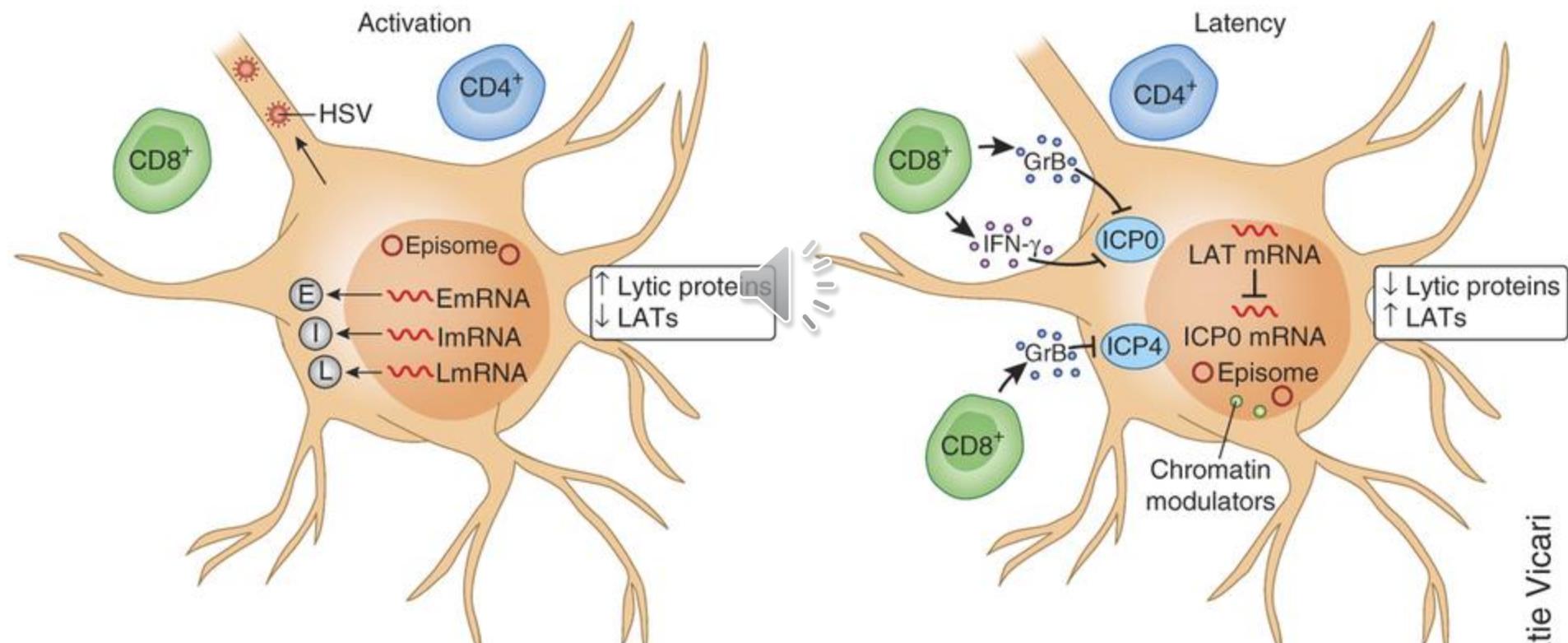
LATs (transcriptos asociados a la latencia):

- no tienen polaridad de mensajero
- no están asociados a neurovirulencia, aunque sí inhiben la apoptosis neuronal.

ICP0: transactivador promiscuo de ~~toda~~ clase de genes del HSV.



ROL DE LA RESPUESTA CELULAR EN LA LATENCIA



VP16 → Genes IE (ICP0, ICP4, ICP22, ICP27, ICP47)

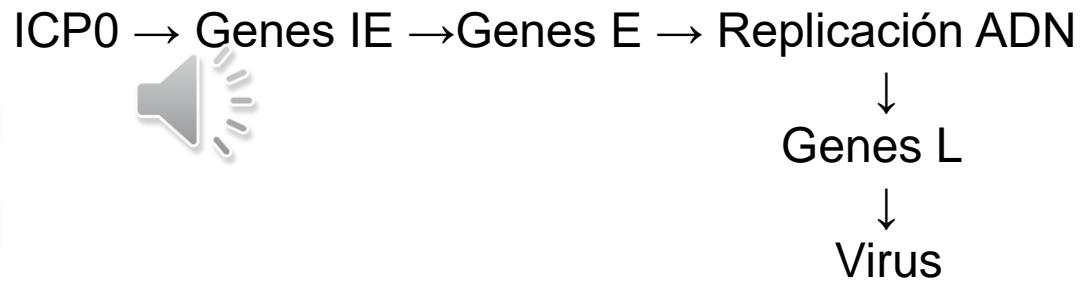
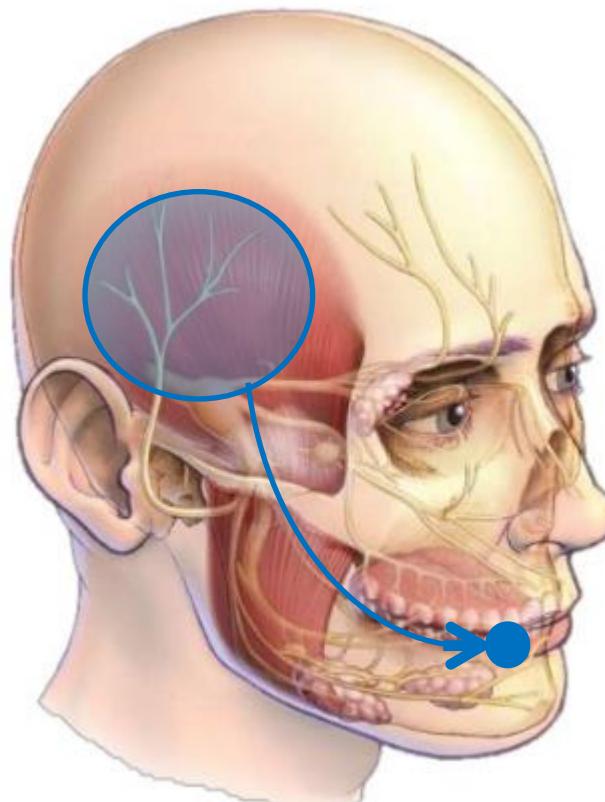
LATs

REACTIVACIÓN DEL HSV-1(I)

Estímulos **inespecíficos** para la recurrencia: radiación solar, *stress*, menstruación, neurectomías, etc.

La inmunodepresión **NO** es un estímulo imprescindible para la reactivación.

NO hay necrosis neuronal en la reactivación



La recurrencia ocurre a veces por los nervios sensoriales y llega a los lóbulos temporales produciendo una encefalitis herpética (causa más frecuente de encefalitis esporádica en adultos inmunocompetentes)

¿VERDADERO O FALSO?

1- En el núcleo de la neurona, el DNA viral permanece en forma episomal, entrando en latencia. **V**

2- La síntesis de proteínas virales en células epiteliales es en etapas temporal y funcionalmente diferentes. **V**



3- Los LATs, expresados en células epiteliales, inhiben la apoptosis de éstas células durante los períodos de latencia **F**