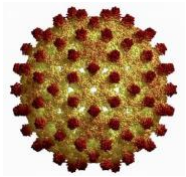


Departamento de Microbiología, Parasitología e Inmunología

## Microbiología I

Cátedra 1. Microbiología y Parasitología

Área de Virología

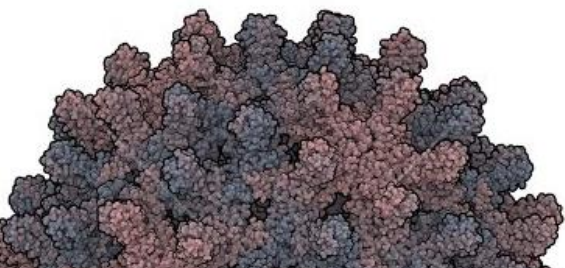


## Seminario 14

# MODELOS DE INFECCIONES PERSISTENTES

Virus hepatitis B

Virus herpes *simplex*



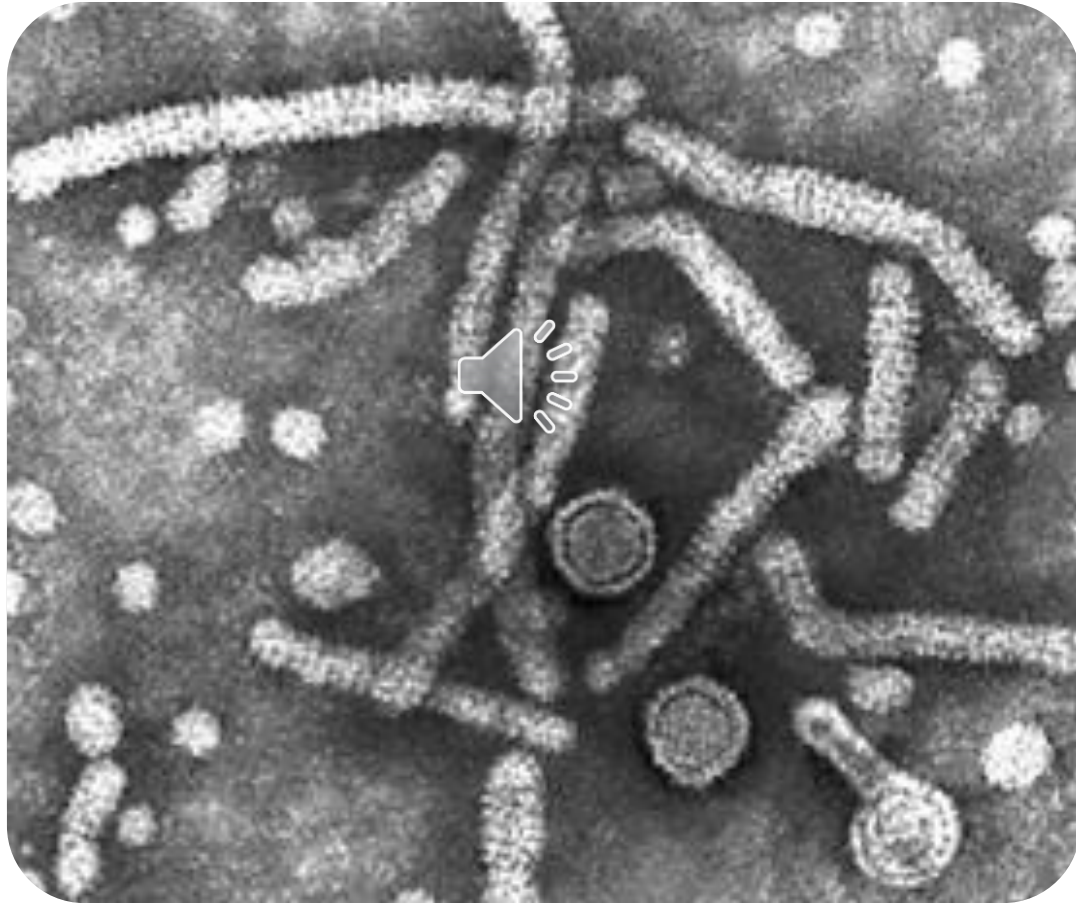
# OBJETIVOS

---

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



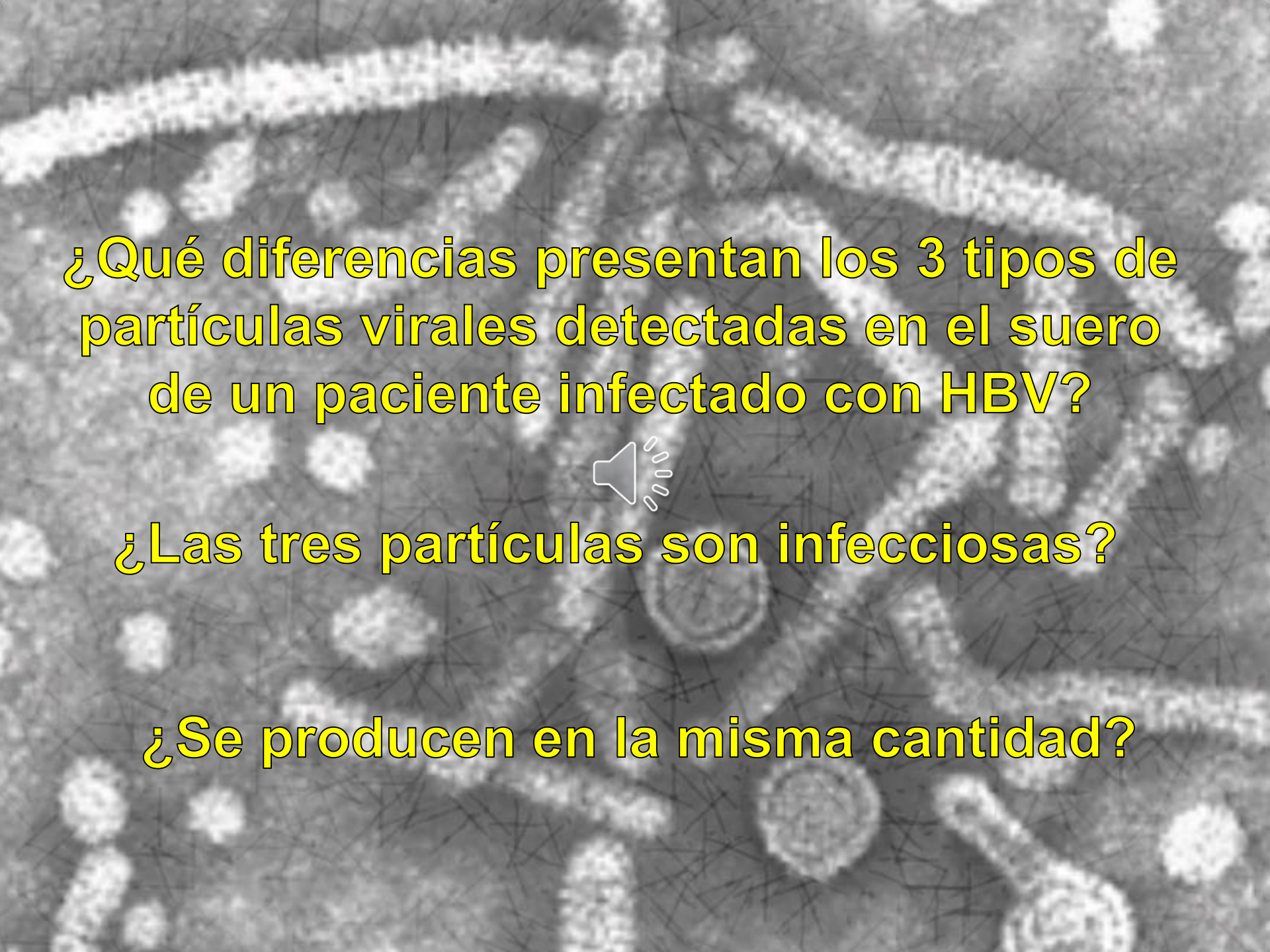
*Horizontal*  
**Sexual**  
**Parenteral**



*Vertical*  
**Perinatal**  
**Congénita**





A black and white electron micrograph showing numerous spherical and filamentous virus particles. The spherical particles have a distinct outer shell and a darker core. The filamentous particles are long and thin, with some showing a beaded appearance.

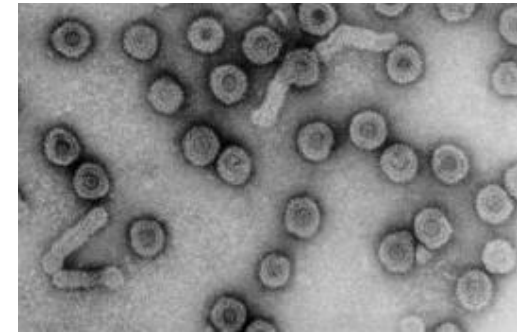
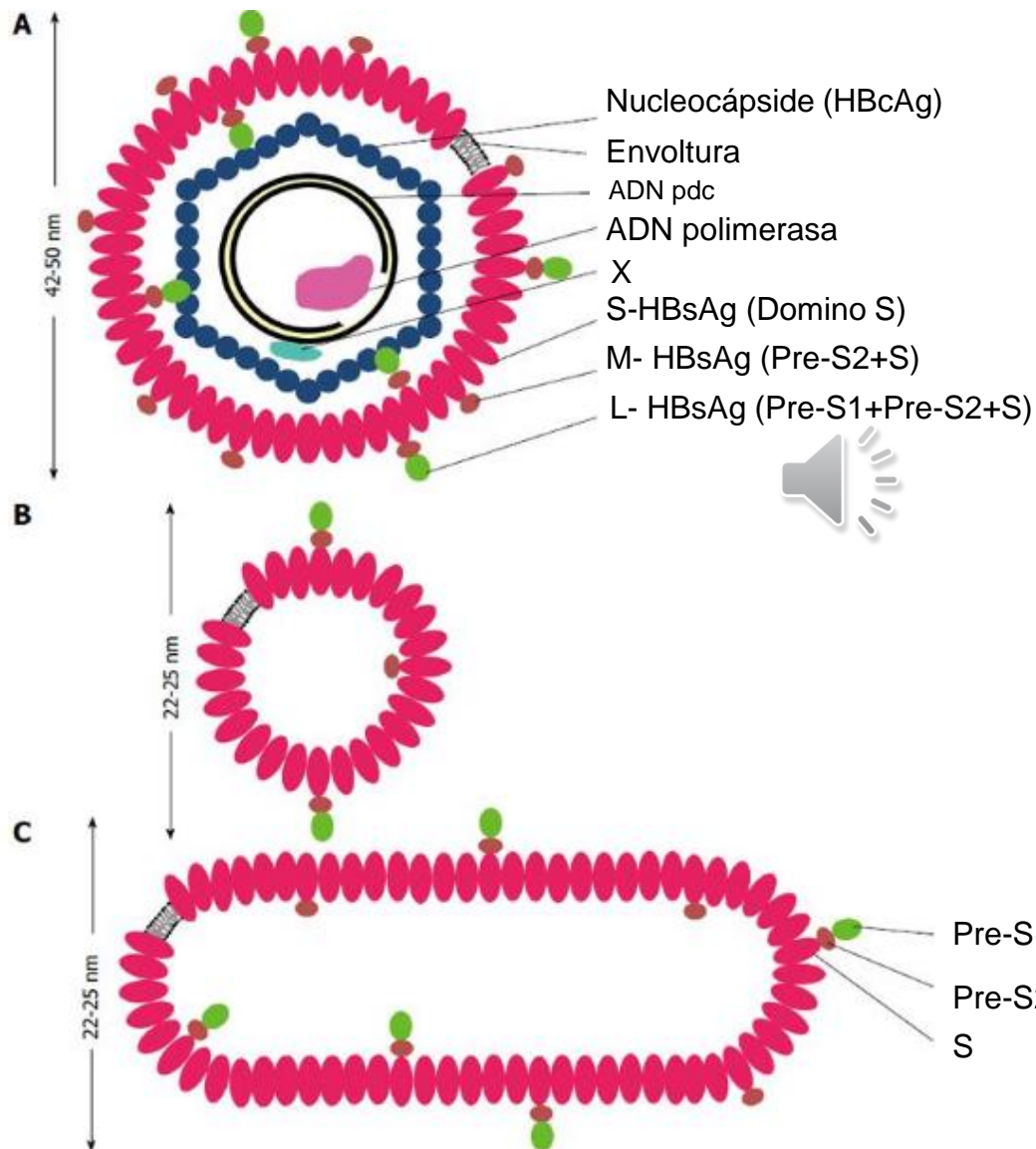
¿Qué diferencias presentan los 3 tipos de partículas virales detectadas en el suero de un paciente infectado con HBV?



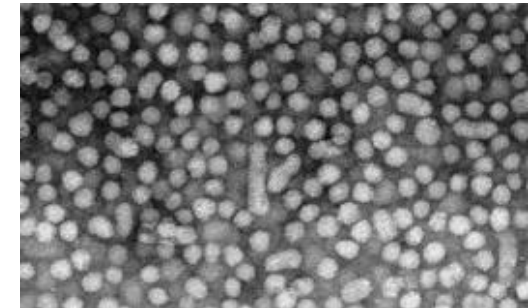
¿Las tres partículas son infecciosas?

¿Se producen en la misma cantidad?

# ESTRUCTURA DE LA PARTÍCULA VIRAL



**Partículas de Dane**

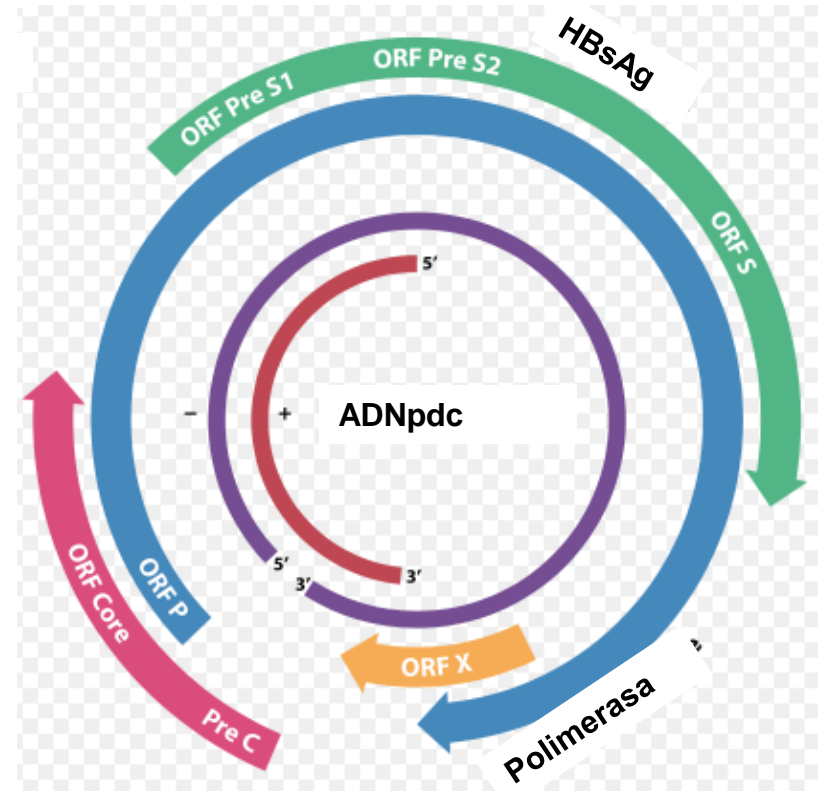
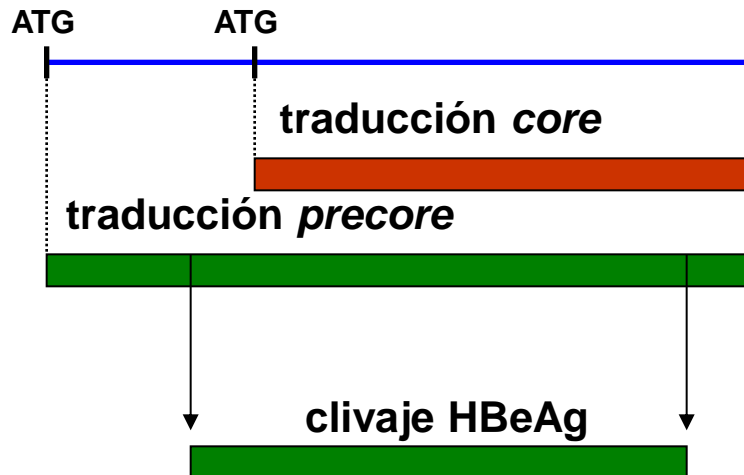
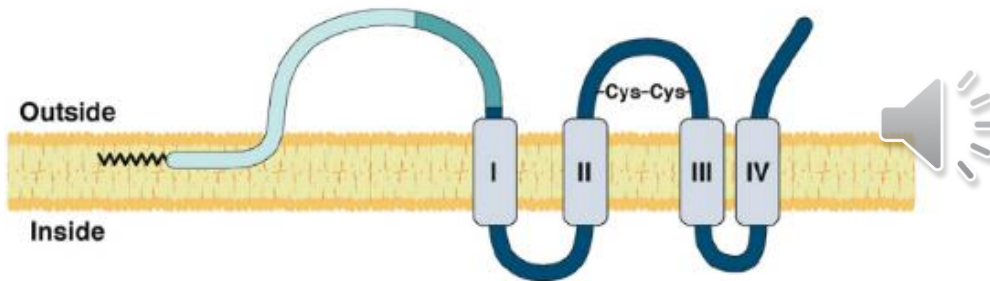
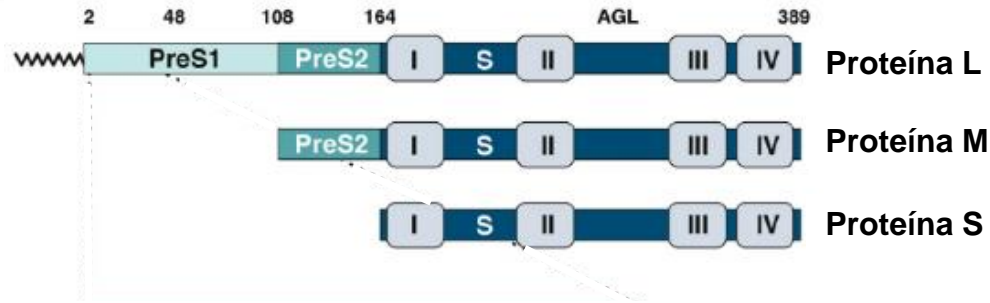


**Partículas esféricas**



**Partículas filamentosas**

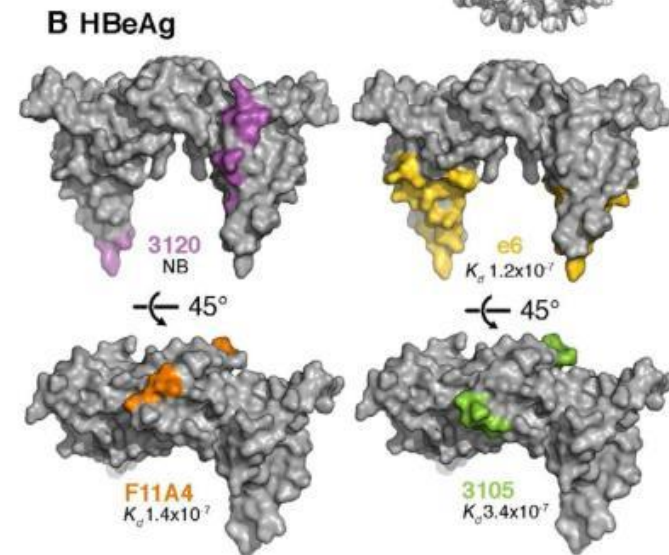
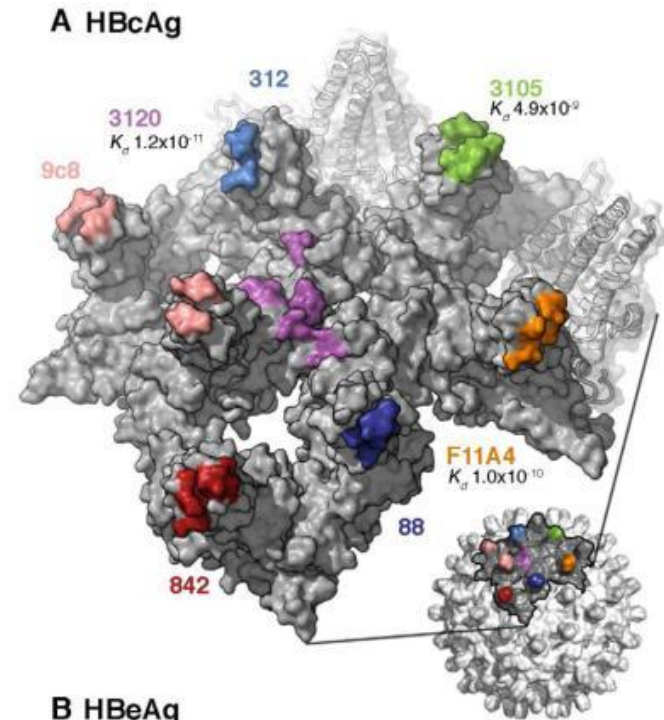
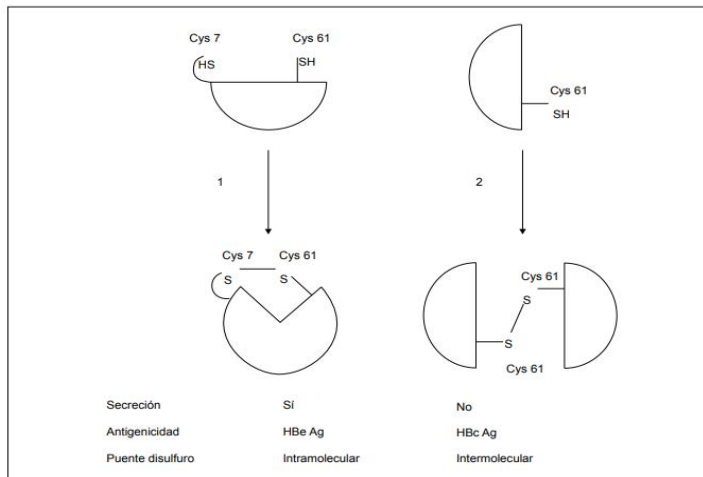
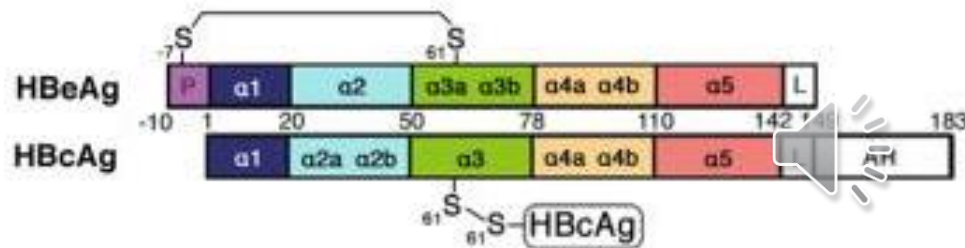
# ESTRUCTURA DEL GENOMA DE HBV



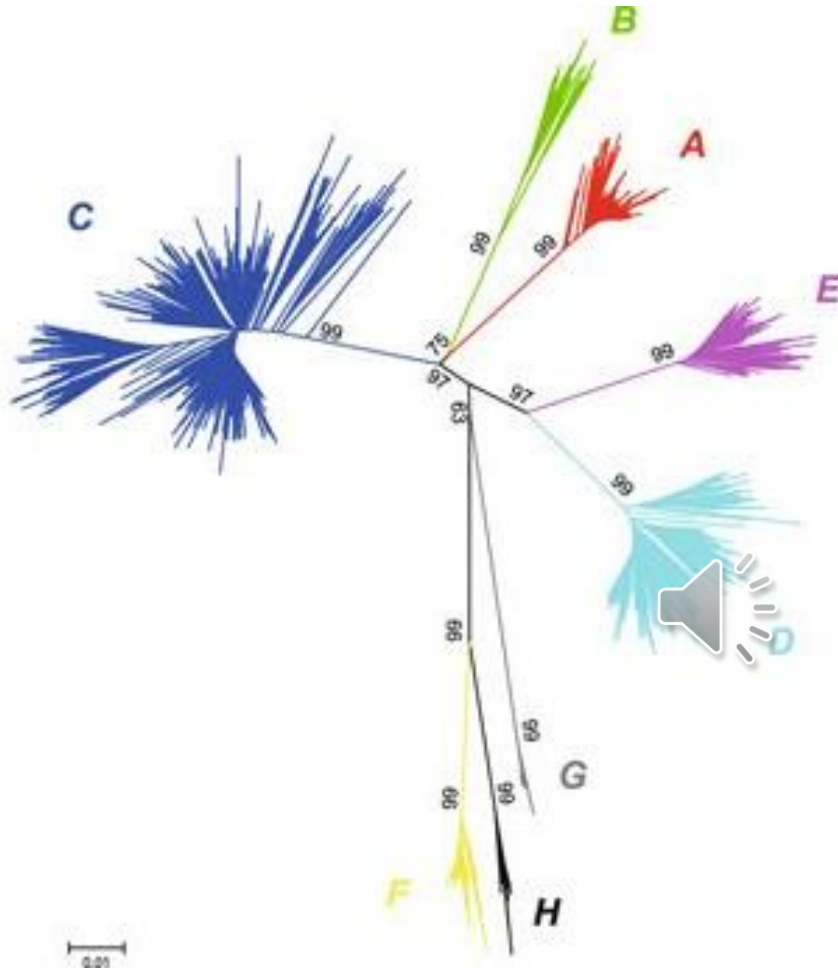


Si HBcAg y HBeAg comparten el 77% de su secuencia aminoacídica.....

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





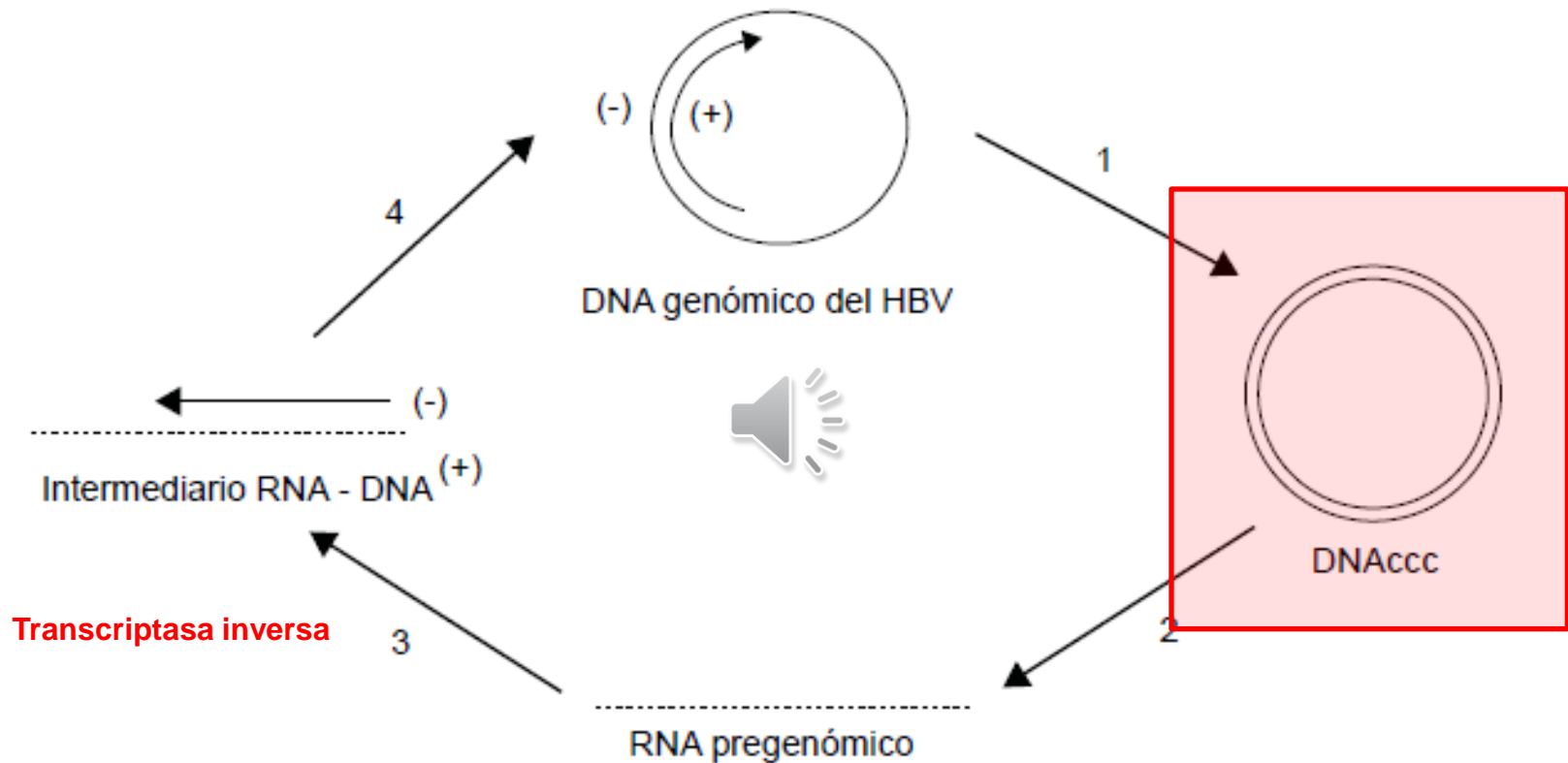


## Diversidad genética

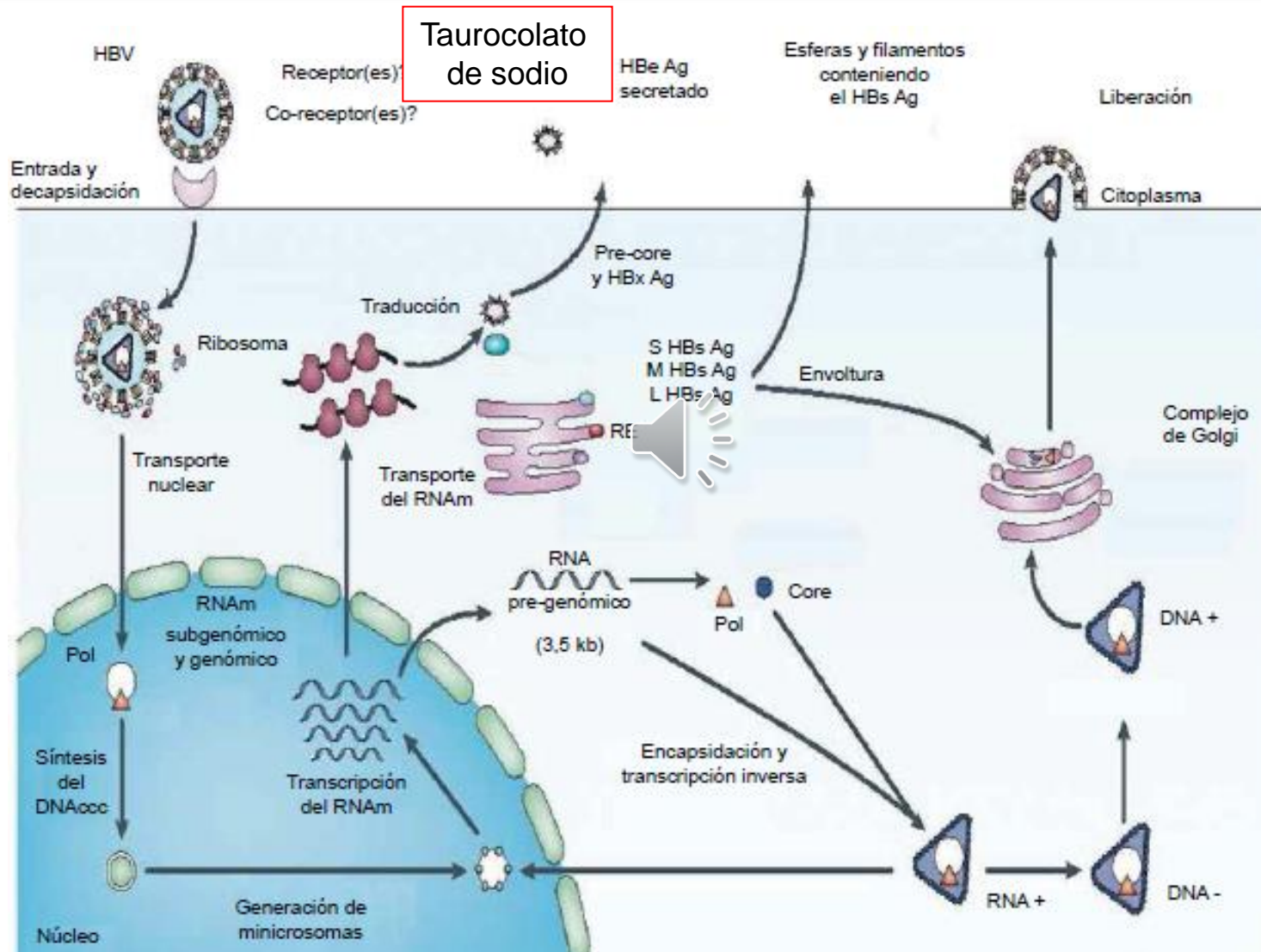
- ✓ Genotipos
- ✓ Subgenotipos
- ✓ Cuasiespecies
- ✓ Recombinantes
- ✓ Mutantes

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

# TIPO DE INFECCIÓN POR HBV

## RECIÉN NACIDOS

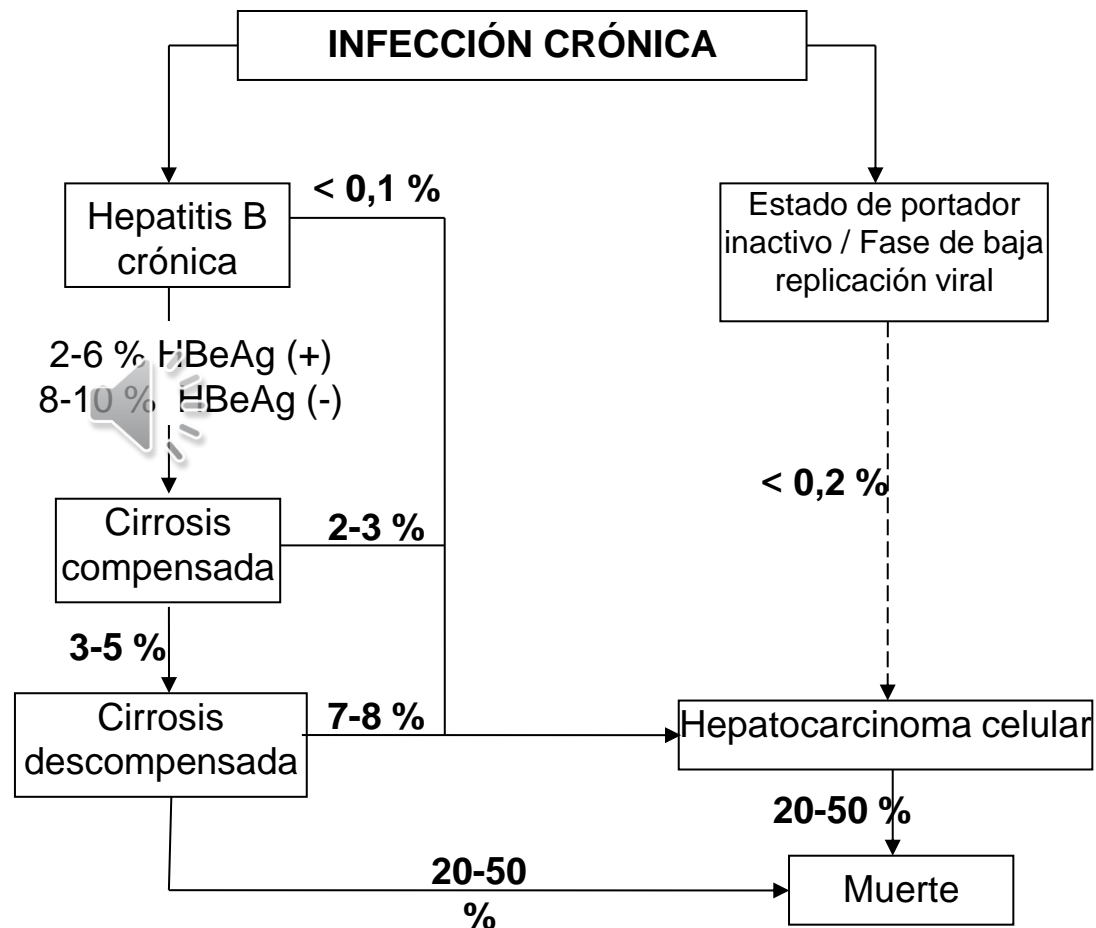
Aguda  
(2%)

Crónica  
(~98%)

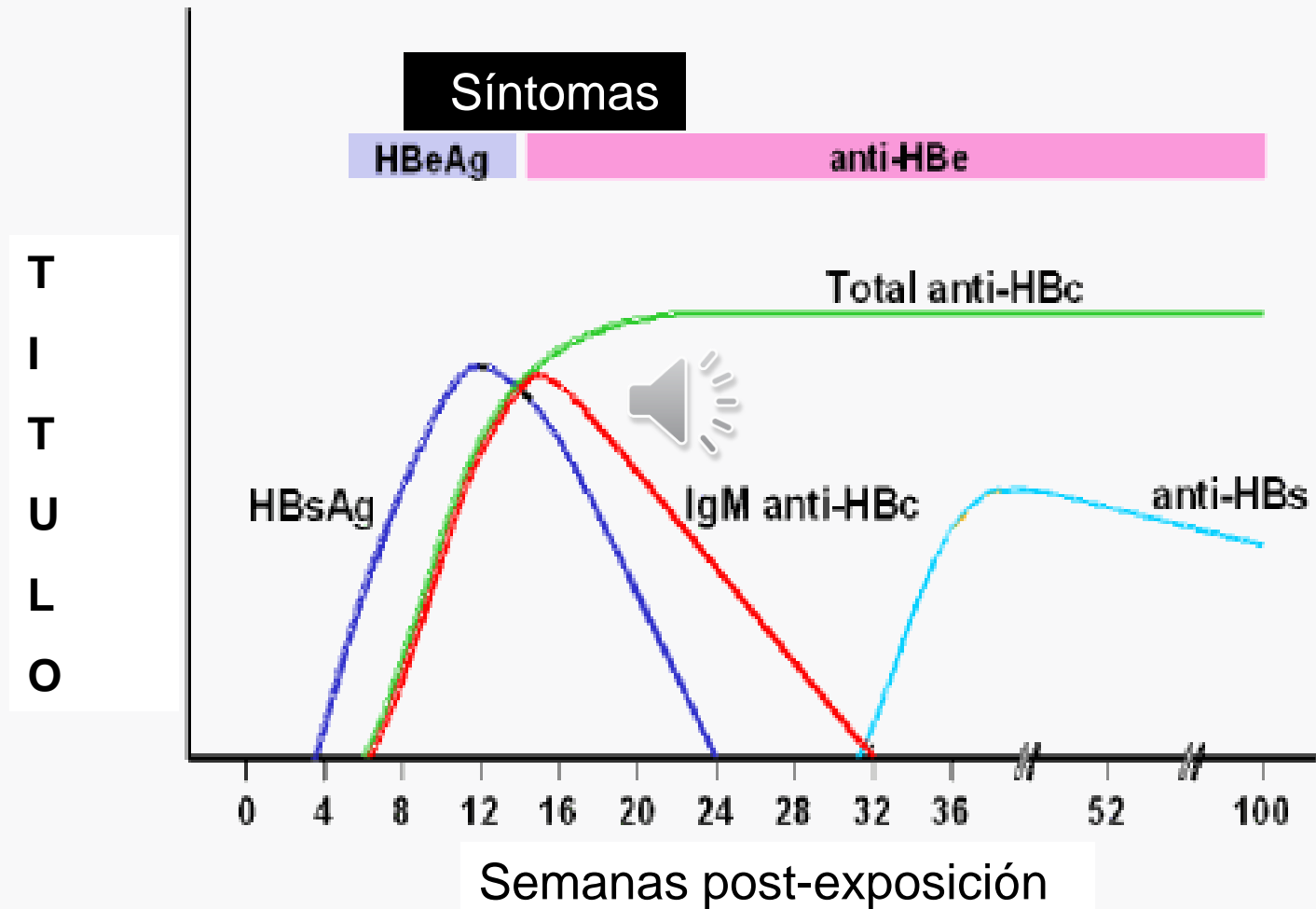
## ADULTOS

Aguda  
(90-99%)

Crónica  
(1-10%)

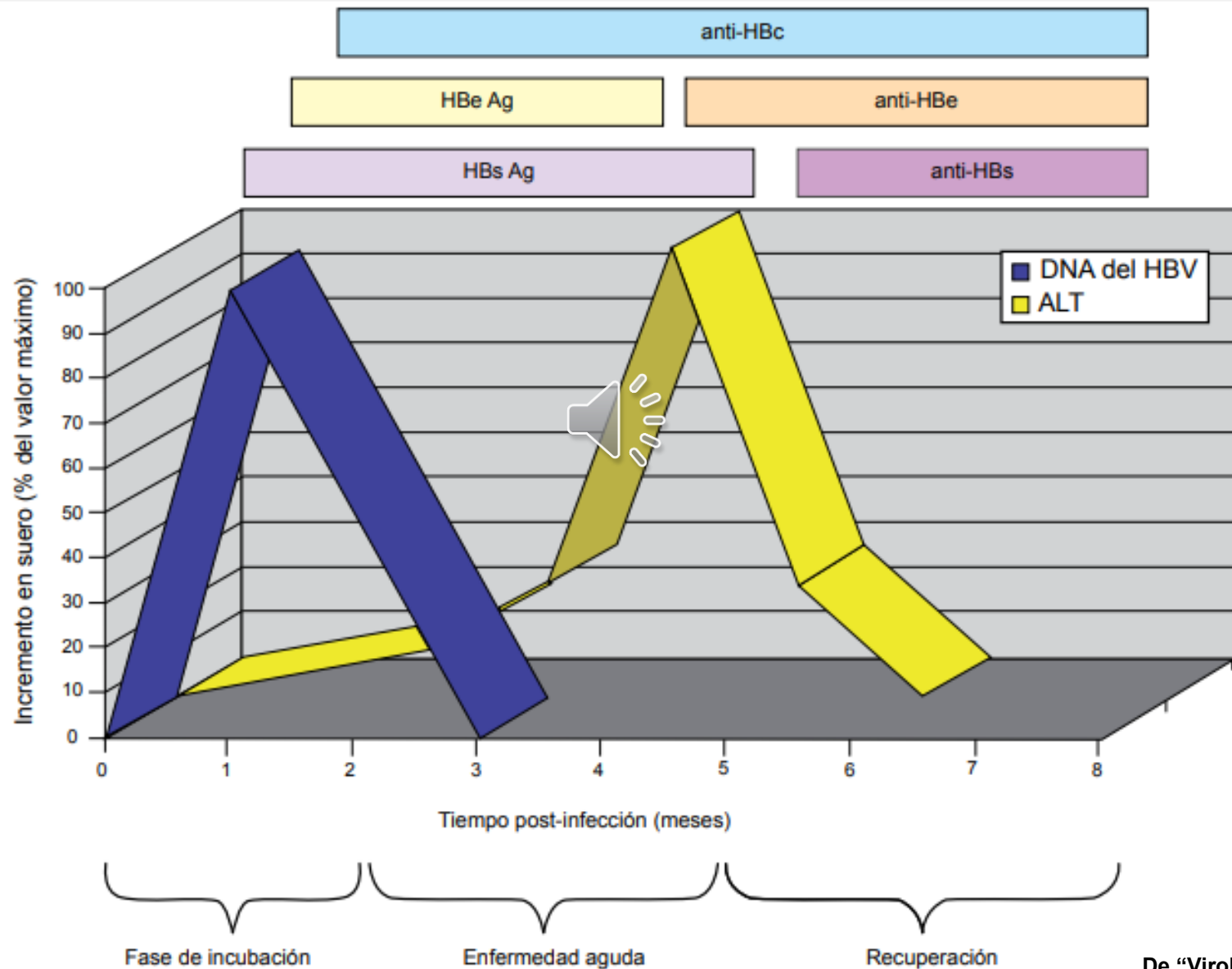


# INFECCIÓN AGUDA POR HBV (I)



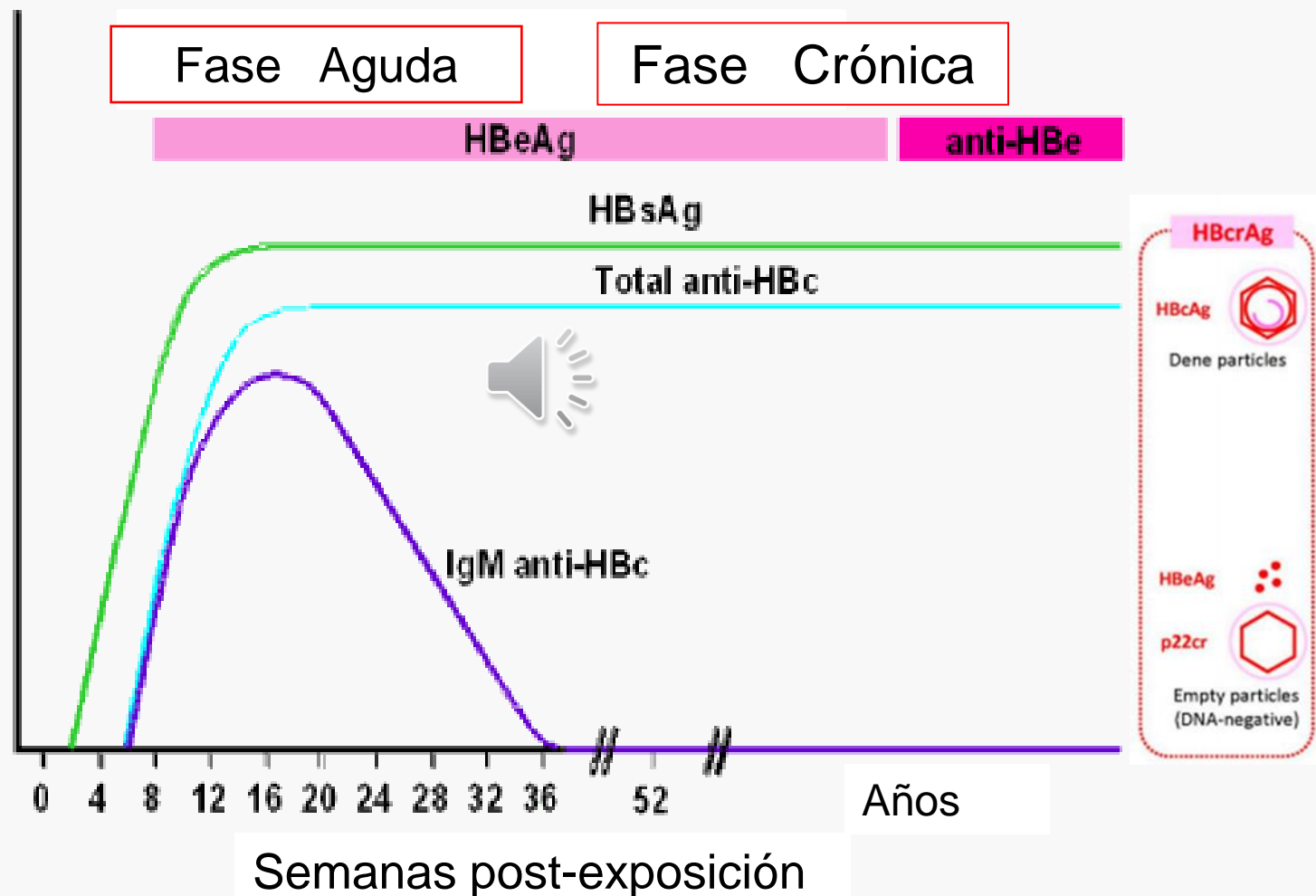


# INFECCIÓN AGUDA POR HBV (II)

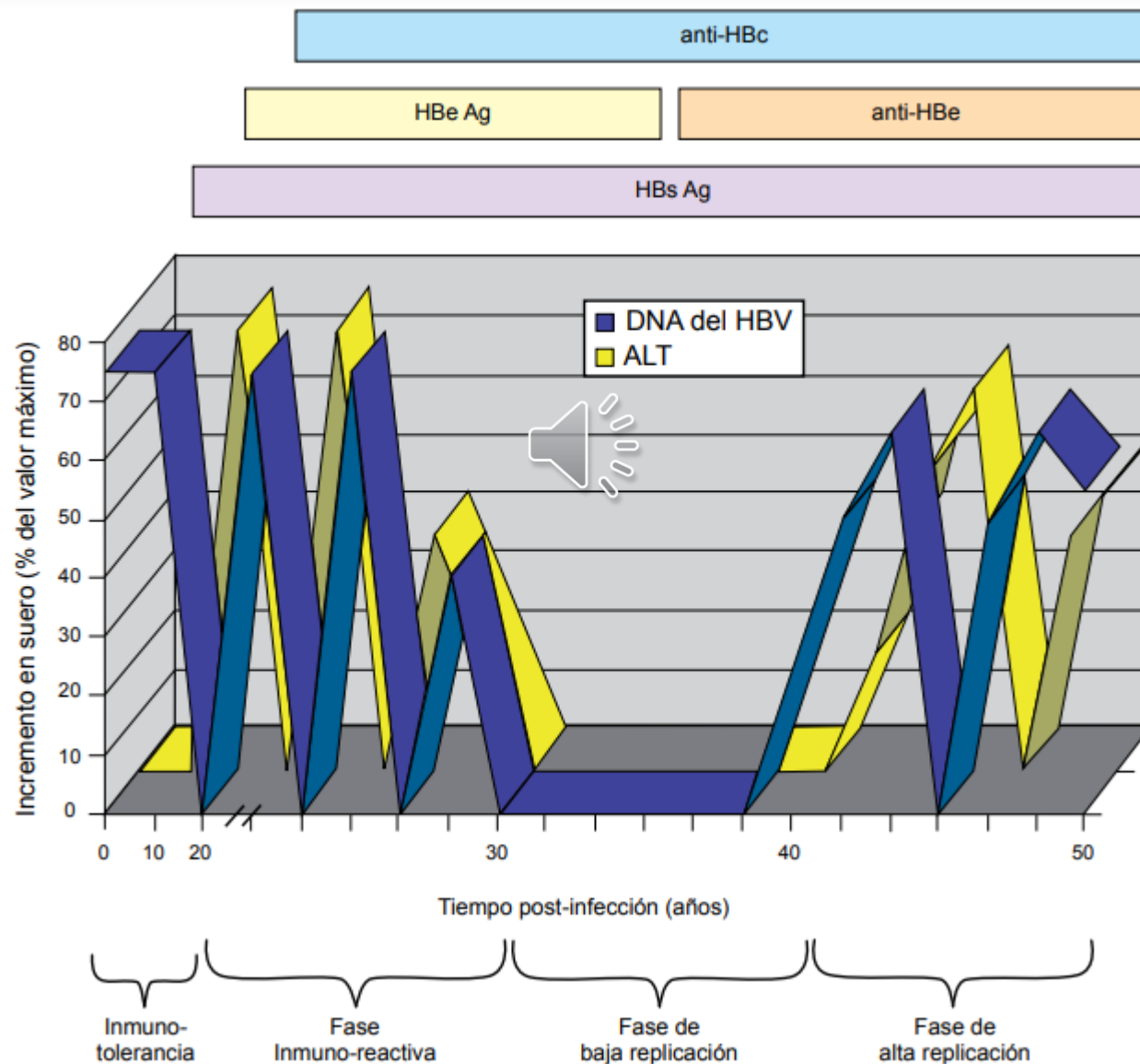


# INFECCIÓN CRÓNICA POR HBV (I)

TÍTULO



# 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?**

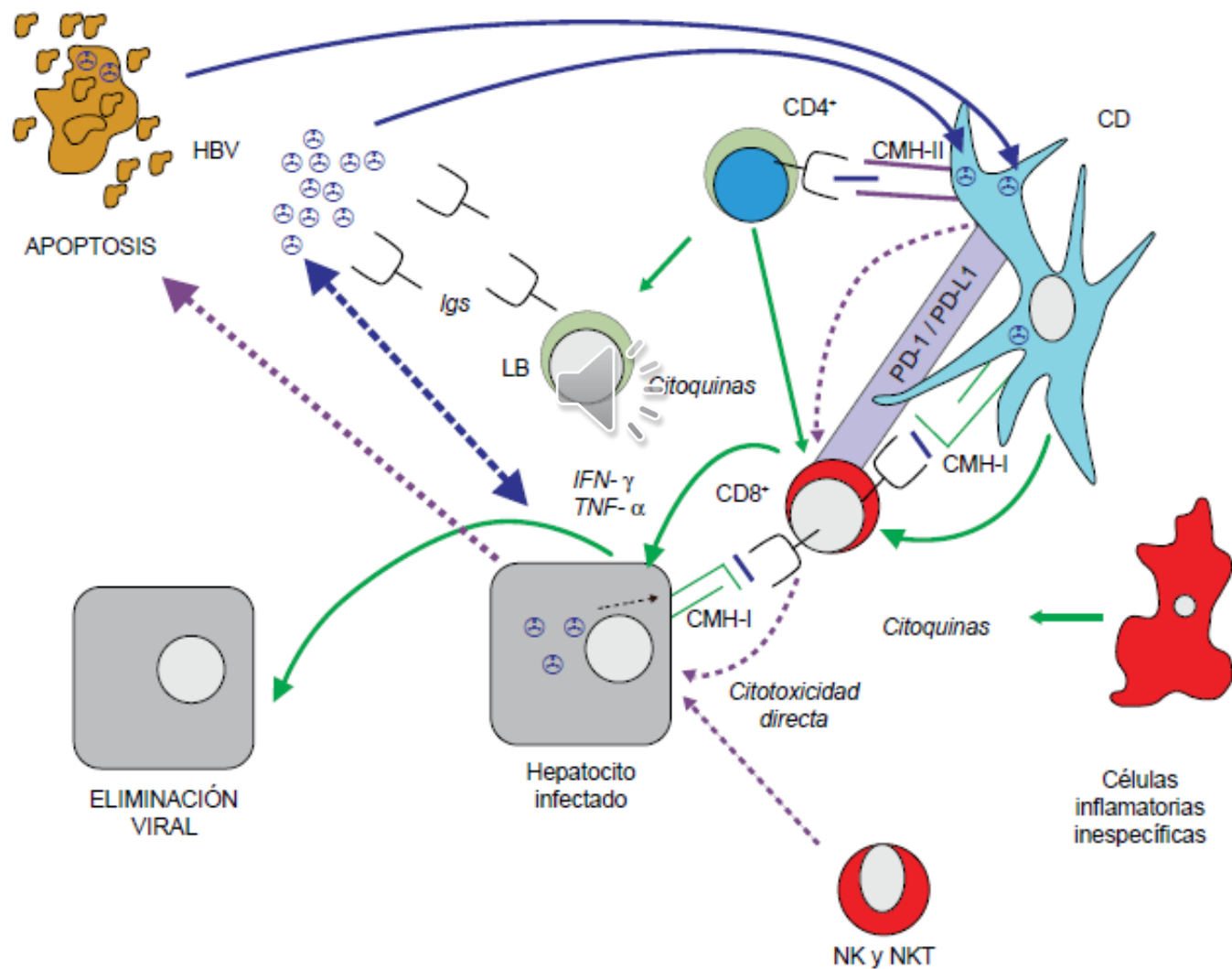


Bajos niveles de HBs Ag para ser detectados en suero mediante los EIE convencionales.

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

La presencia de inmunocomplejos

# INMUNOPATOGENÉESIS

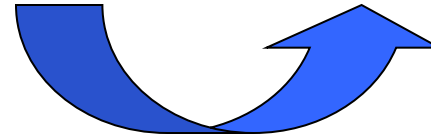
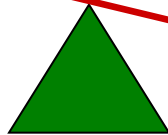


# RESPUESTA INMUNE ANTIVIRAL

DEBIL  
OLIGOCLONAL

VIGOROSA  
POLICLONAL  
MULTIESPECÍFICA

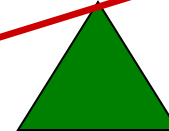
AGUDA



PERSISTENCIA

VIGOROSA  
POLICLONAL  
MULTIESPECÍFICA

DEBIL  
OLIGOCLONAL



# DETERMINANTES VIRALES QUE FAVORECEN LA PERSISTENCIA

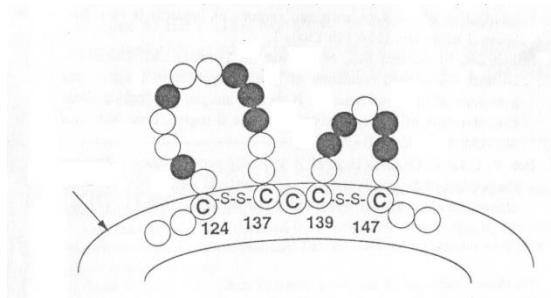
---

## 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 (linfo-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**

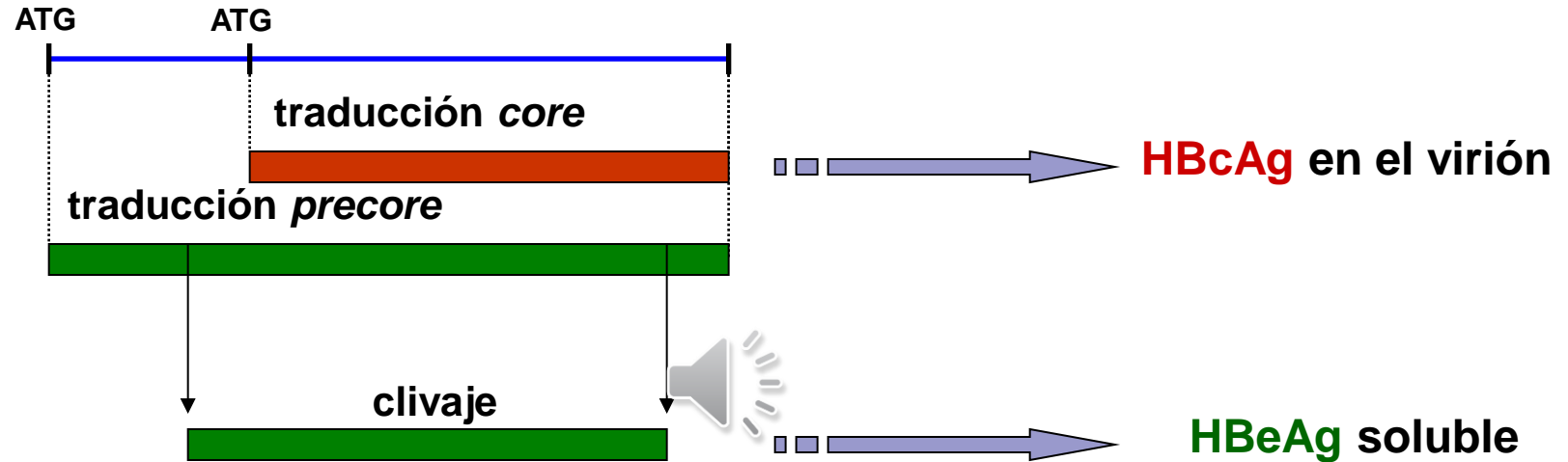


**ESCAPE A LA  
RESPUESTA INMUNE  
CELULAR**

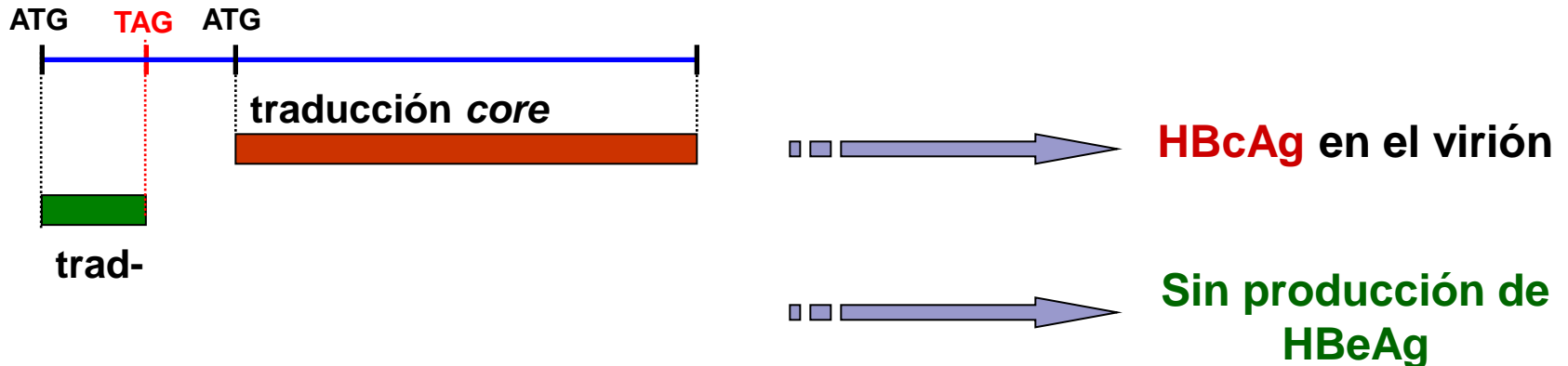


# DETERMINANTES VIRALES QUE FAVORECEN LA PERSISTENCIA

## HBV con síntesis de HBeAg

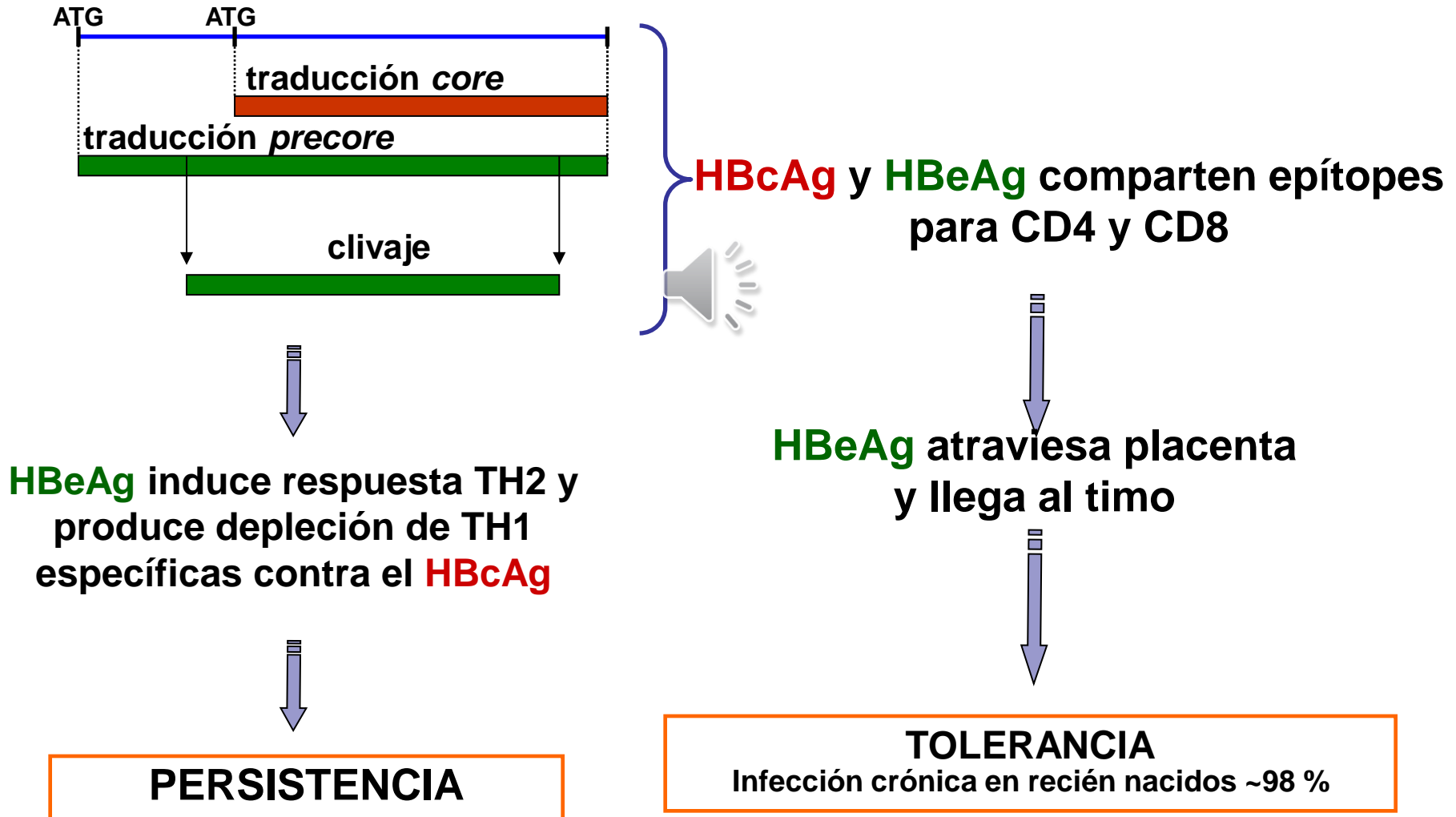


## Mutantes de precore sin síntesis de HBeAg

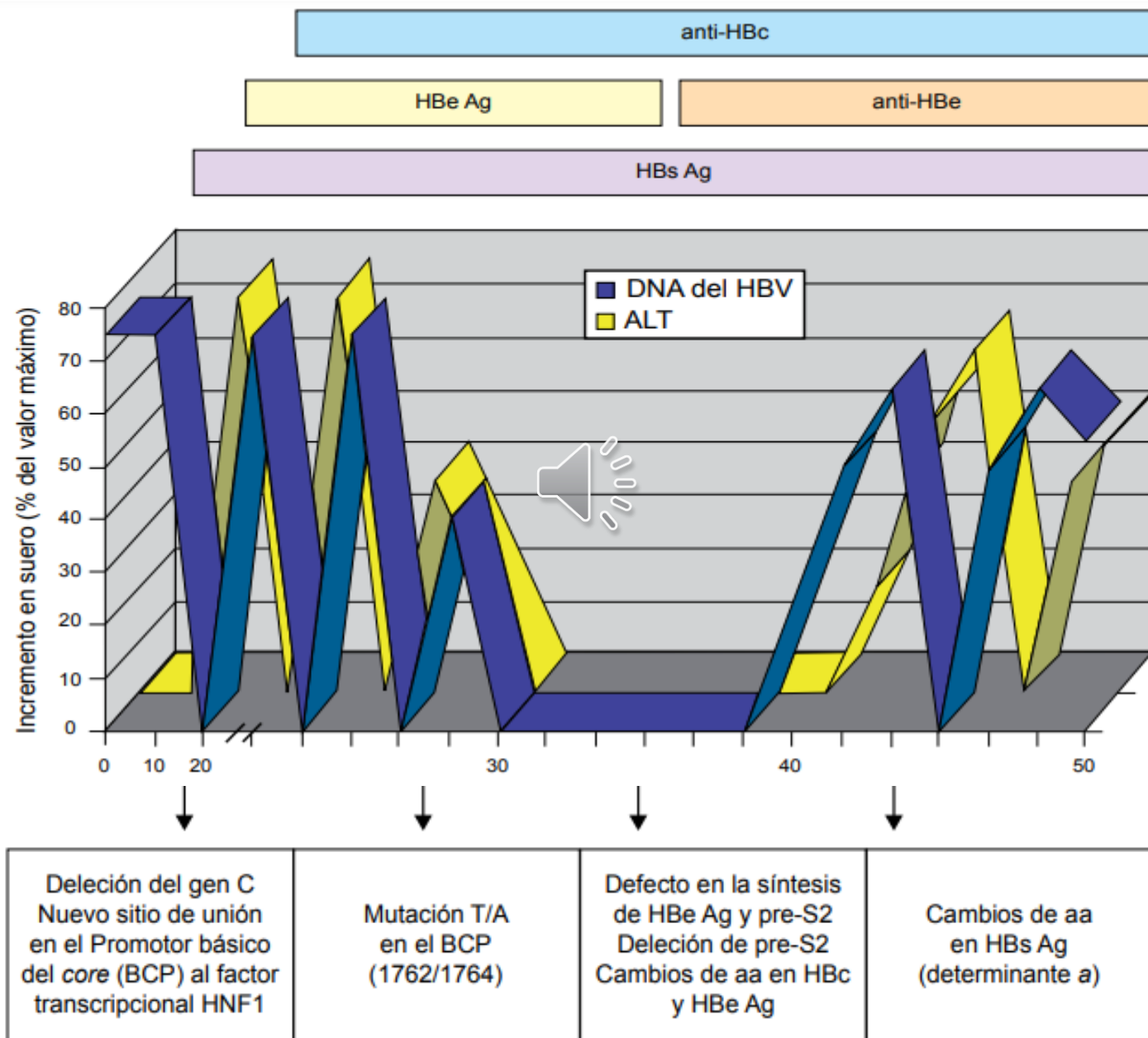


# DETERMINANTES VIRALES

## HBV CON SINTESIS DE HBeAg



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

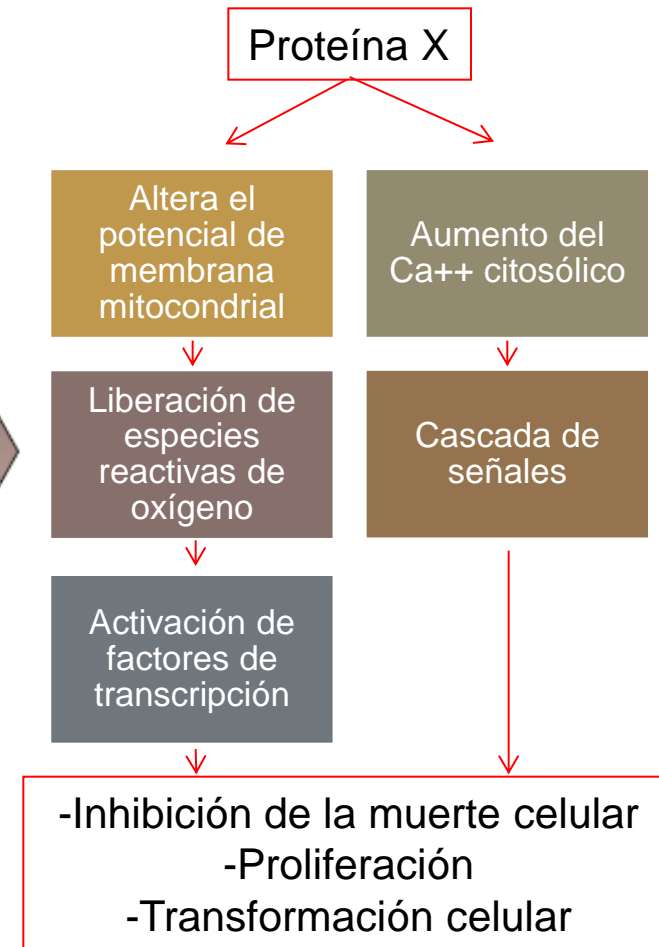
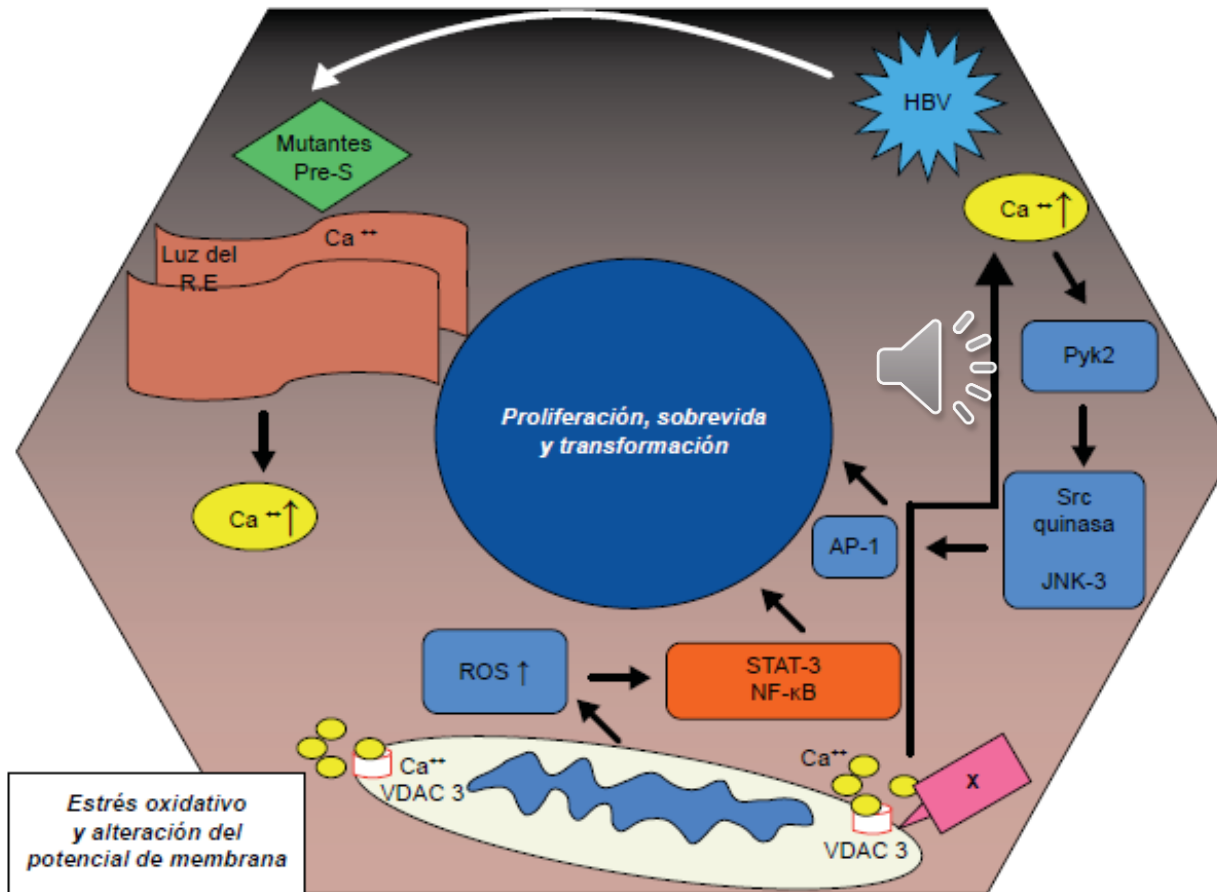


# PATOGENÉISIS DEL CHC

---

¿Qué proteínas del HBV  
  
favorecen la generación del CHC?

# PATOGENESIS 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"><li>• Edad avanzada</li><li>• Sexo masculino</li><li>• Estado inmune</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>• Alta tasa de replicación viral</li><li>• Genotipo (C &gt; B; F)</li><li>• Variantes del HBV (mutaciones en el promotor basal del <i>core</i>)</li><li>• F progresión frecuente a fibrosis</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>• Co-infección con HDV, HIV o HCV</li><li>• Consumo de alcohol</li><li>• Diabetes <i>mellitus</i></li><li>• Obesidad</li></ul>

## Factores asociados con riesgo aumentado de **progresión al CHC**

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

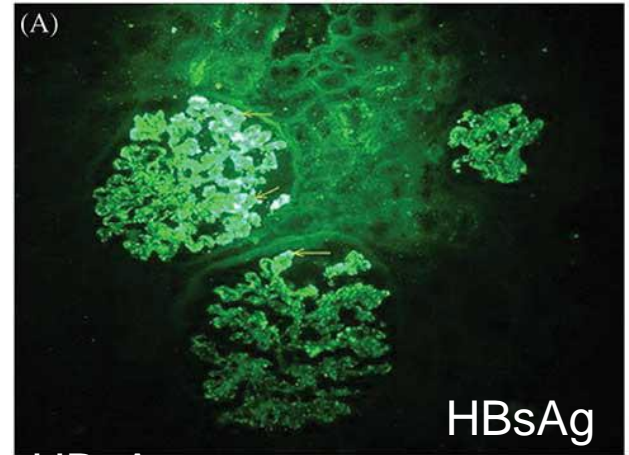
# PATOGENÉISIS DE LAS MANIFESTACIONES EXTRA-HEPÁTICAS

## 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

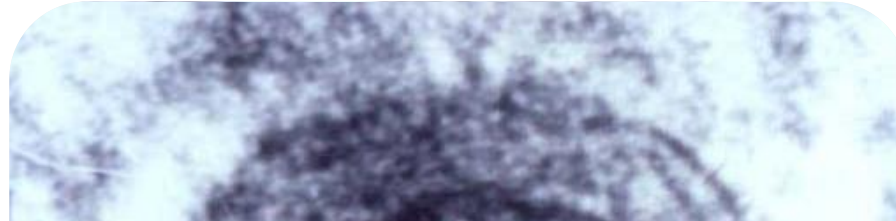


Vasculitis y poliarteritis nodosa

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*

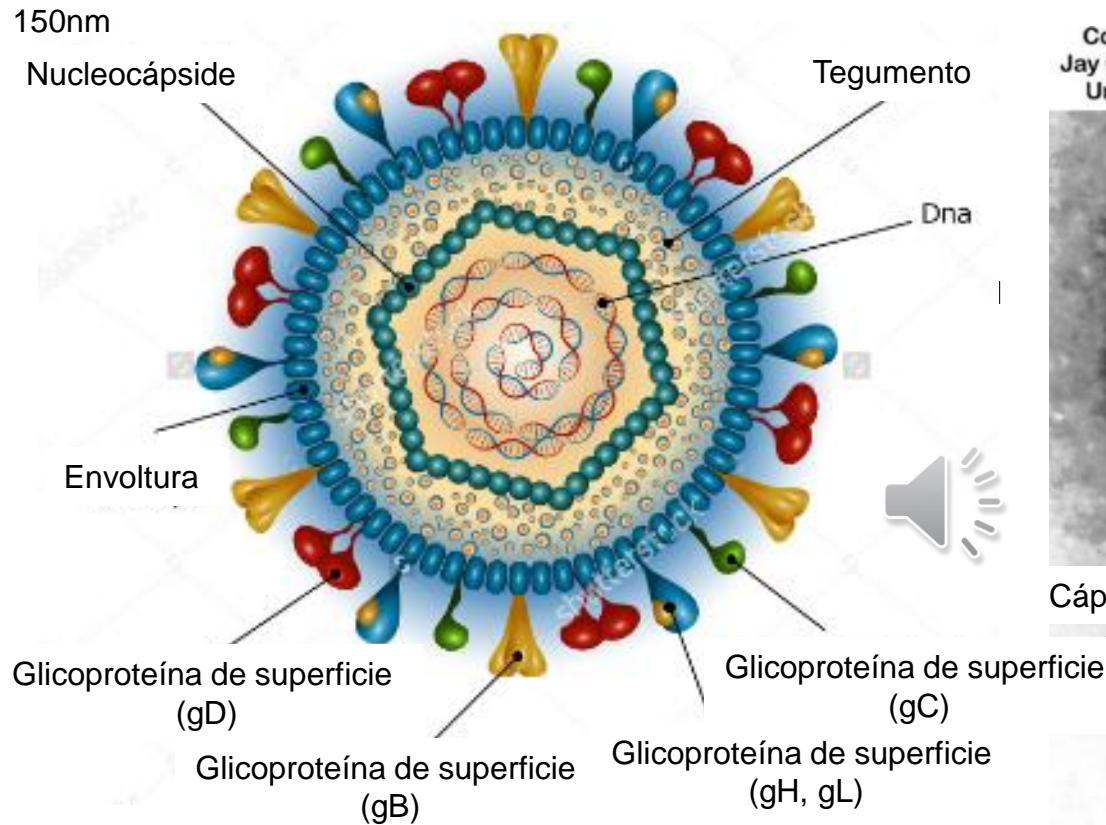
Sub-familia	Virus	Células blanco de la replicación productiva	Células blanco de la latencia
$\alpha$	HSV-1	Epitelial, queratinocito	Neurona
	HSV-2	Epitelial, queratinocito	Neurona
	VZV	Epitelial, queratinocito, linfocito T, monocito, endotelial, Langerhans	Neurona
$\beta$	HCMV	Macrófago, dendrítica, 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
$\gamma$	EBV	Linfocitos B, epitelial	Linfocito B
	HHV-8	Linfocitos	Linfocitos B

# FAMILIA *HERPESVIRIDAE*

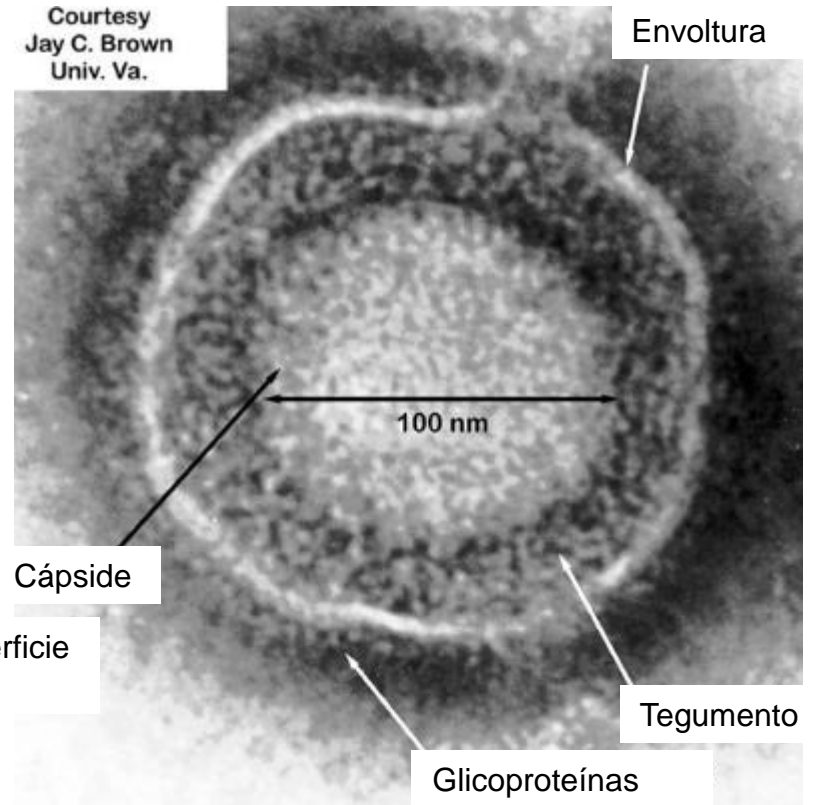
SIMILITUDES	DIFERENCIAS
Morfología: ME (cápside, tegumento, envoltura)	Enfermedades producidas
Estructura: grandes, envueltos, genoma DNA de doble cadena y extenso.	Células blanco de infección productiva vs las de infección latente
<b>Propiedades biológicas:</b> DNA polimerasa viral, Síntesis DNA y ensamblado en núcleo Latencia Alteración de la respuesta inmune	Infección productiva → lisis celular ( $\alpha$ ) vs efectos no líticos (en otros)
Infecciones líticas, persistentes latentes y –eventualmente, los $\gamma$ - 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

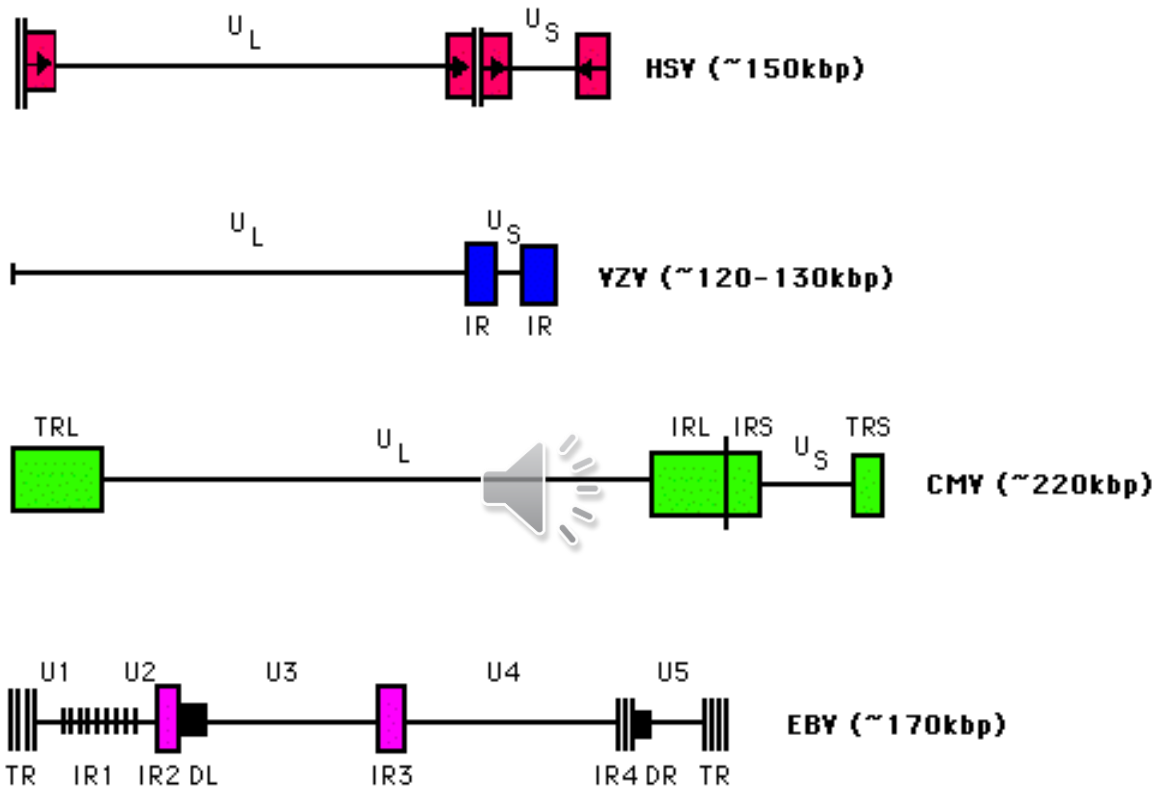


Courtesy  
Jay C. Brown  
Univ. Va.



- **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

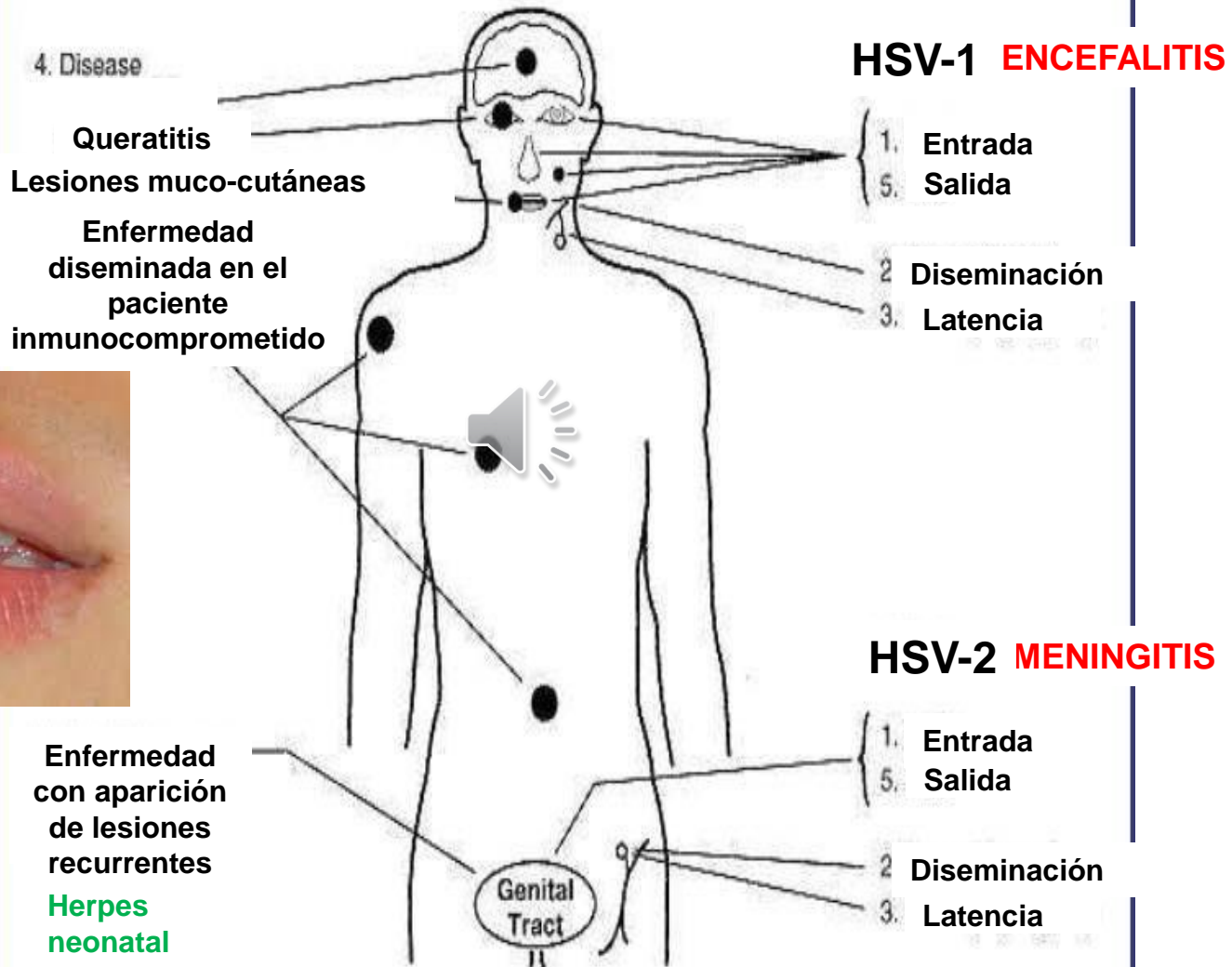
- Contacto sexual

Neonato:

- Paso por el canal de parto



# VIRUS HERPES SIMPLEX



Medical Microbiology. 4th edition.

Baron S. Galveston (TX): University of Texas Medical Branch at Galveston; 1996.



# PATOGENESIS DEL HSV

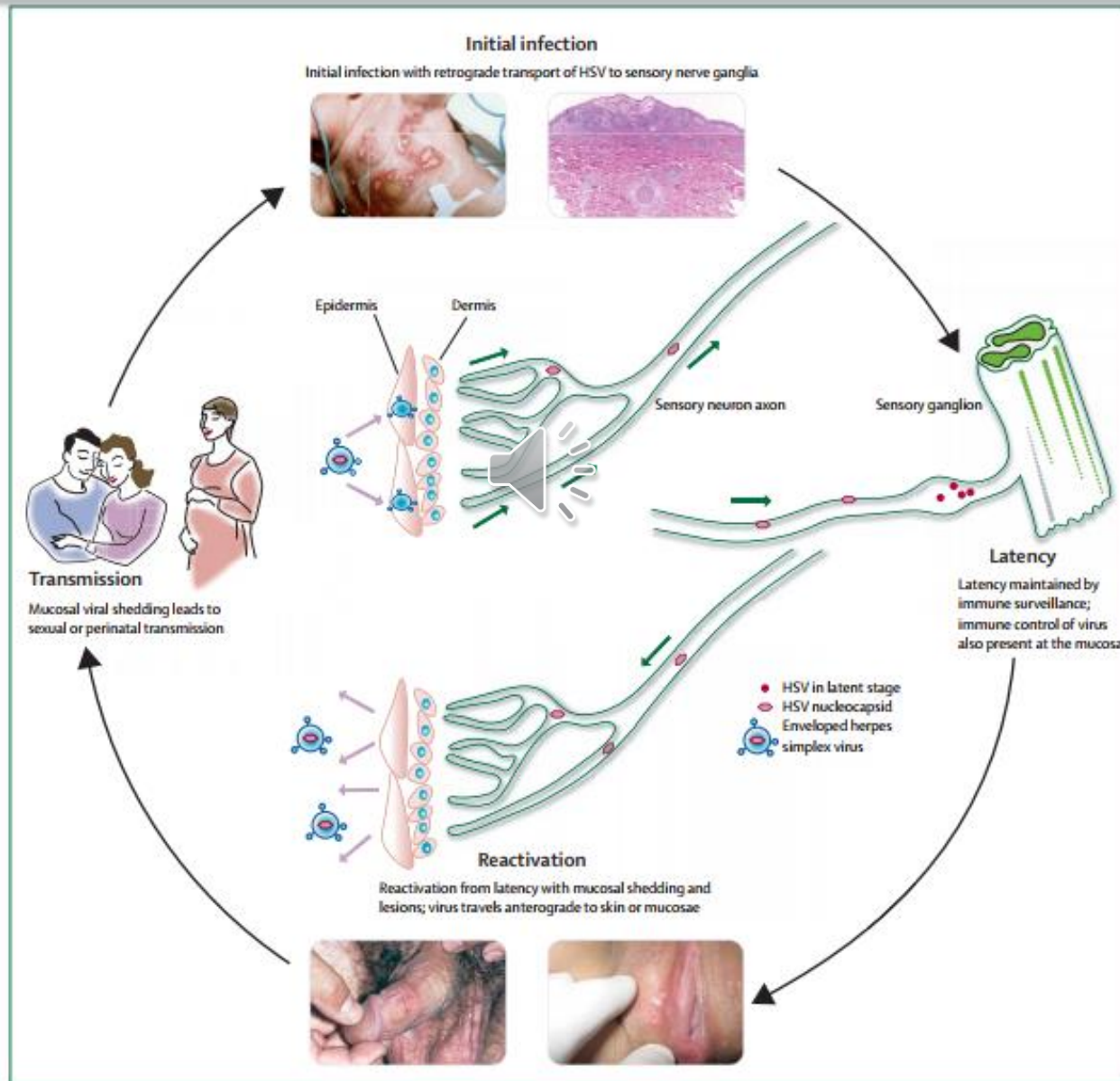


Figure 2: Epidemiology and pathogenesis of mucocutaneous HSV Infection



# 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"><li>1) ~ 50% de homología. Son similares y no presentan diferencias funcionales conocidas.</li><li>2) Usualmente causan infecciones asintomáticas</li><li>3) Se diseminan por contacto directo (NO hay diseminación epidémica)</li><li>4) Permanecen en forma latente en cuerpos neuronales.</li><li>5) La respuesta inmune humoral específica no confiere protección cruzada</li></ol>	



# ¿VERDADERO O FALSO?

---

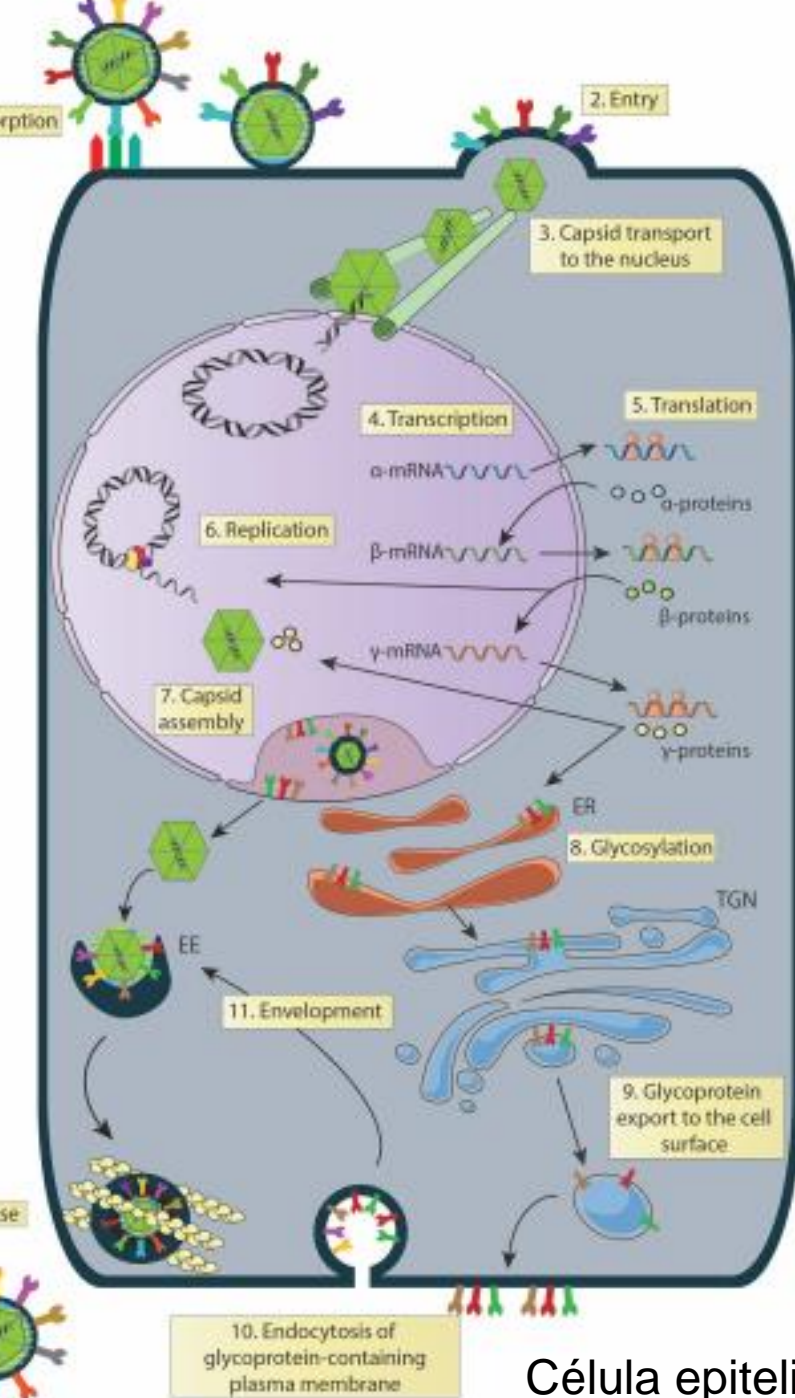
1- Las infecciones por ambos HSV se transmiten fácilmente durante la etapa sintomática. **V**

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



**$\alpha$  = inmediato tempranas**

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

**$\beta$  = tempranas**

Timidino quinasa (TK), DNA polimerasa

**$\gamma$  = tardías**

Proteínas estructurales (cápside, tegumento, envoltura)

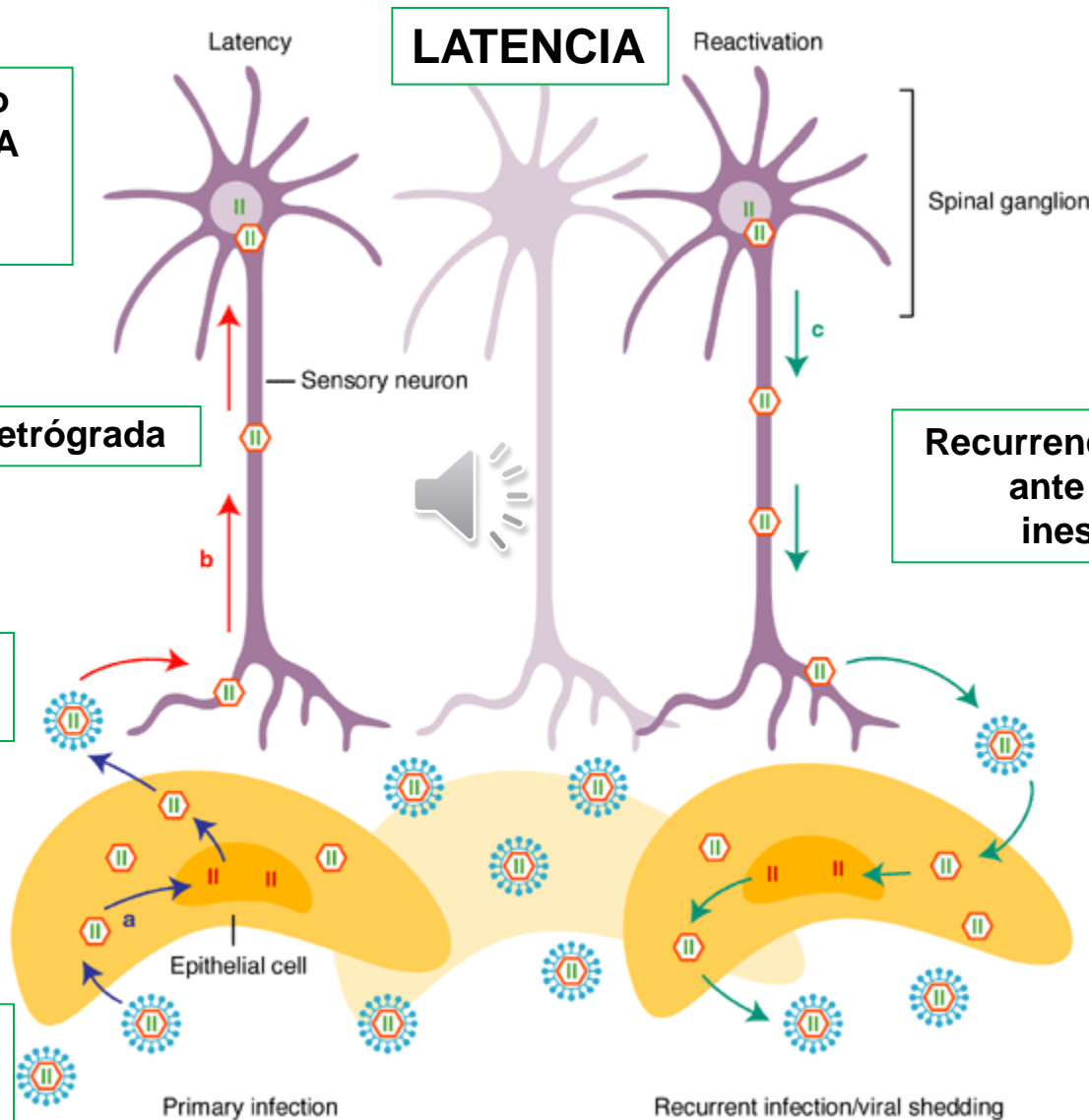
# PROGRESIÓN DE LA INFECCIÓN

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

Progresión intra-axonal retrógrada

Entrada por una terminal de un nervio periférico

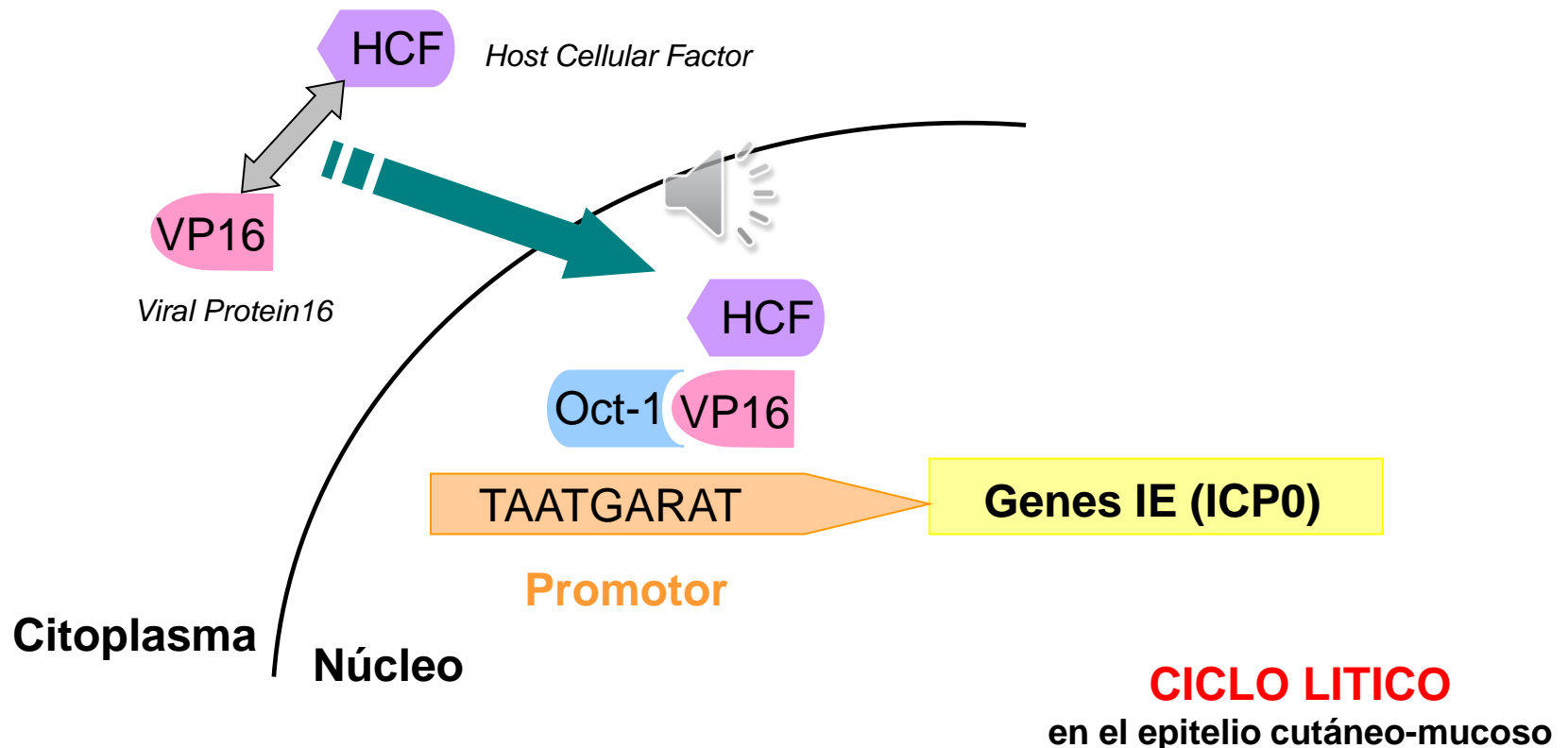
Ingreso en la mucosa por microtraumas y replicación en el epitelio



Recurrencias periódicas ante estímulos inespecíficos

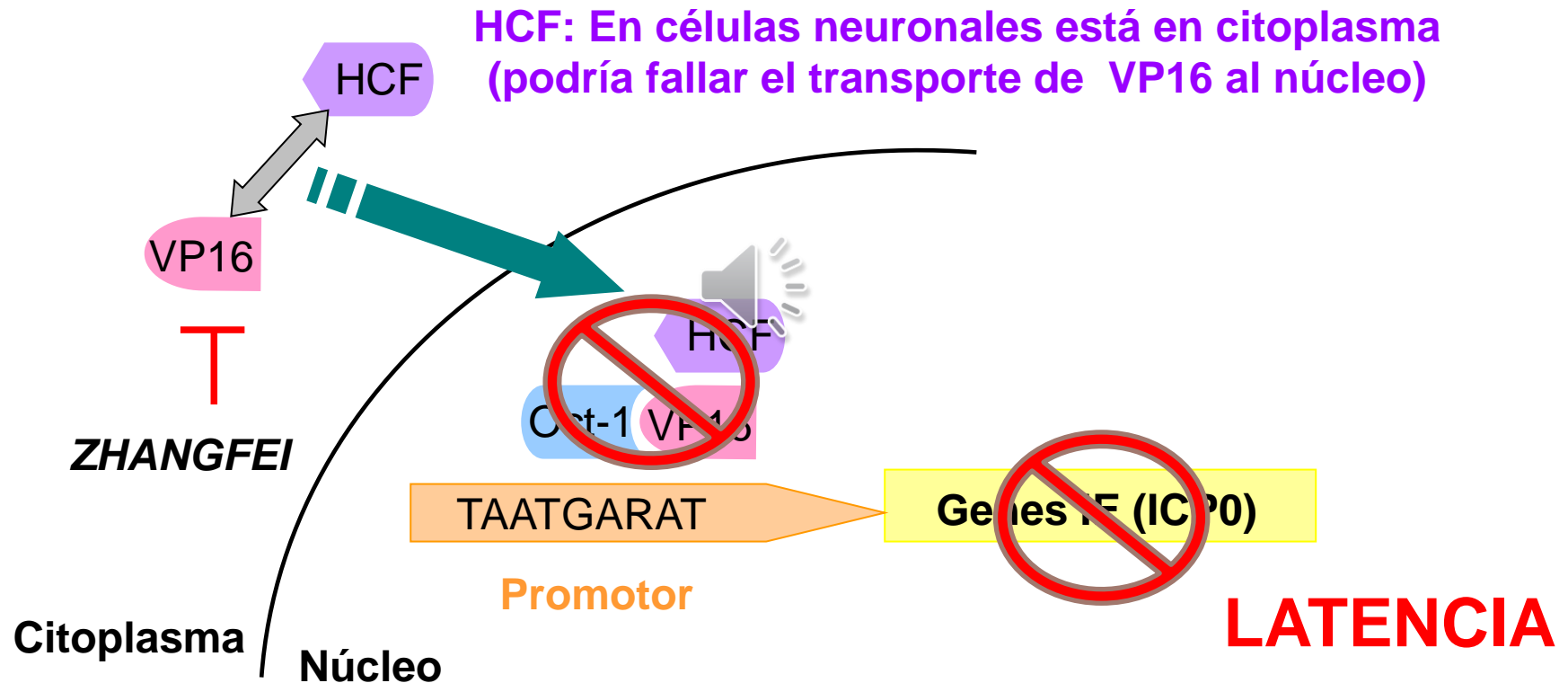
# INFECCIÓN PRODUCTIVA-CÉLULA EPITELIAL

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



# ESTABLECIMIENTO DE LA LATENCIA

## VP16 no ingresa al núcleo neuronal

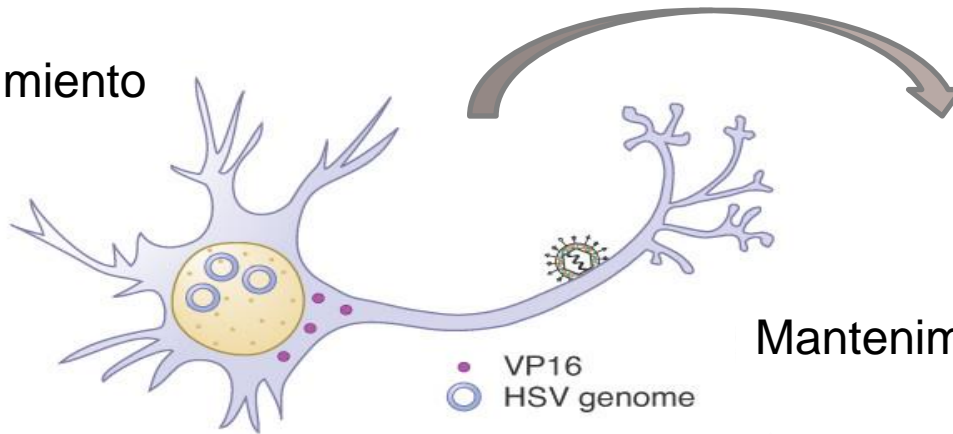


Oct-1: Baja expresión en neuronas, pudiéndose expresar otras proteínas de la familia Oct que compiten con ésta (pero que no pueden interactuar con VP16)

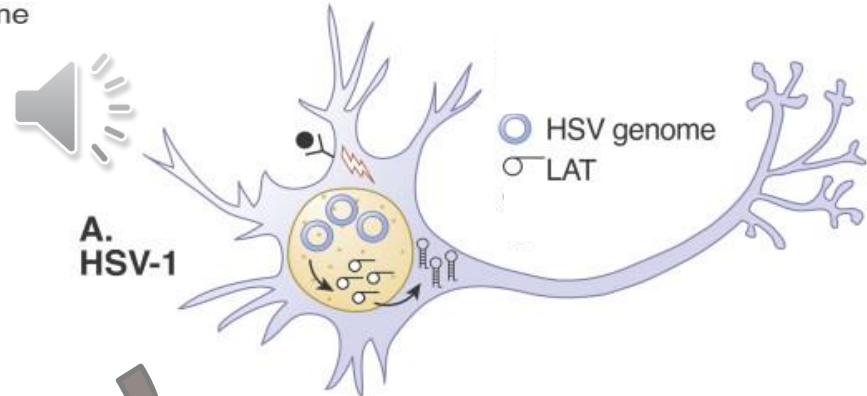
# ETAPAS DE LA LATENCIA VIRAL

## Establecimiento

A.  
HSV-1  
(neuron)

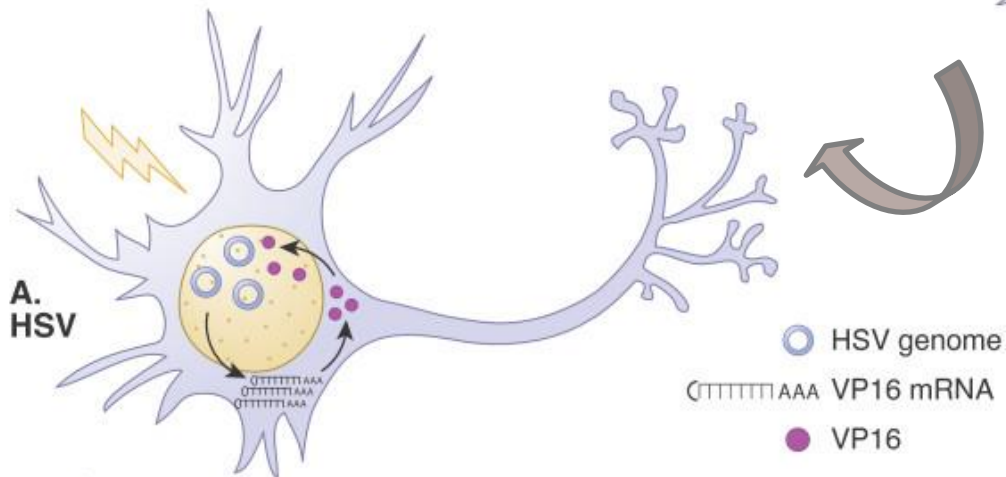


## Mantenimiento



## Reactivación

A.  
HSV



### ICP0:

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

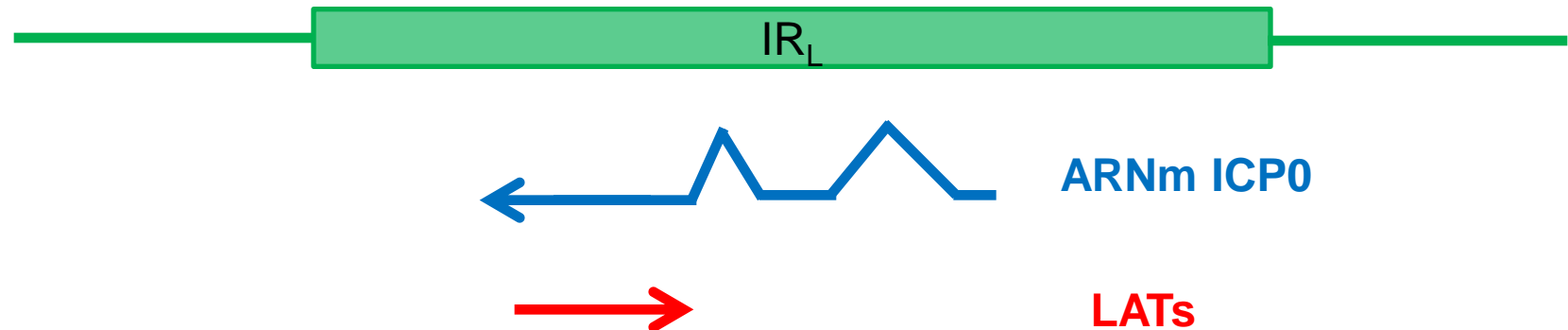


# INFECCIÓN LATENTE (NEURONA) MANTENIMIENTO DE LA LATENCIA

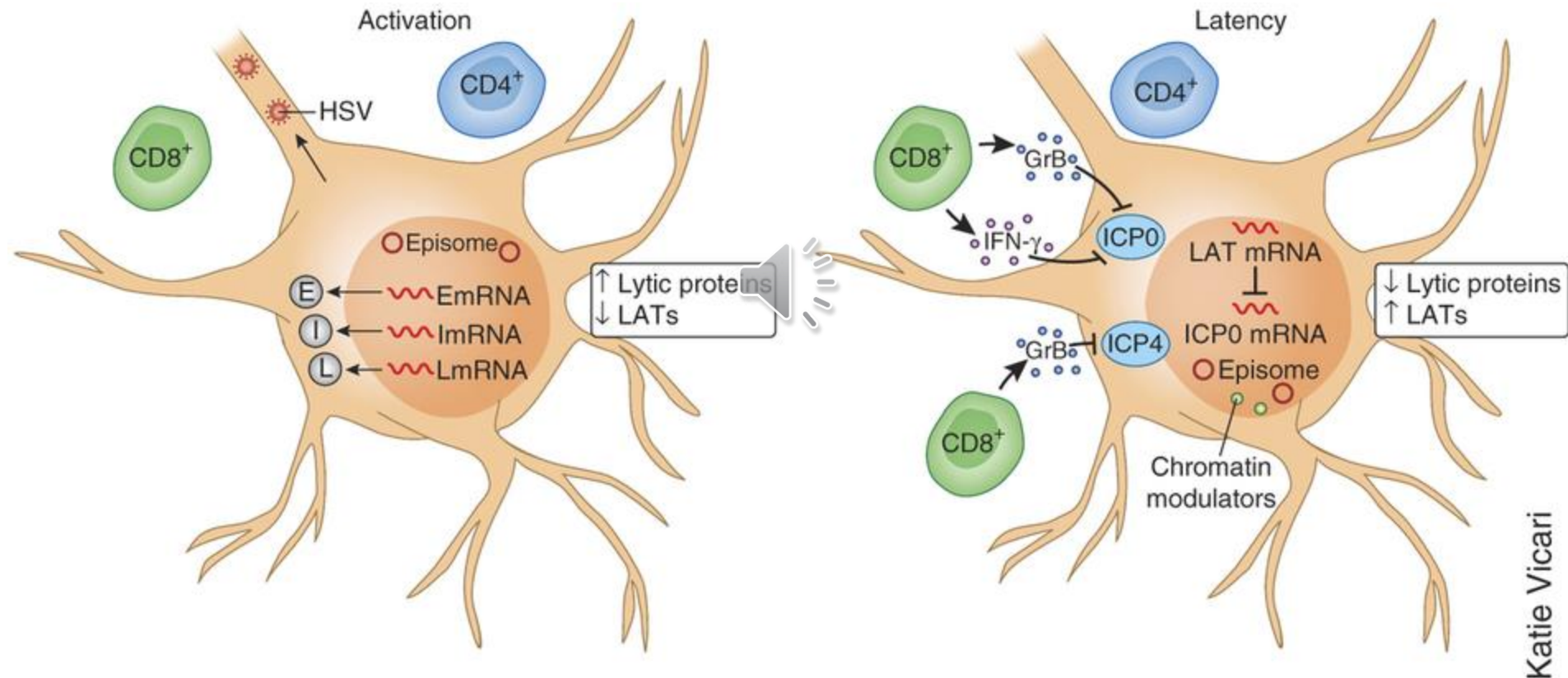
## LATs (transcriptos asociados a la latencia):

- 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  $\rightarrow$  Genes IE (ICP0, ICP4, ICP22, ICP27, ICP47)

LATs

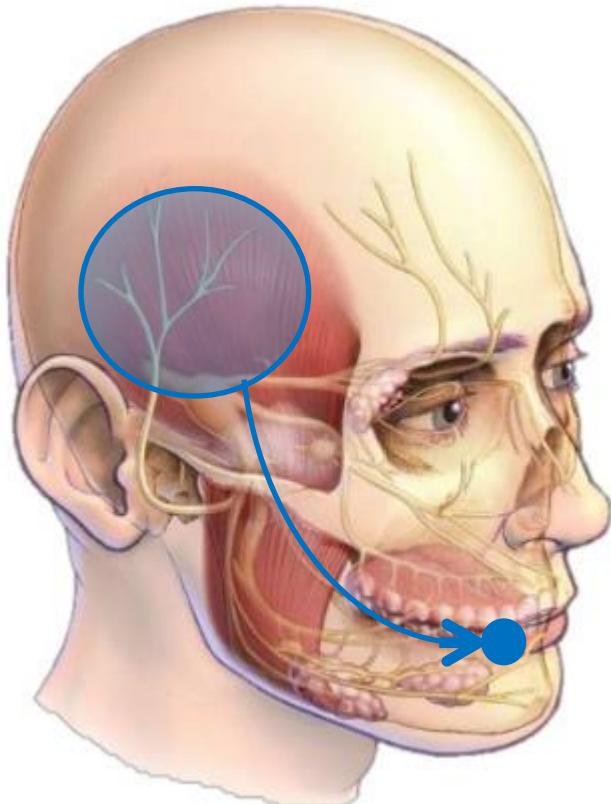
Katie Vicari

# 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**



ICP0 → Genes IE → Genes E → Replicación ADN



↓  
Genes L

↓  
Virus

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**