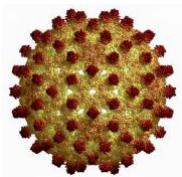
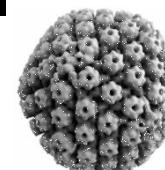


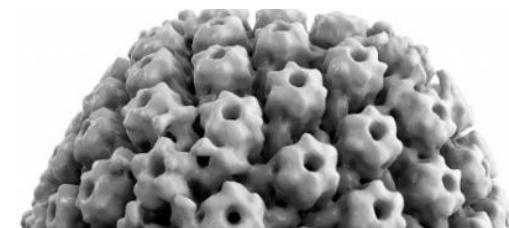
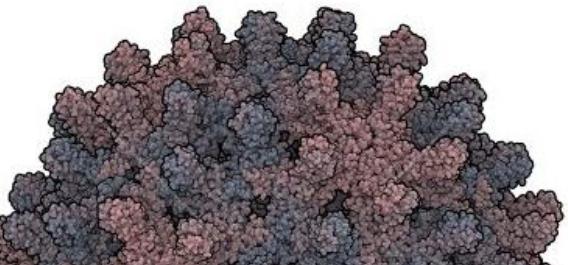
Departamento de Microbiología, Parasitología e Inmunología
Microbiología I



Cátedra 1. Microbiología y Parasitología I
Área de Virología



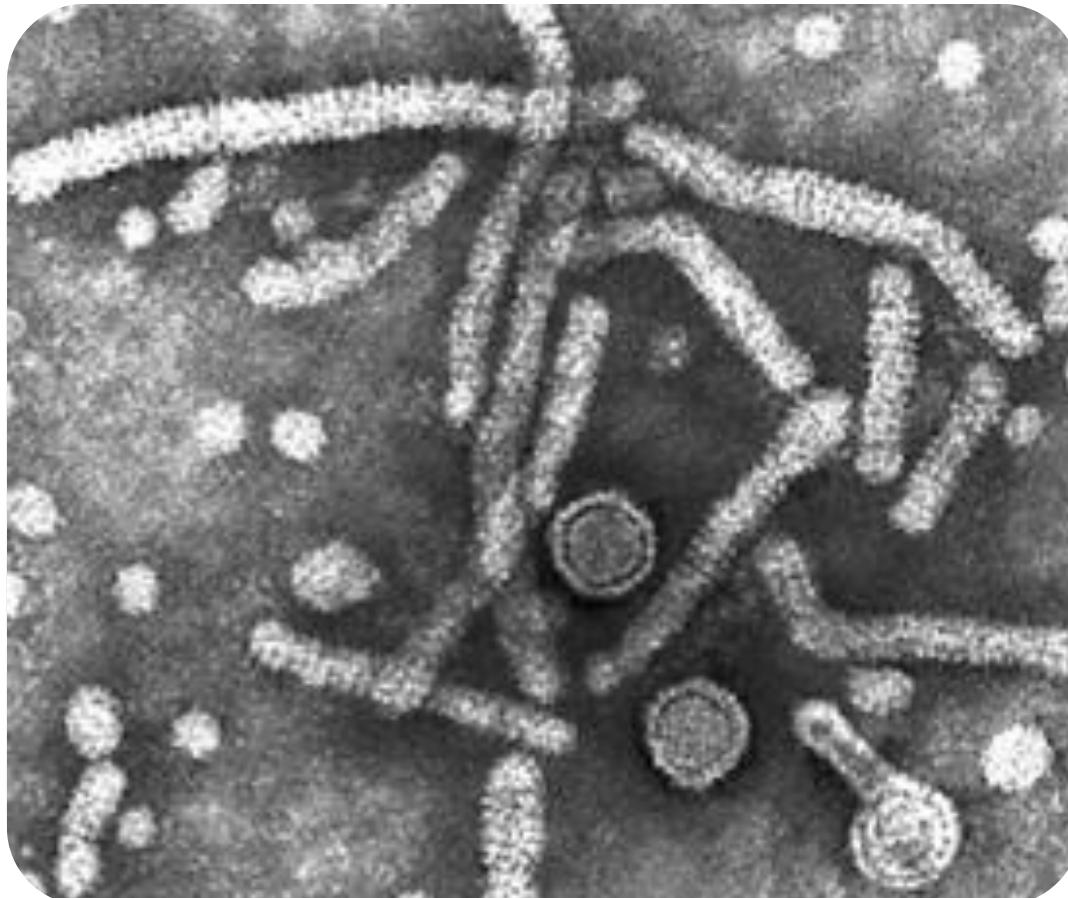
Seminario 14
MODELOS DE INFECCIONES PERSISTENTES
Virus hepatitis B
Virus herpes *simplex*



OBJETIVOS

1. Conocer 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. Conocer los mecanismos de latencia y cronicidad de las infecciones persistentes.

VIRUS HEPATITIS B



VIRUS HEPATITIS B



Horizontal
Sexual
Parenteral



Vertical
Perinatal
Congénita

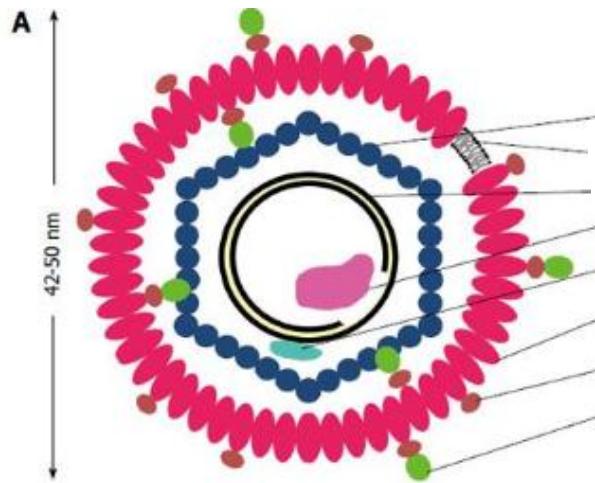


¿Qué diferencias presentan los 3 tipos de partículas virales detectadas en el suero de un paciente infectado con HBV?

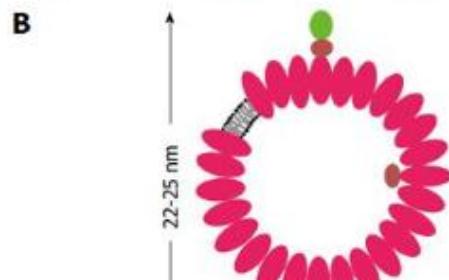
¿Las tres partículas son infecciosas?

¿Se producen en la misma cantidad?

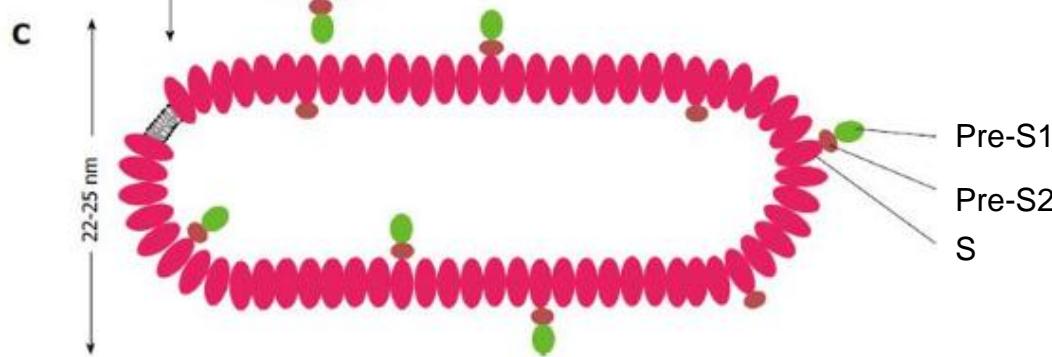
ESTRUCTURA DE LA PARTÍCULA VIRAL



Nucleocapside (HBcAg)
Envoltura
ADN pdc
ADN polimerasa
X
S-HBsAg (Domino S)
M- HBsAg (Pre-S2+S)
L- HBsAg (Pre-S1+Pre-S2+S)

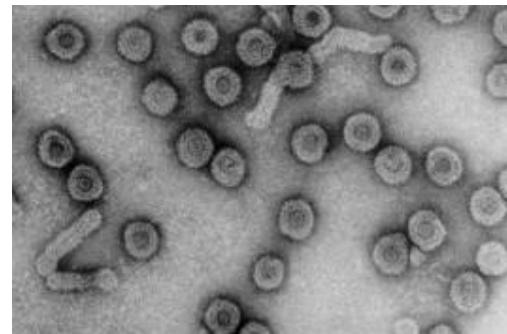


22-25 nm

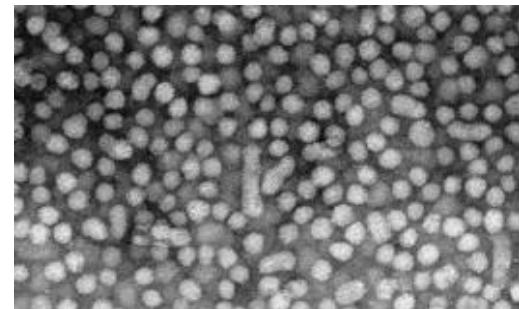


22-25 nm

Pre-S1
Pre-S2
S



Partículas de Dane

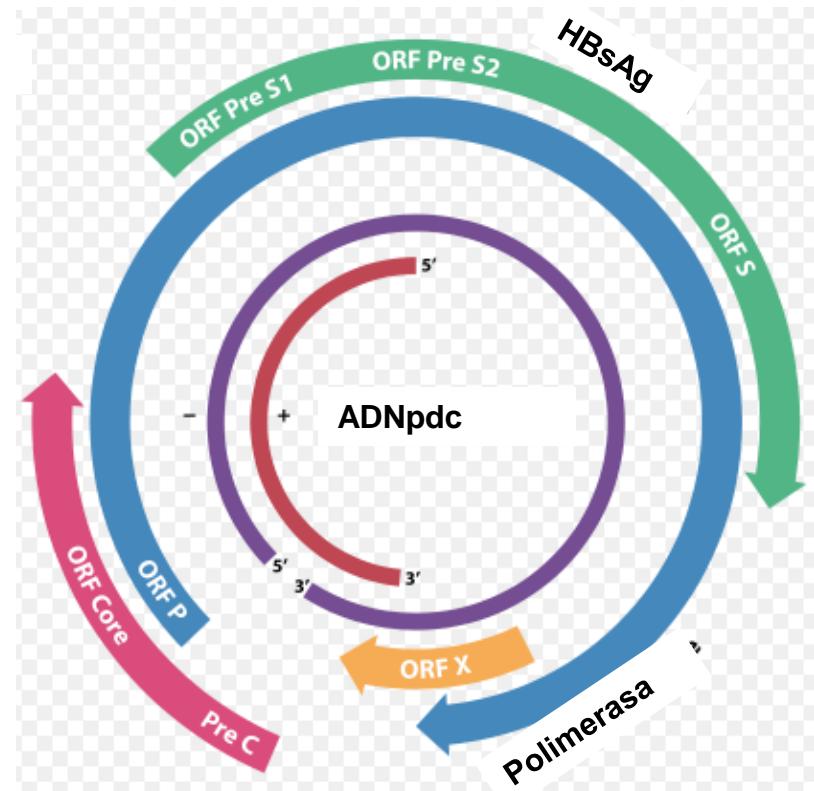
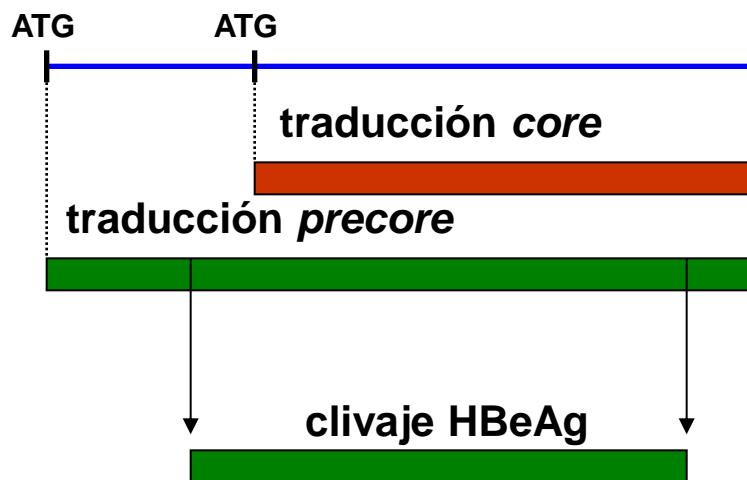
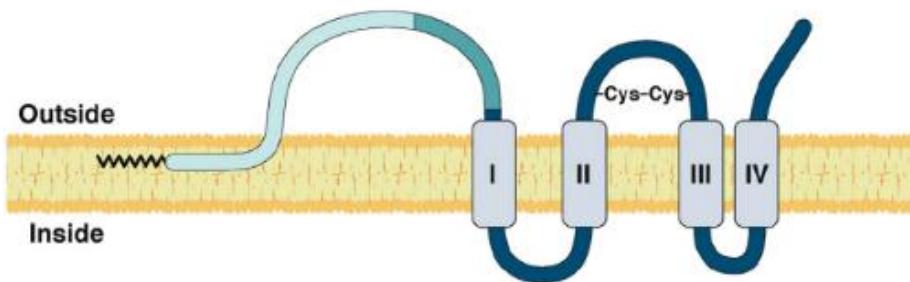
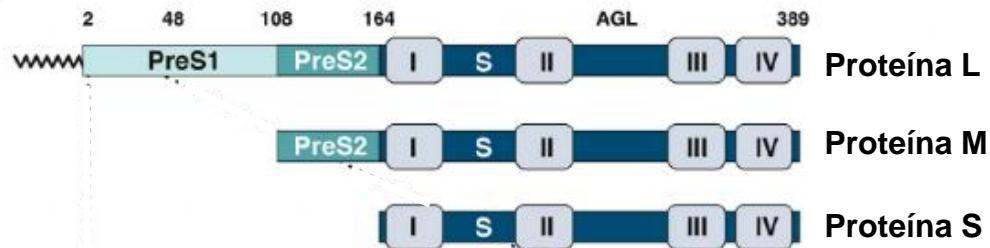


Partículas esféricas



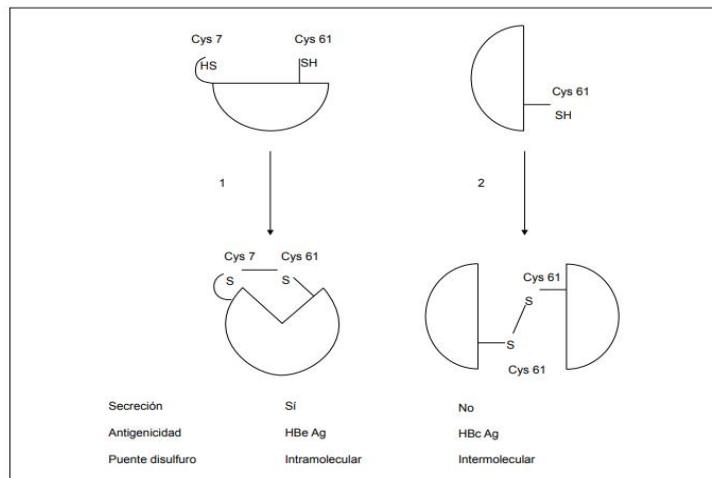
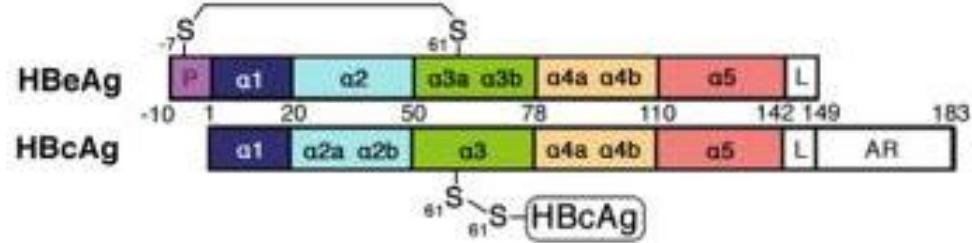
Partículas filamentosas

ESTRUCTURA DEL GENOMA DE HBV

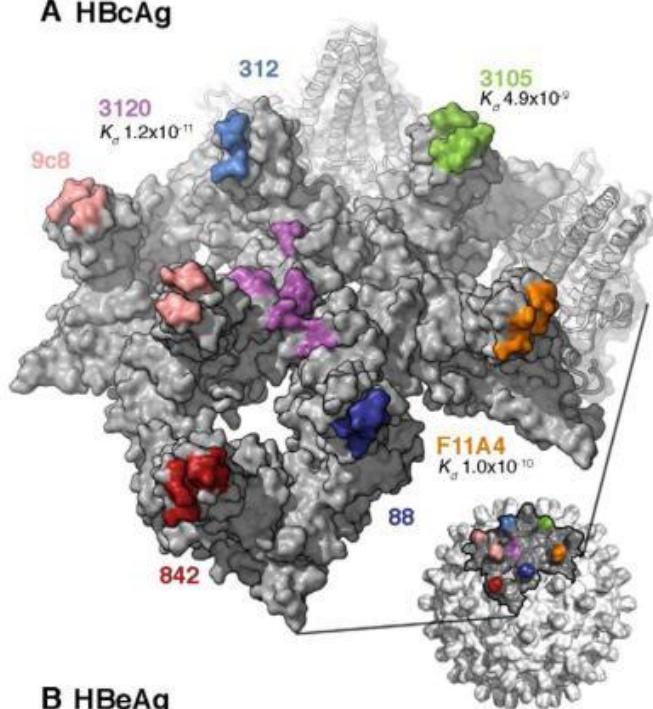


Si HBcAg y HBeAg comparten el 77% de su secuencia aminoacídica.....

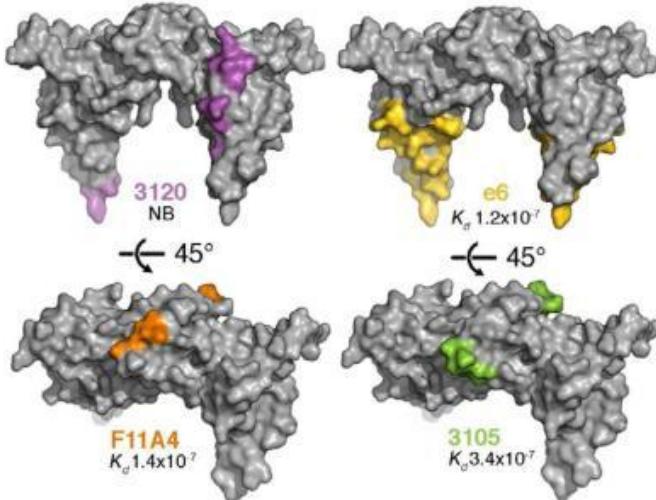
¿Por qué los anticuerpos anti-HBc no se unen al HBeAg?

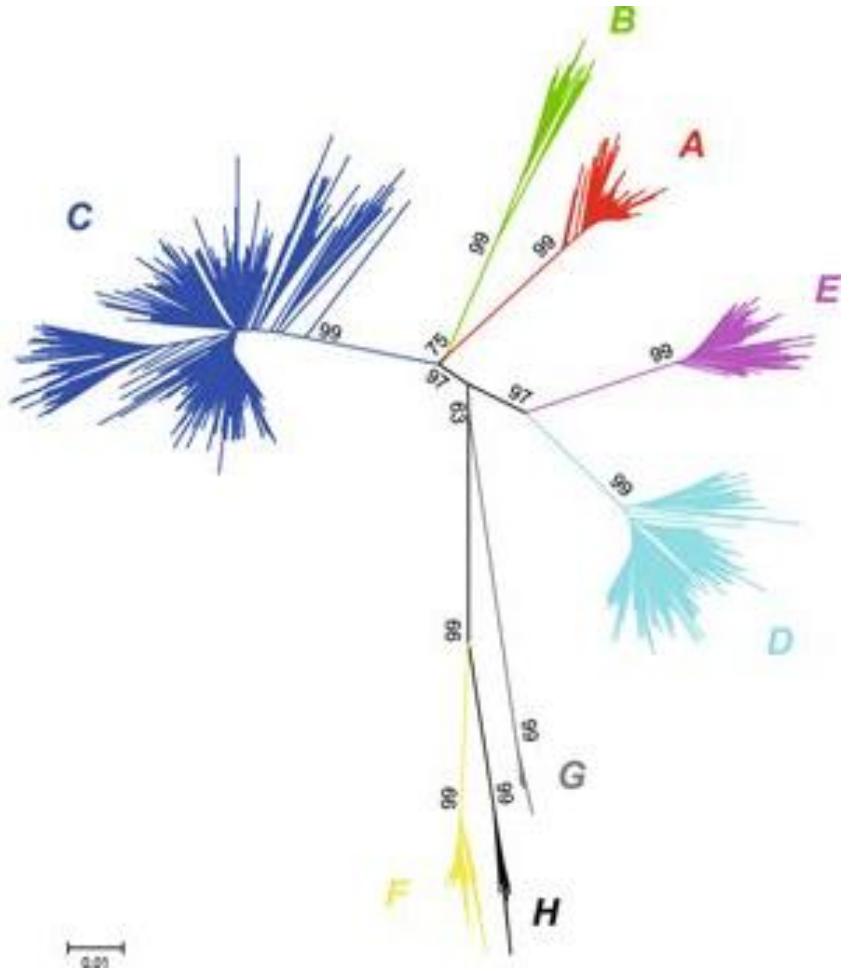


A HBcAg



B HBeAg



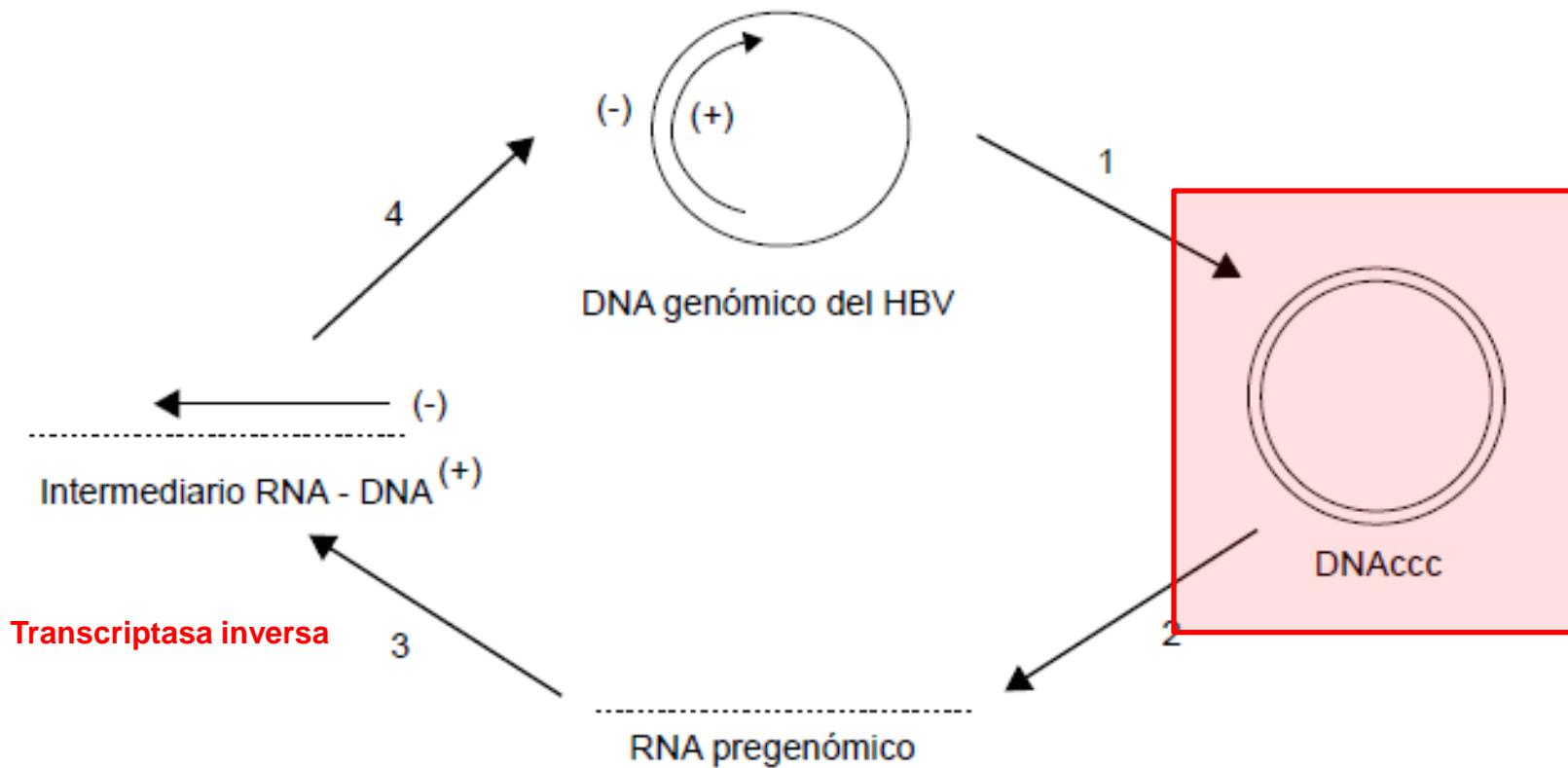


Diversidad genética

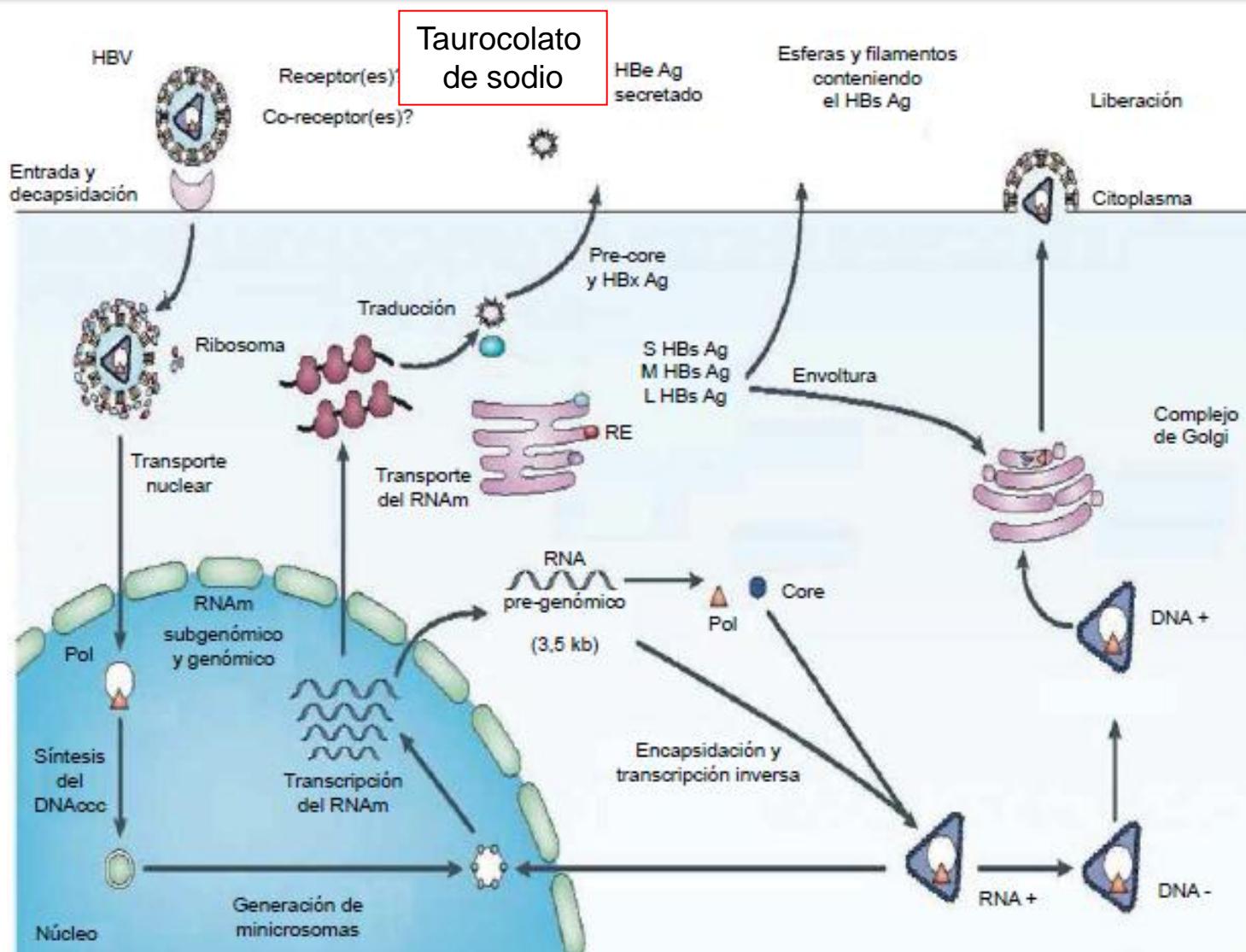
- ✓ Genotipos
- ✓ Subgenotipos
- ✓ Cuasiespecies
- ✓ Recombinantes
- ✓ Mutantes

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

REPLICACIÓN DEL GENOMA DEL HBV



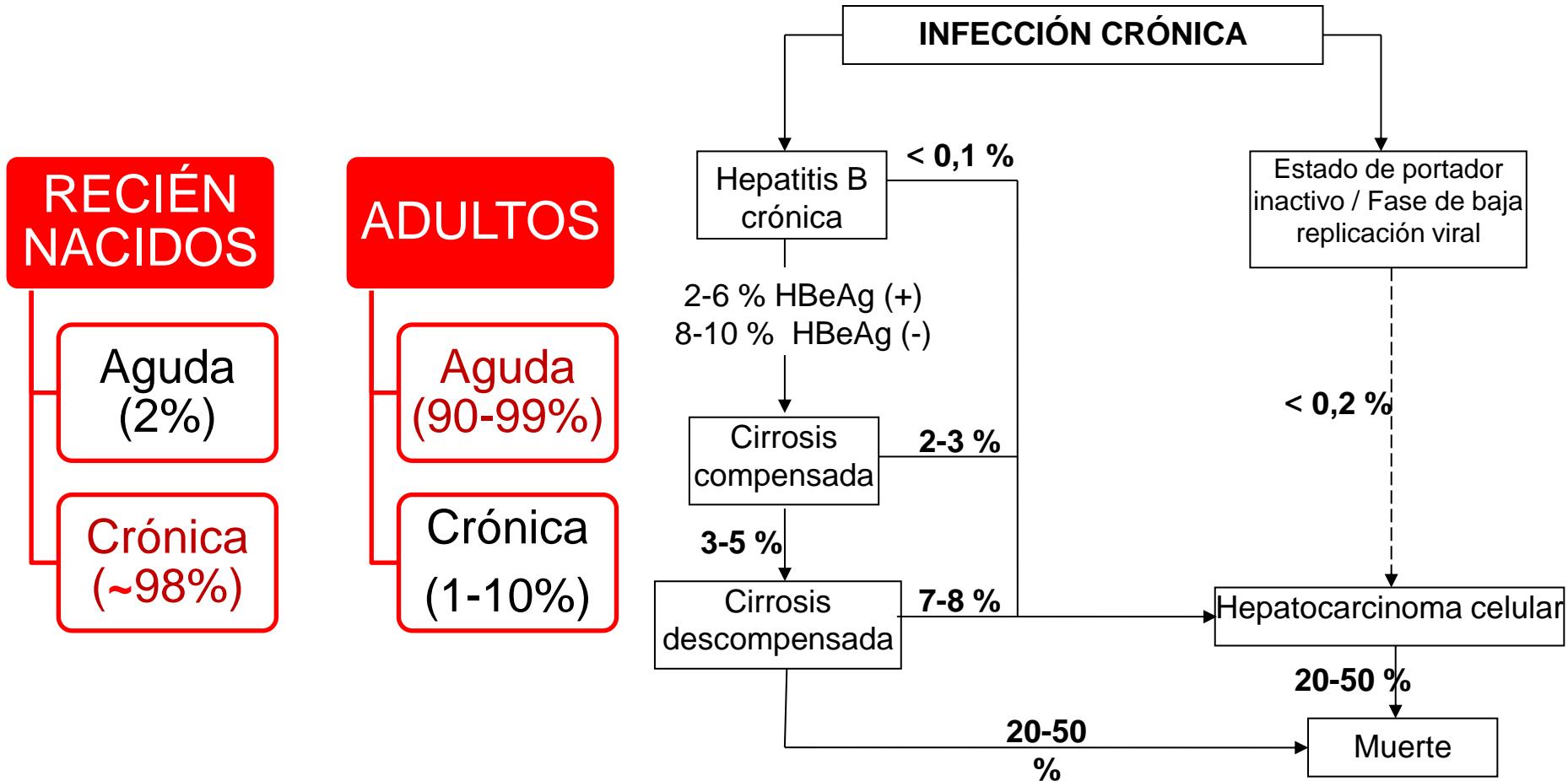
REPLICACIÓN DEL HBV



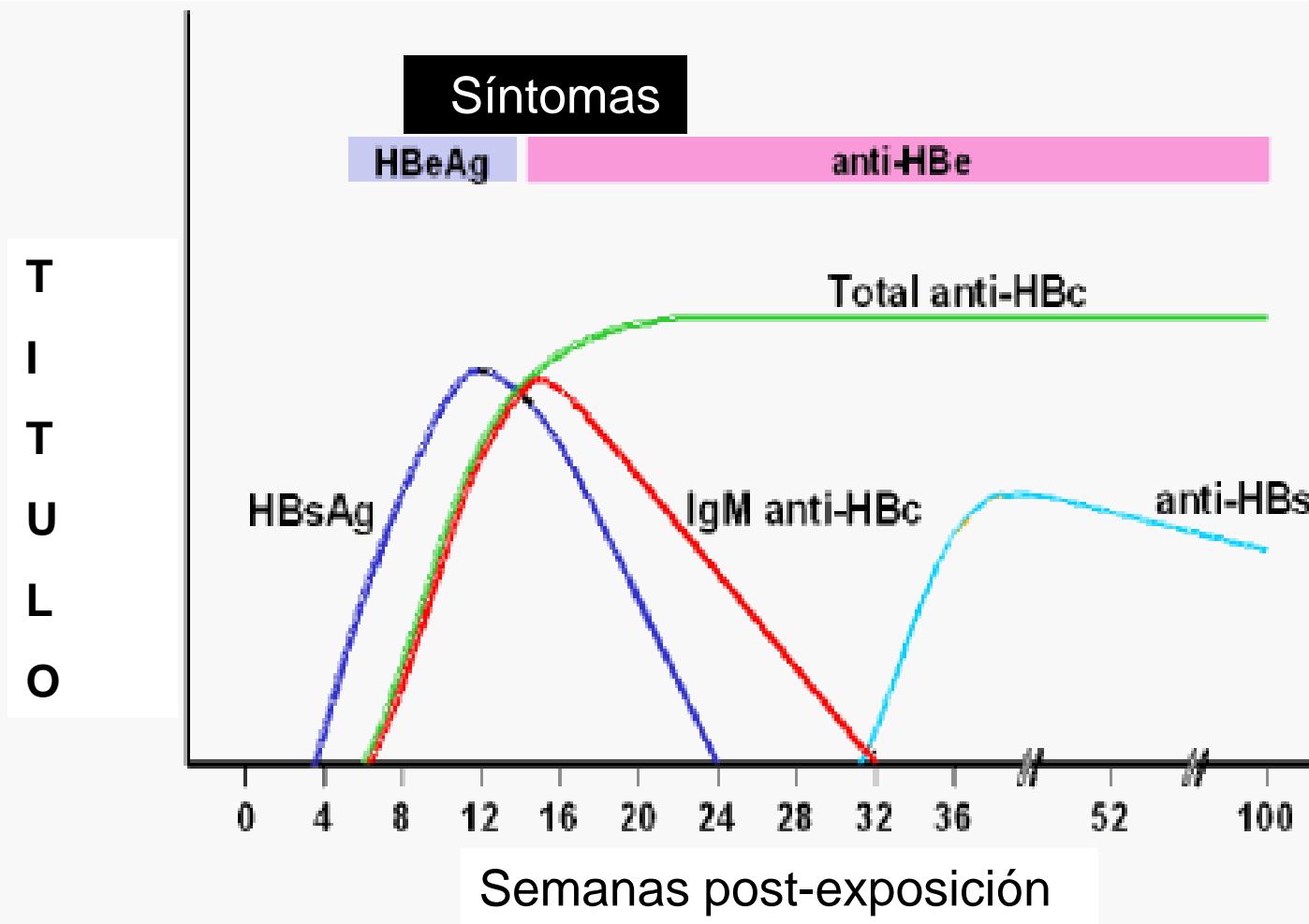
GENOTIPOS E IMPLICANCIAS MÉDICAS

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

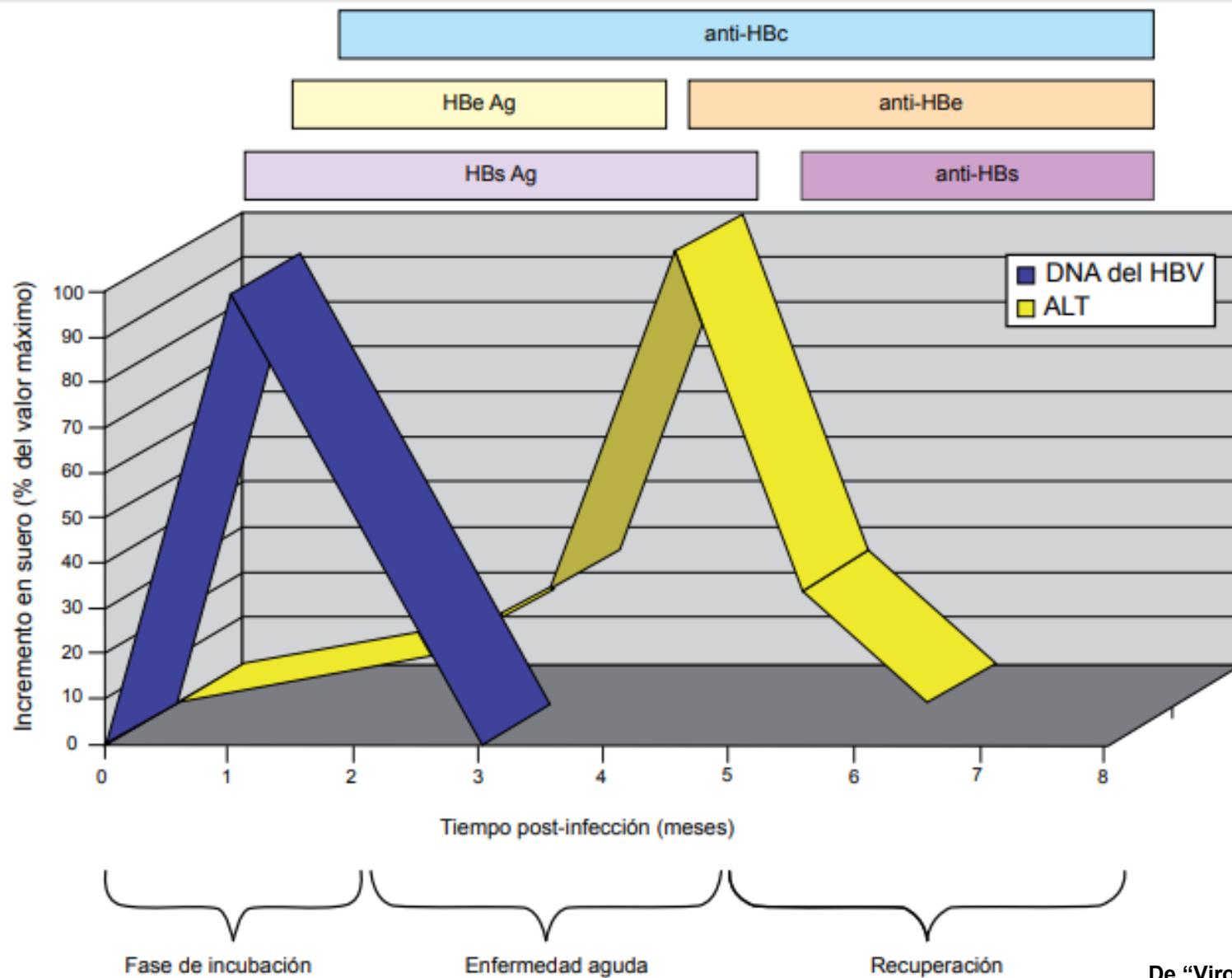


INFECCIÓN AGUDA POR HBV (I)

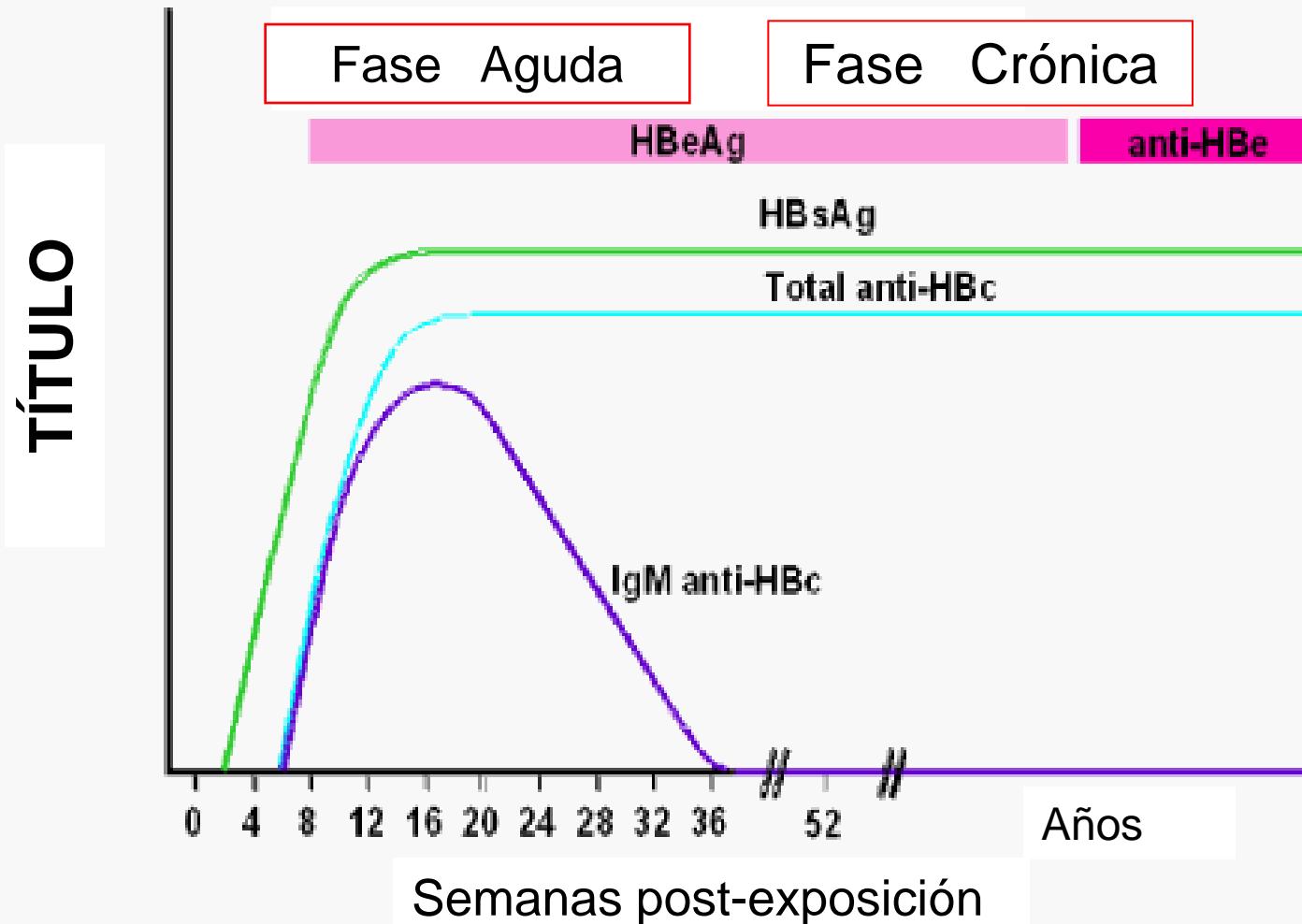


Source: http://www.cdc.gov/ncidod/diseases/hepatitis/slideset/hep_b/slide_3.htm

INFECCIÓN AGUDA POR HBV (II)

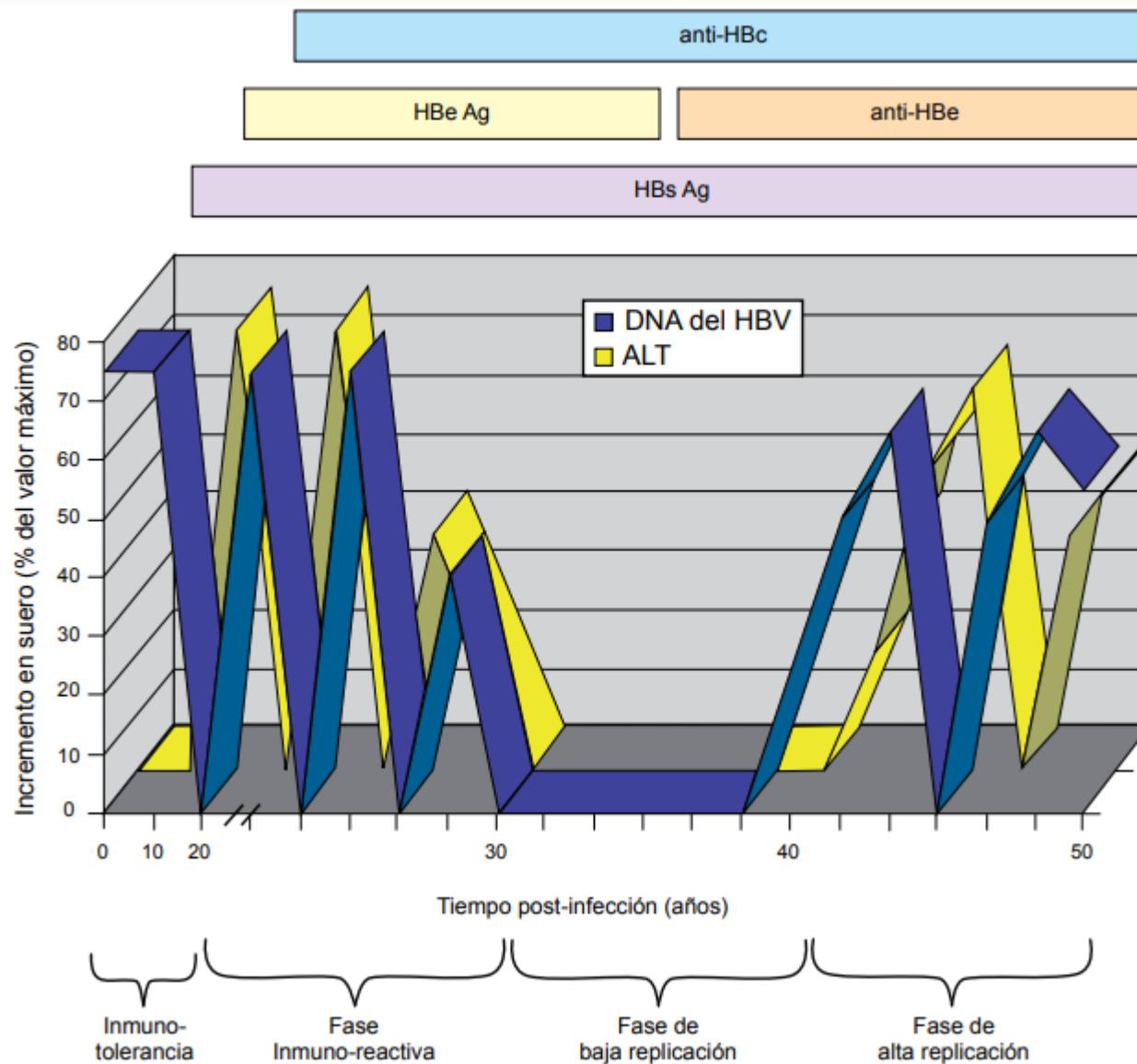


INFECCIÓN CRÓNICA POR HBV (I)



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.

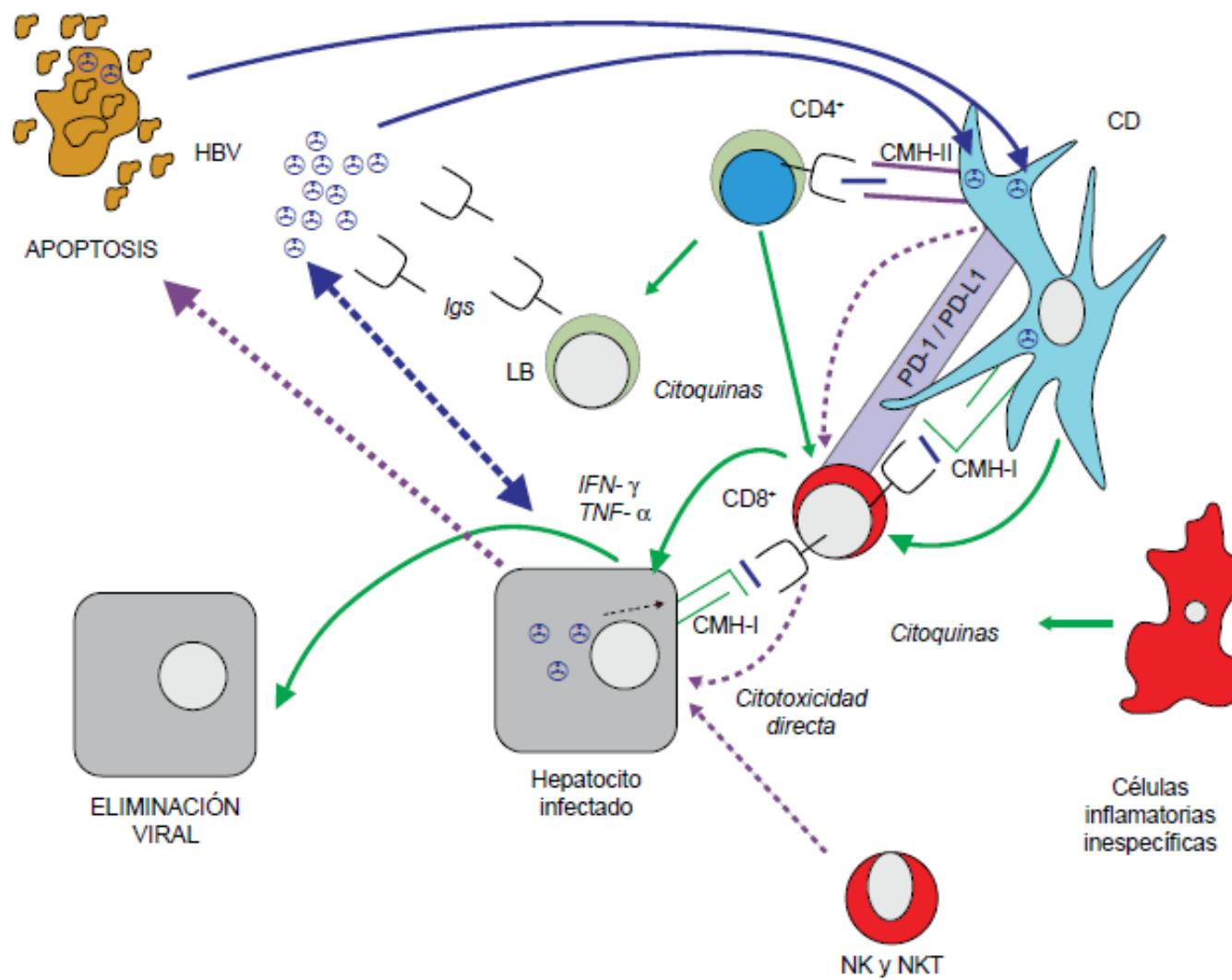
¿Cuáles pueden ser las causas de seronegatividad para HBs Ag en individuos virémicos?

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



En cuanto a la inmunopatogénesis de la infección crónica por HBV:

- a) El hepatocito infectado puede evolucionar a la apoptosis
- b) El hepatocito infectado es blanco de la acción de las células NK y NKT
- c) El hepatocito infectado es incapaz de eliminar el virus
- d) La respuesta CTL se encuentra inhibida
- e) Las células dendríticas participan en la activación de los LT CD4+
- f) Existe una vigorosa respuesta humoral
- g) La interacción PD1/PDL1 es fundamental para la eliminación viral
- h) Hay escasa producción de partículas virales en todas las etapas de la cronicidad
- i) Una respuesta inmune oligoclonal débil favorece la eliminación viral
- j) En los neonatos, generalmente se logra una respuesta vigorosa policlonal y multiespecífica que contribuye a la resolución de la infección

RESPUESTA INMUNE ANTIVIRAL

DEBIL
OLIGOCLONAL

VIGOROSA
POLICLONAL
MULTIESPECÍFICA

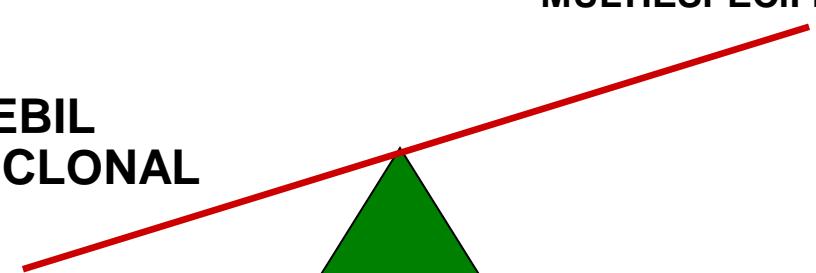
AGUDA



PERSISTENCIA

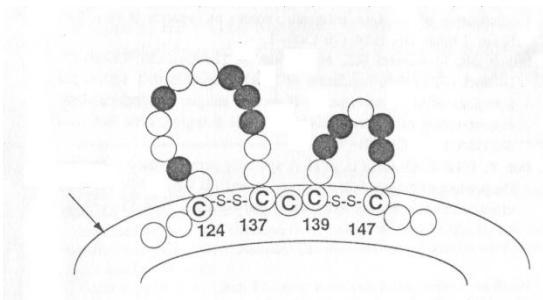
DEBIL
OLIGOCLONAL

VIGOROSA
POLICLONAL
MULTIESPECÍFICA



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**

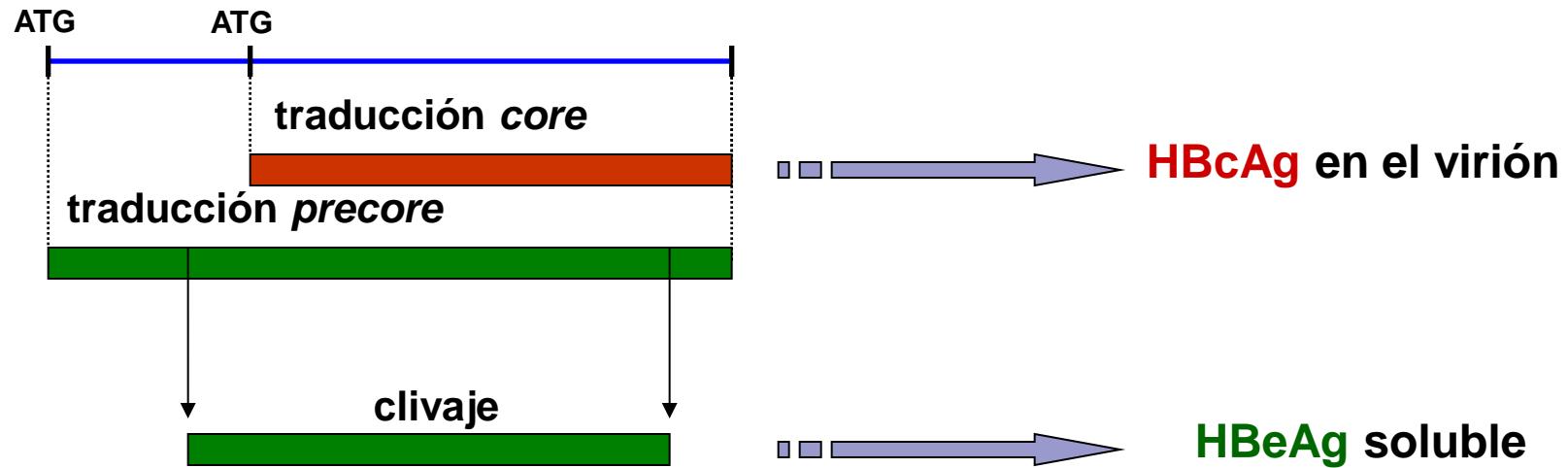
**Mutaciones en los epítopes
para linfocitos T**



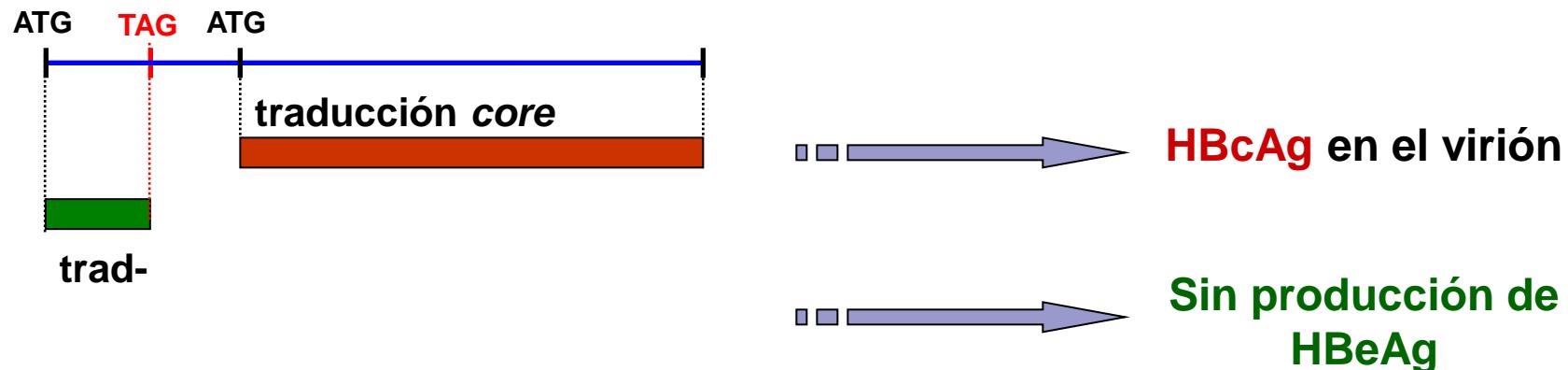
**ESCAPE A LA
RESPUESTA INMUNE
CELULAR**

DETERMINANTES VIRALES QUE FAVORECEN LA PERSISTENCIA

HBV con síntesis de HBeAg



Mutantes de precore sin síntesis de HBeAg



MUTANTES DE PRE-CORE

Mutantes HBeAg (-)

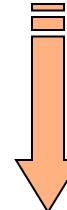
ATG TAG ATG

traducción core

trad.



Sin producción de HBeAg



HEPATITIS FULMINANTE

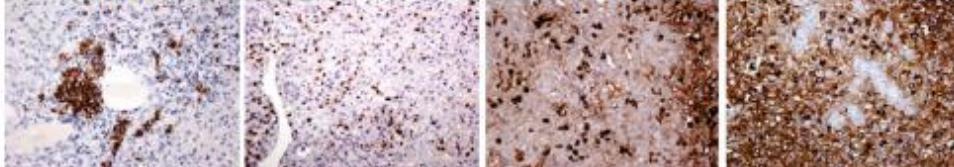
CD20

Mum/IRF4

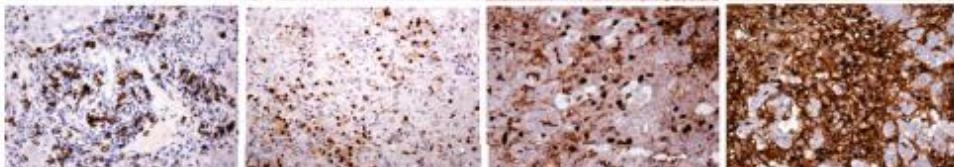
IgM

IgG

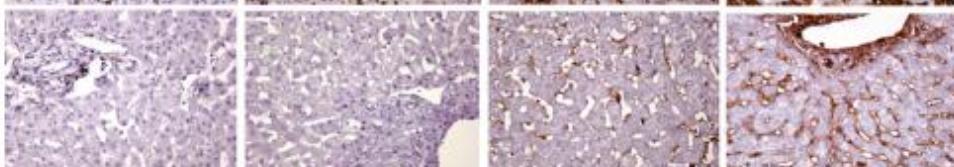
Patient 1



Patient 2



Liver Donor

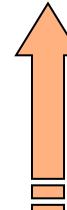


Depósito de anticuerpos anti-HBc sintetizados *in situ*

Mutantes en el promotor
basal del gen del core

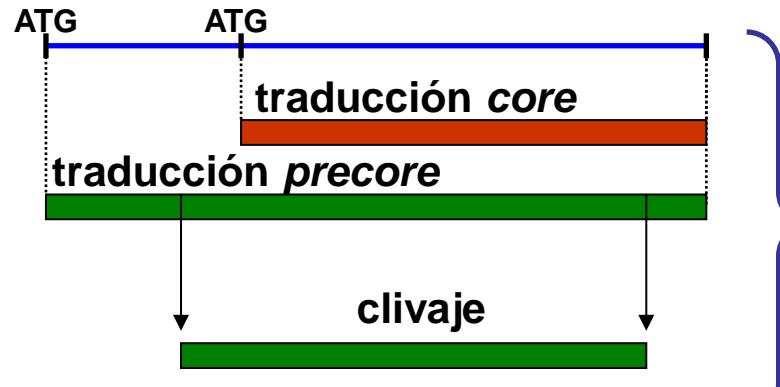


Aumento en la replicación
viral



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

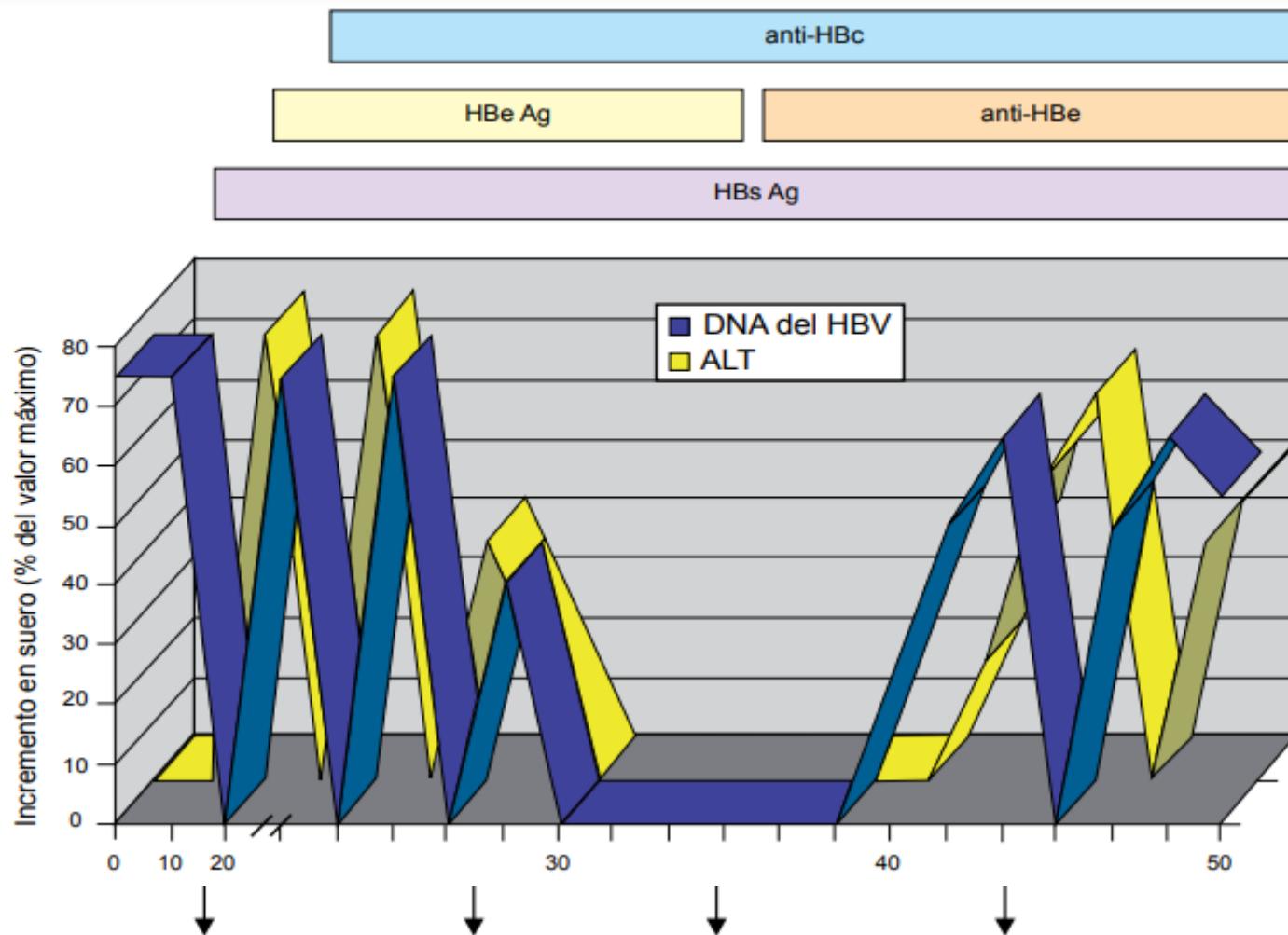
HBeAg atraviesa placenta y llega al timo

PERSISTENCIA

TOLERANCIA

Infección crónica en recién nacidos ~98 %

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



Deleción 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)

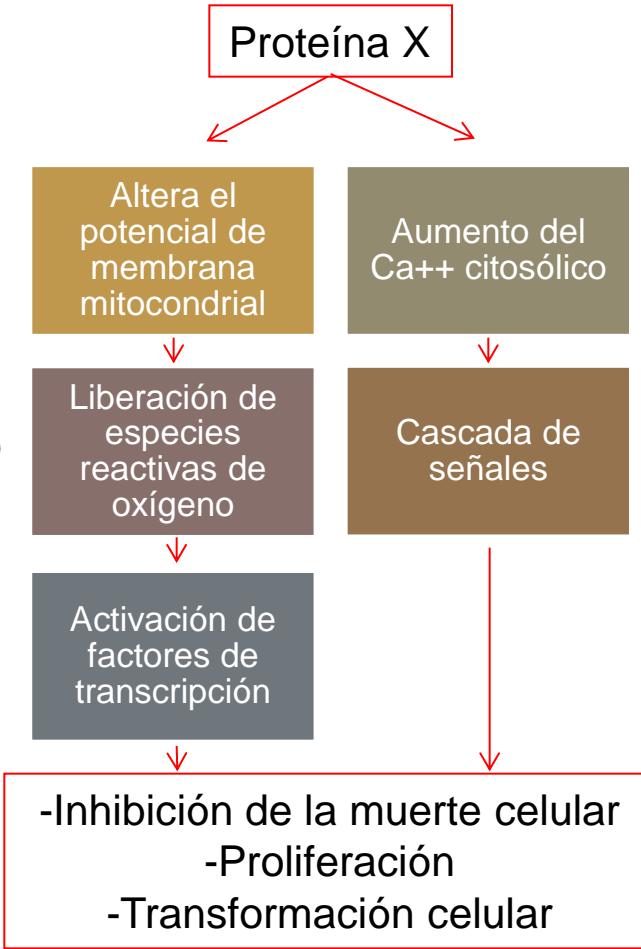
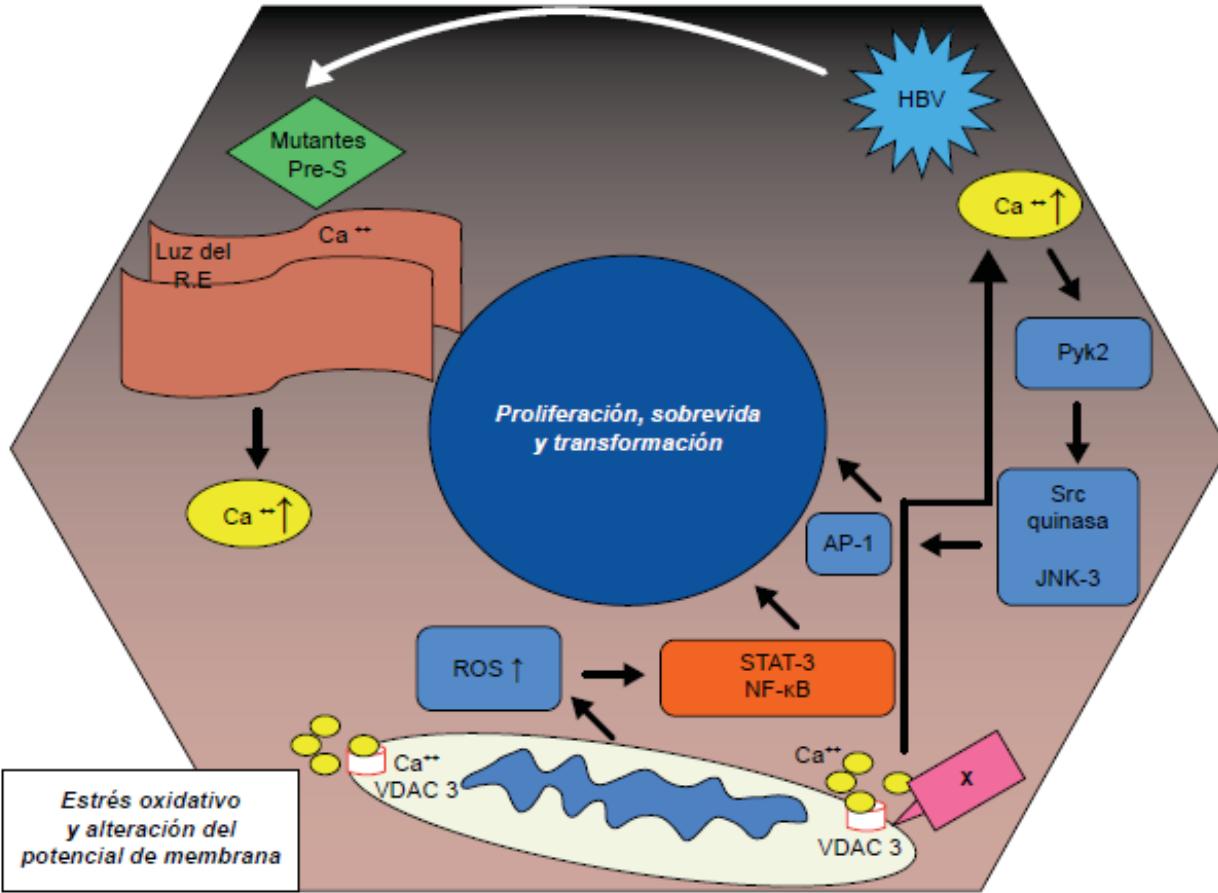
Defecto en la síntesis
de HBe Ag y pre-S2
Deleción de pre-S2
Cambios de aa en HBc
y HBe Ag

Cambios de aa
en HBs Ag
(determinante a)

PATOGÉNESIS DEL CHC

¿Qué proteínas del HBV
favorecen la generación de CHC?

PATOGÉNESIS DEL CHC



En relación a la patogénesis del hepatocarcinoma celular, la proteína X desempeña un rol fundamental provocando:

- a) Disminución del Ca²⁺ citosólico, con la consiguiente cascada de señales inhibiendo la muerte celular y favoreciendo la proliferación y transformación celular
- b) Mutagénesis insercional aleatorias que pueden favorecer la transformación celular
- c) Activación en trans de proto-oncogenes celulares
- d) Alteración del potencial de membrana mitocondrial, aumento del Ca²⁺ citosólico, liberación de especies reactivas de oxígeno, activación de factores de transcripción inhibiendo la muerte celular y favoreciendo la proliferación y transformación celular
- e) Unión a factores de transcripción anti-apoptóticos
- f) Estrés oxidativo y alteración del potencial de membrana
- g) Unión al DNA, inhibiendo el ciclo celular
- h) Aumento del Ca²⁺ citosólico, favoreciendo la transcripción de proteínas anti-apoptóticas.
- i) Alteración del potencial de membrana nuclear, favoreciendo la activación de factores de transcripción y desregulando el ciclo celular
- j) Inhibición de factores de transcripción anti-apoptóticos

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



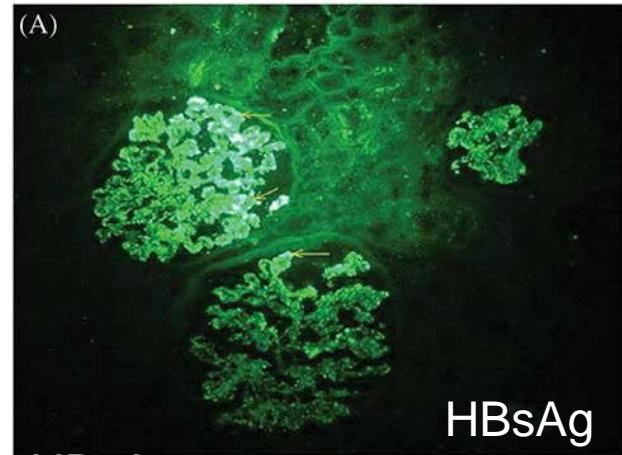
Deposición de inmunocomplejos en vasos sanguíneos, glomérulos y sinovia



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



Gránulos neutrofílicos, enzimas, intermediarios reactivos de oxígeno

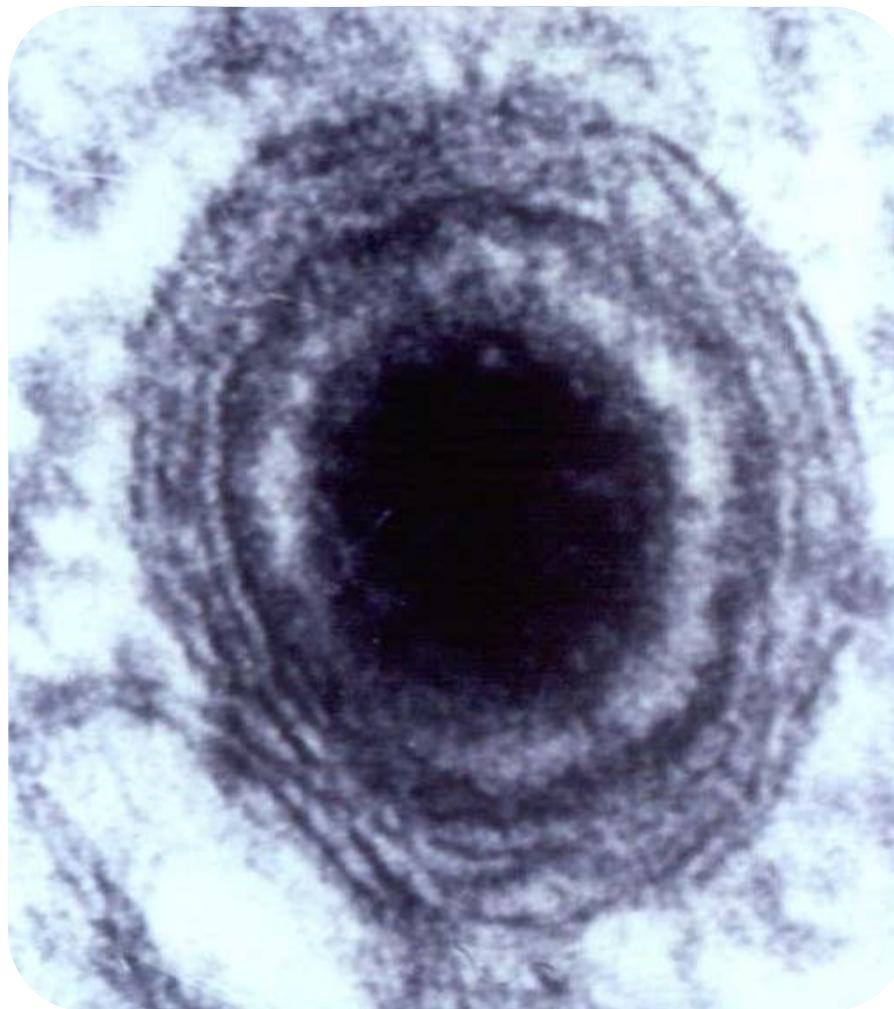


Vasculitis y poliarteritis nodosa

Glomerulonefritis

Artritis

VIRUS HERPES SIMPLEX



Sanjuan, N. et al. Arch. Virol 91:329; 1986

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

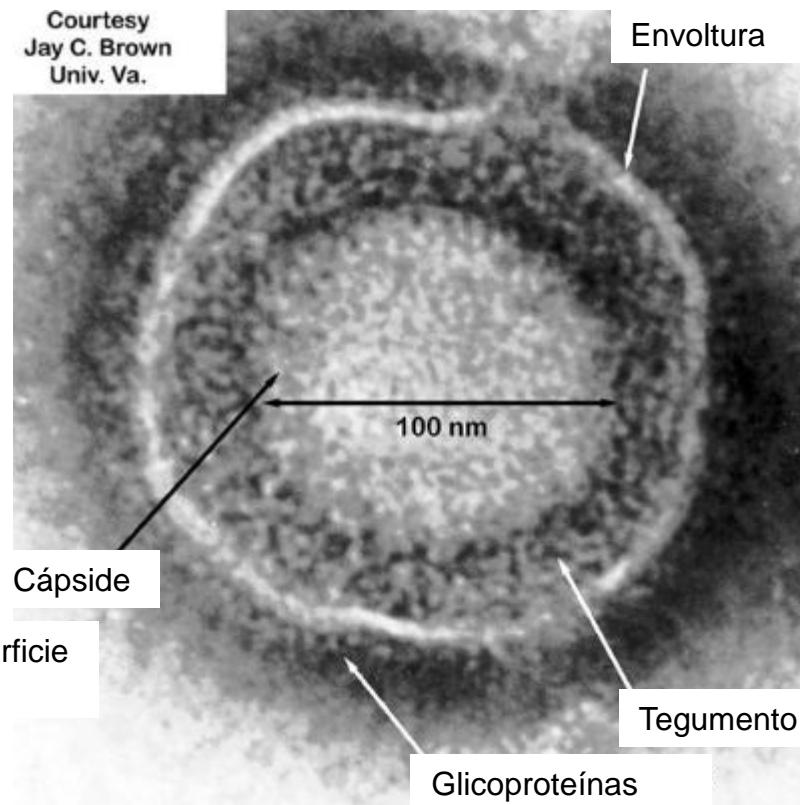
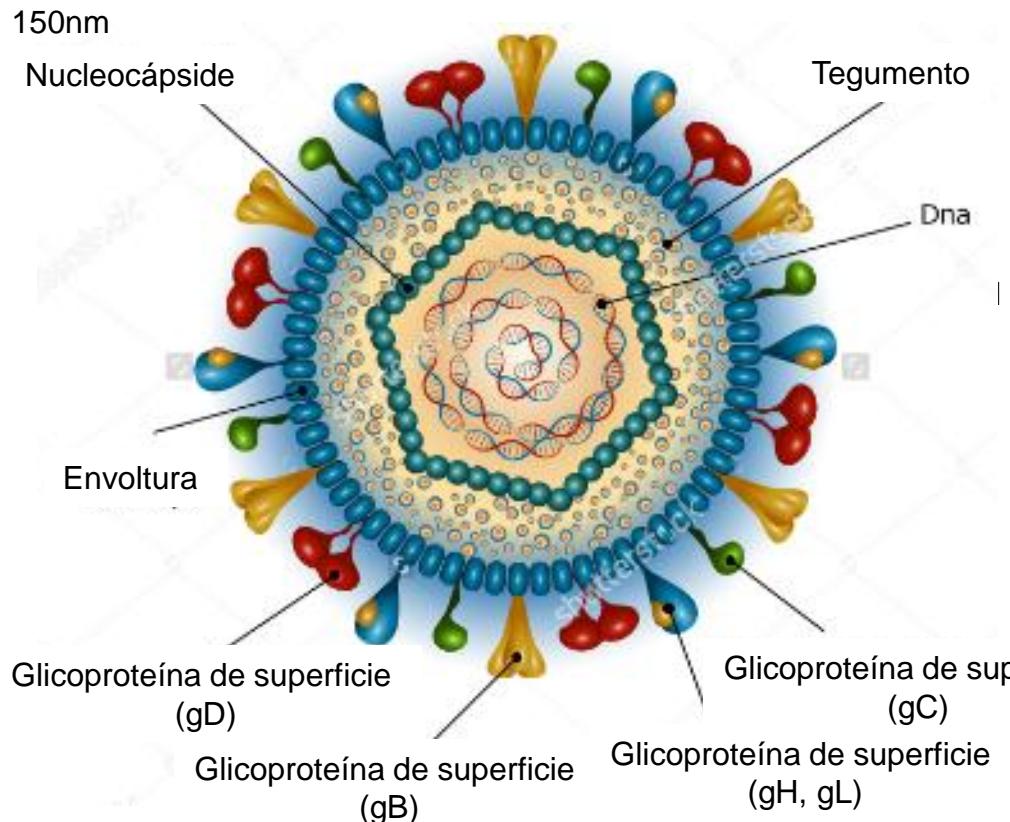
FAMILIA HERPESVIRIDAE

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

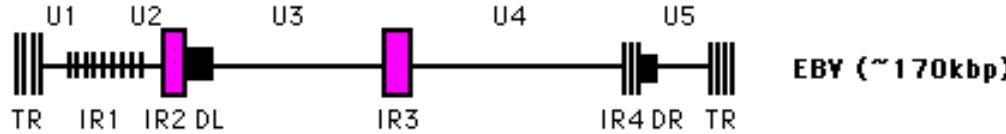
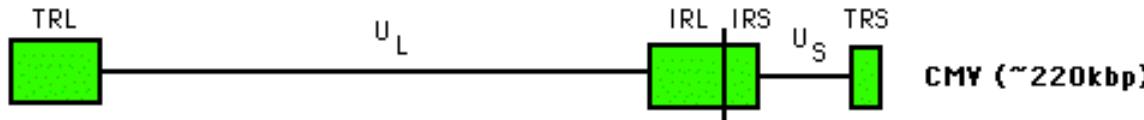
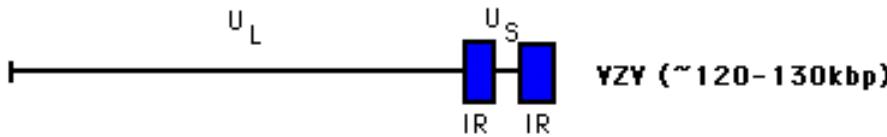
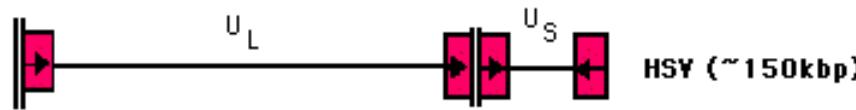
SIMILITUDES	DIFERENCIAS
Morfología: ME (cápside, tegumento, envoltura)	Enfermedades producidas
Estructura: grandes, envueltos, genoma DNA de doble cadena y extenso.	Células blanco de infección productiva vs las de infección latente
Propiedades biológicas: DNA polimerasa viral, Síntesis DNA y ensamblado 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



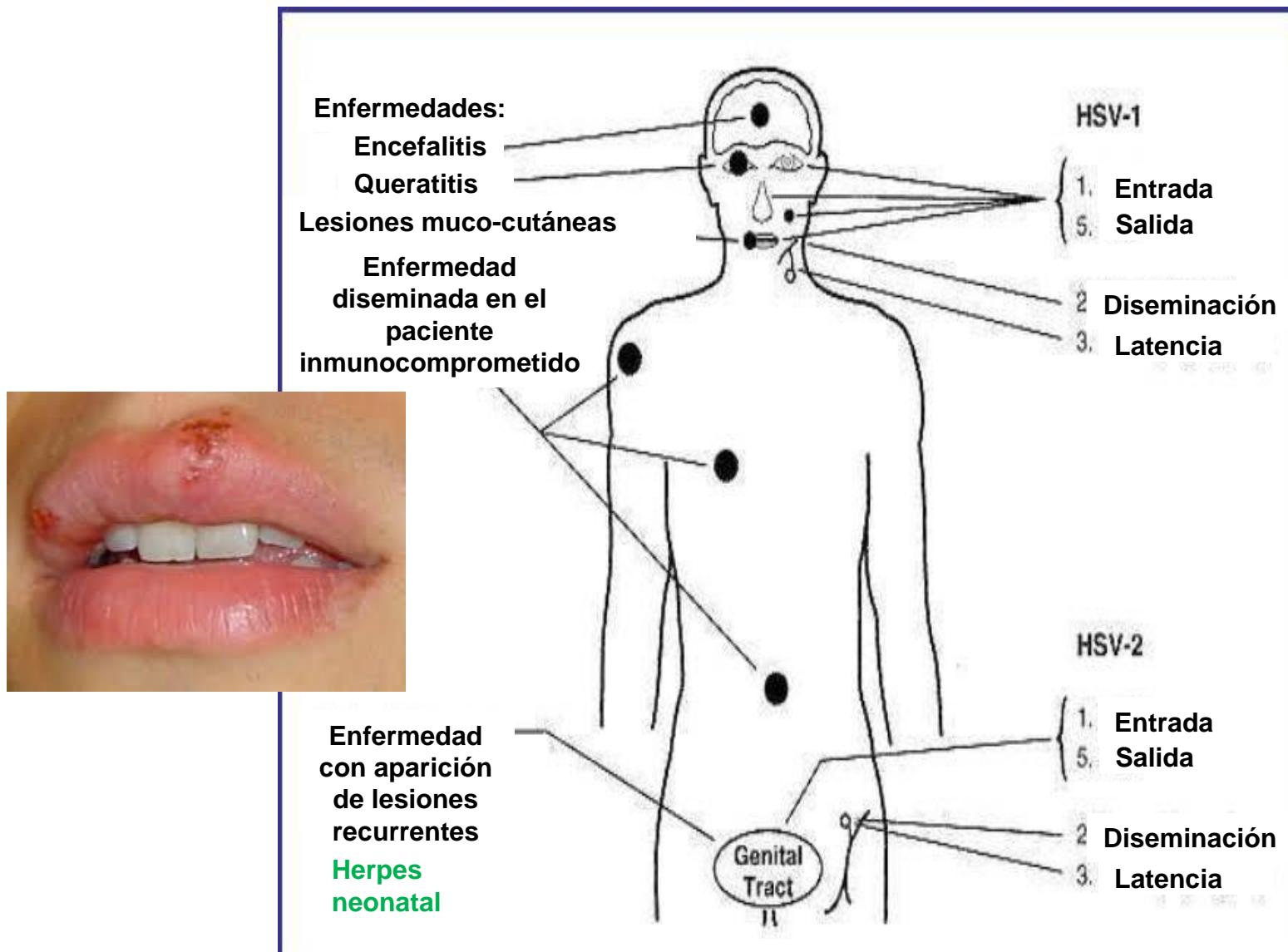
- **ADNdc** lineal en el virión (con extremos palindrómicos) y circular en el núcleo de la célula
 - Cápside icosaédrica
 - **Tamaño genómico:** 150-230 kb
 - **Virus grandes:** Codifican 80-200 productos génicos

COMPARACIÓN DE GENOMAS VIRALES

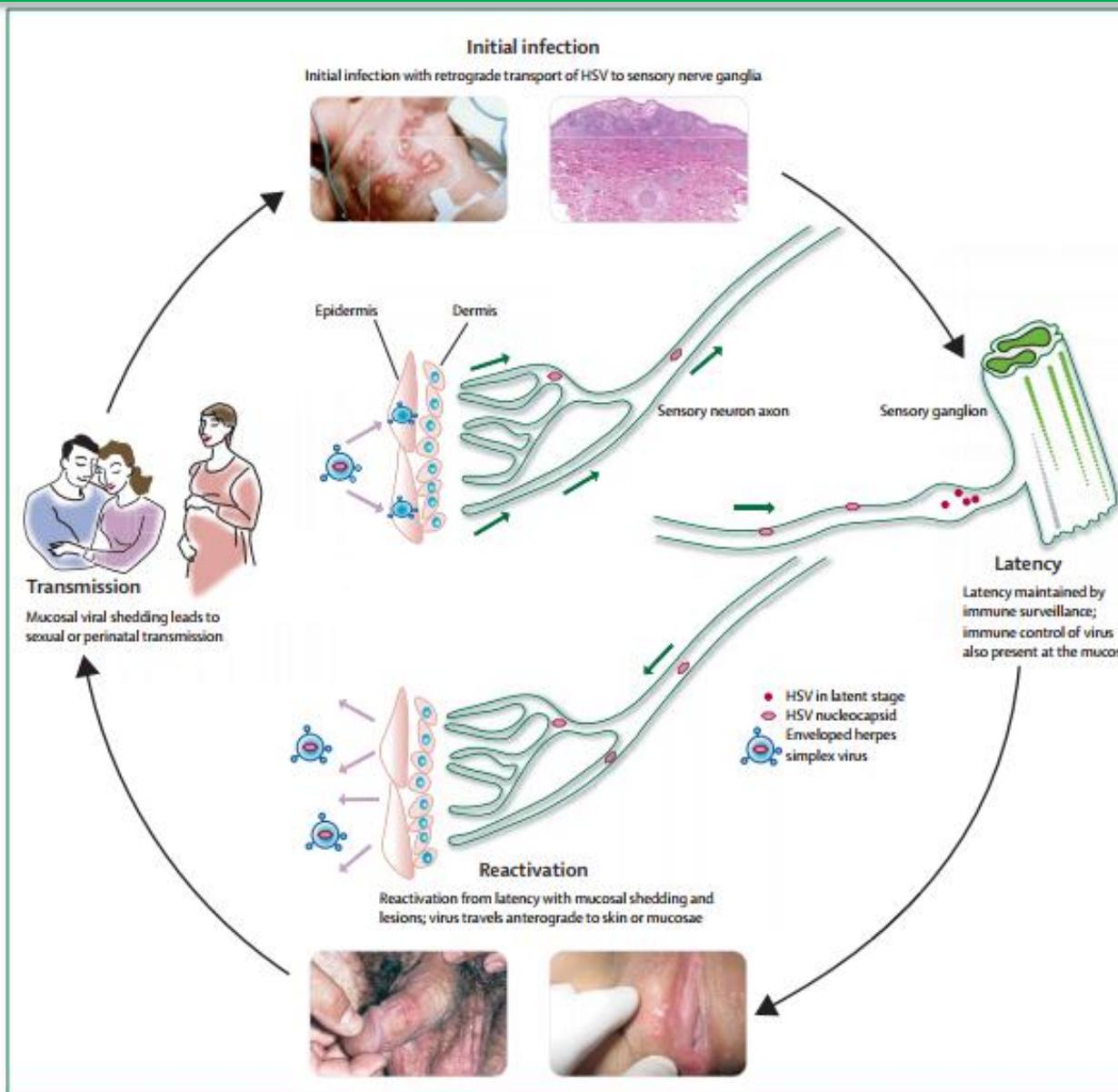


TODOS LINEALES Y CON SECUENCIAS PALINDRÓMICAS QUE
HACEN QUE SE CIRCULARICEN DURANTE LA LATENCIA

VIRUS HERPES SIMPLEX



PATOGENESIS DEL HSV



HSV-1 y HSV-2

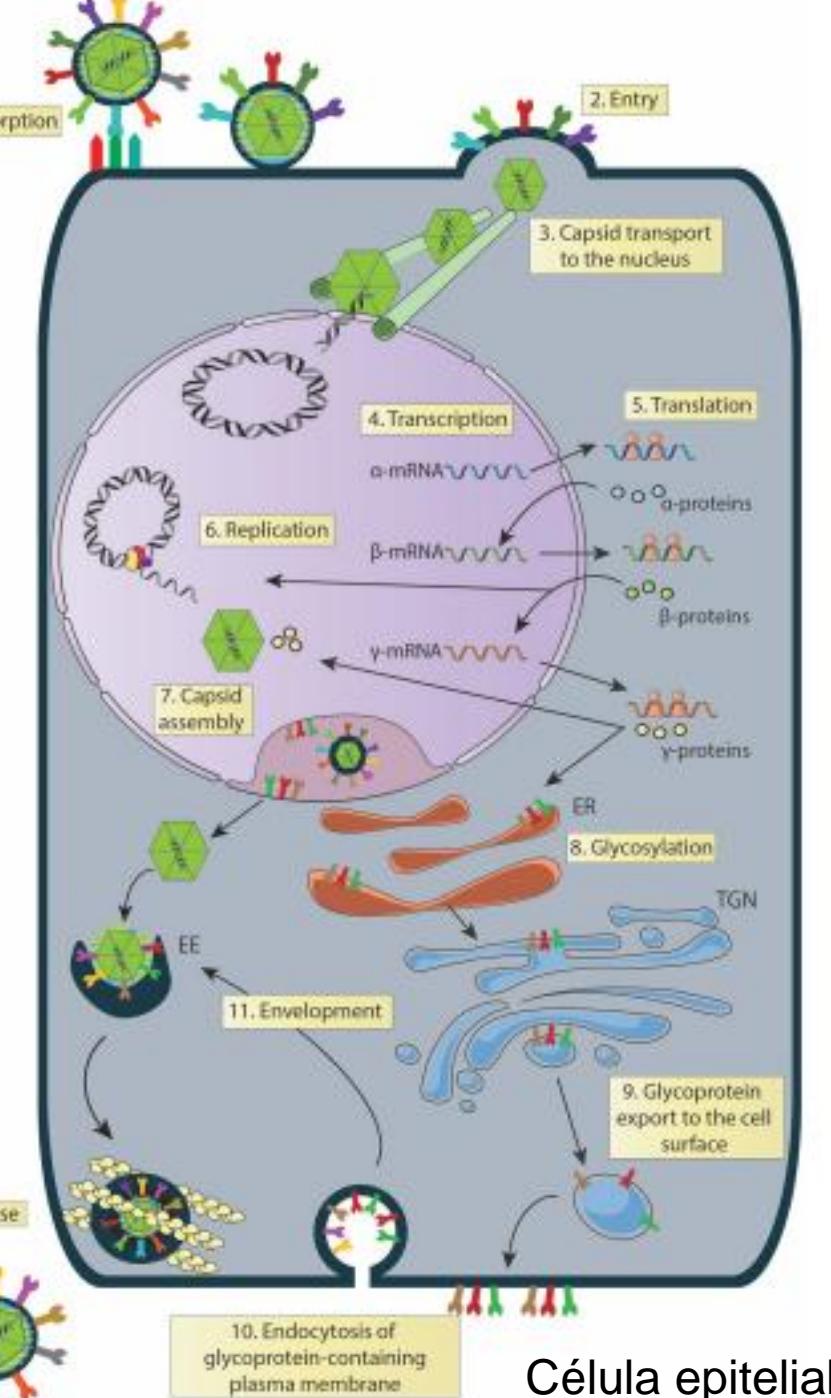
HSV-1	HSV-2
Adquirido habitualmente antes de los 6 años de edad	Adquirido habitualmente luego de un contacto sexual
<ol style="list-style-type: none">1) ~ 50% de homología. Son similares y no presentan diferencias funcionales conocidas.2) Usualmente causan infecciones asintomáticas3) Se diseminan por 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.
- 2- Las re-infecciones por HSV son las que causan complicaciones en la adultez.
- 3- A partir de la vacunación universal, la frecuencia de infección por ambos virus disminuyó significativamente en todo el mundo

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

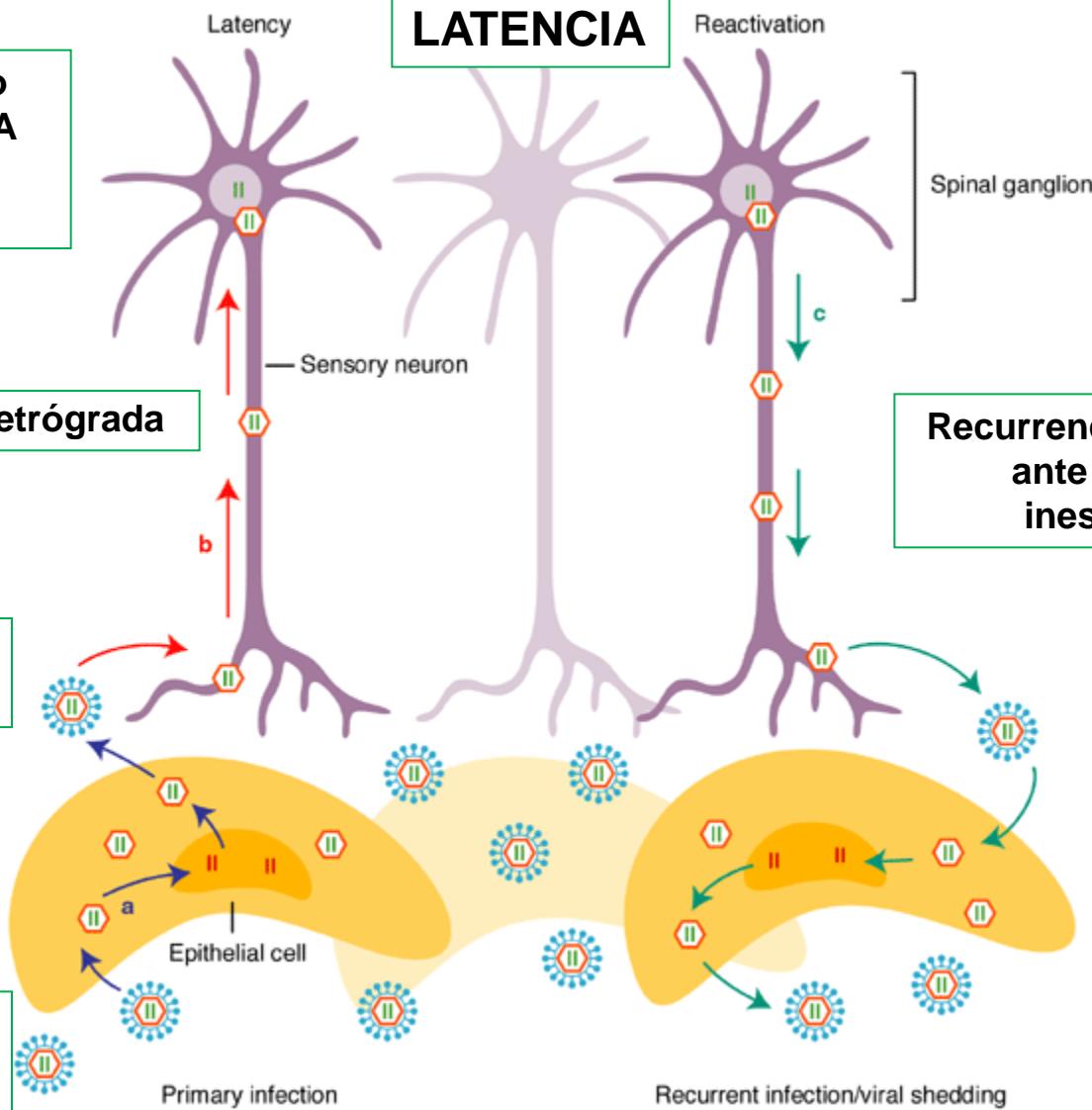
γ = tardías

Proteínas estructurales (cápside, tegumento, envoltura)

PROGRESIÓN DE LA INFECCIÓN

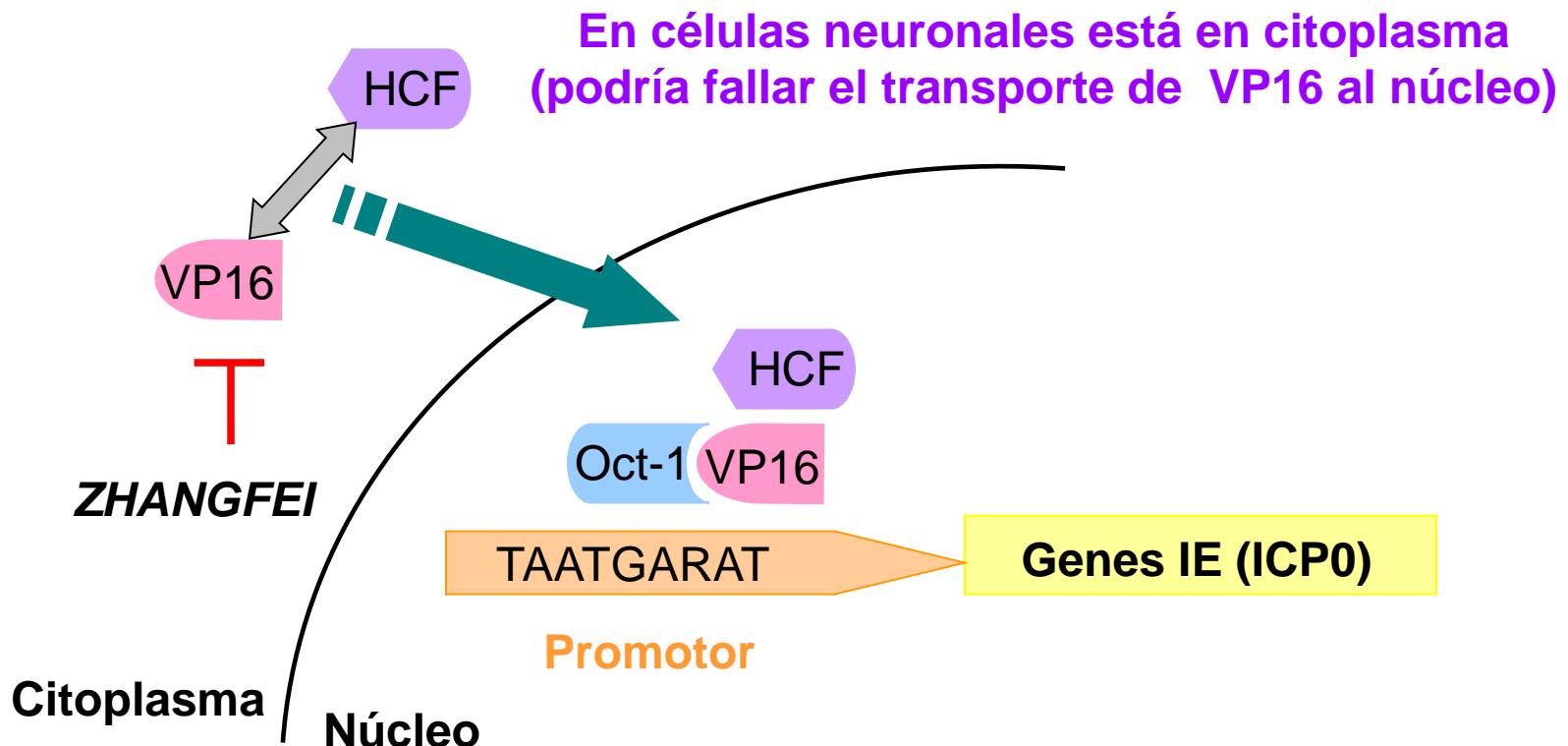
Ubicación en el núcleo neuronal, donde el DNA viral se encuentra en estado episomal

LATENCIA



INFECCIÓN PRODUCTIVA-CÉLULA EPITELIAL

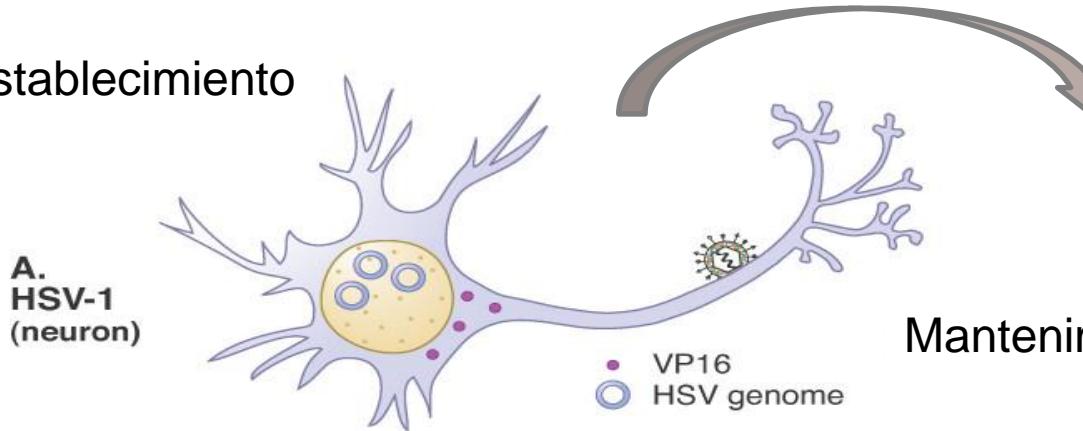
VP16=αTIF: Recluta factores de transcripción celulares y se une a promotores de genes IE → Síntesis de proteínas α (ICP0, ICP4, ICP22, ICP47)



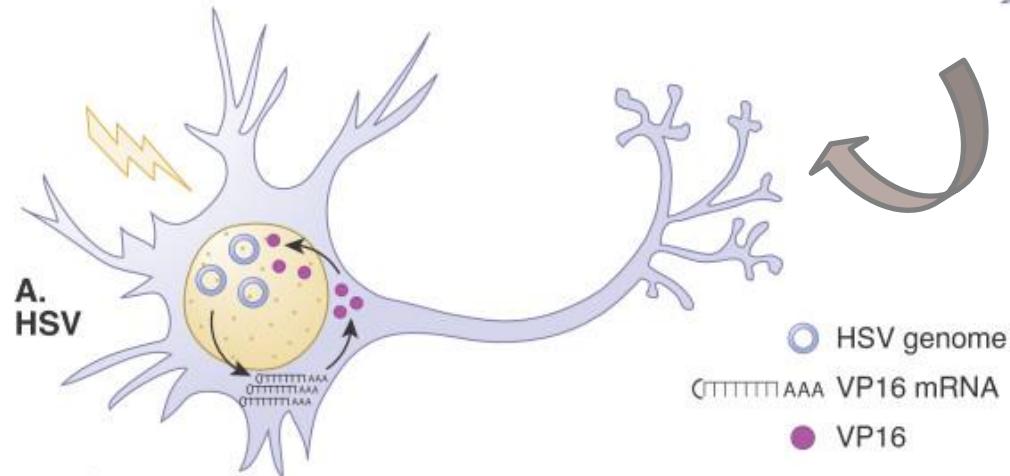
Oct-1: Baja expresión en neuronas, pudiéndose expresar otras proteínas de la familia Oct que compiten con ésta (pero que no pueden interactuar con VP16)

ETAPAS DE LA LATENCIA VIRAL

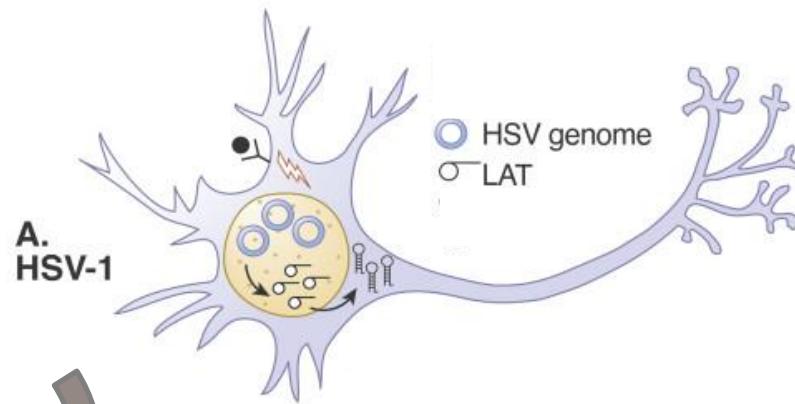
Establecimiento



Reactivación



Mantenimiento



ICP0:

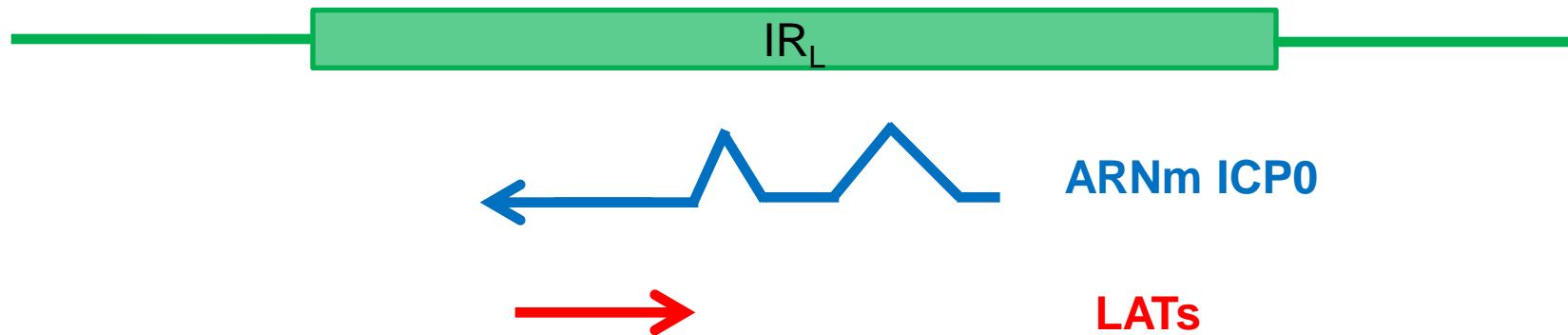
- Favorece la transcripción del genoma
- Induce la degradación de proteínas involucradas en la represión del genoma.

INFECCIÓN LATENTE (NEURONA) MANTENIMIENTO DE LA LATENCIA

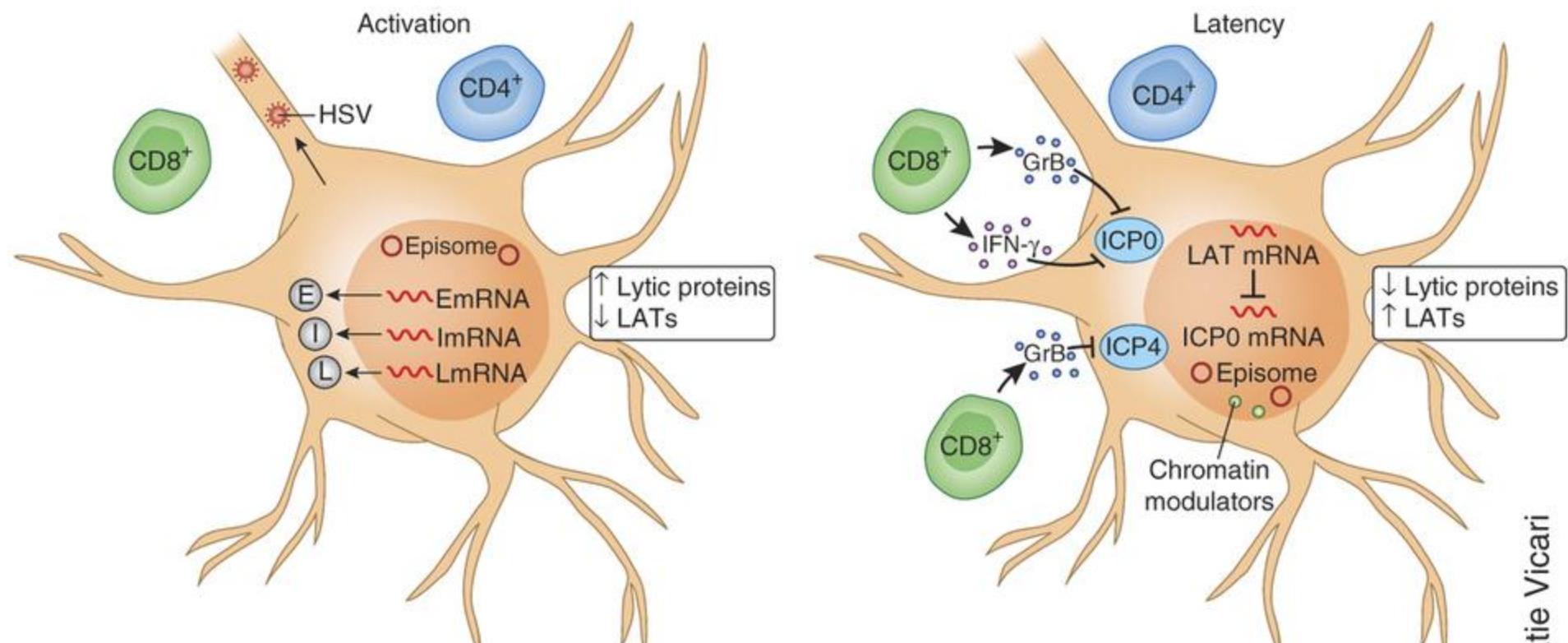
LATs (transcriptos asociados a la latencia):

- 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)

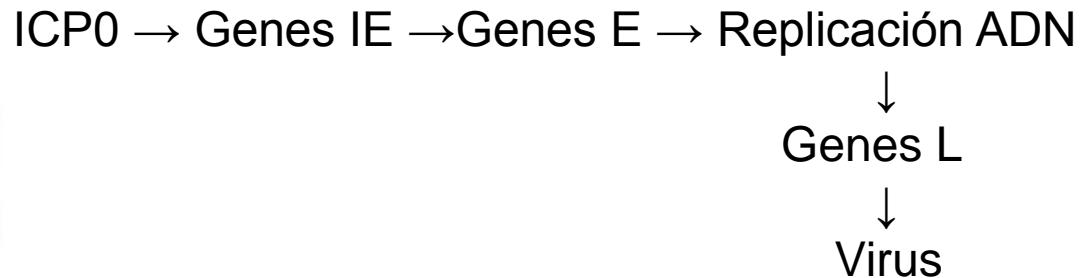
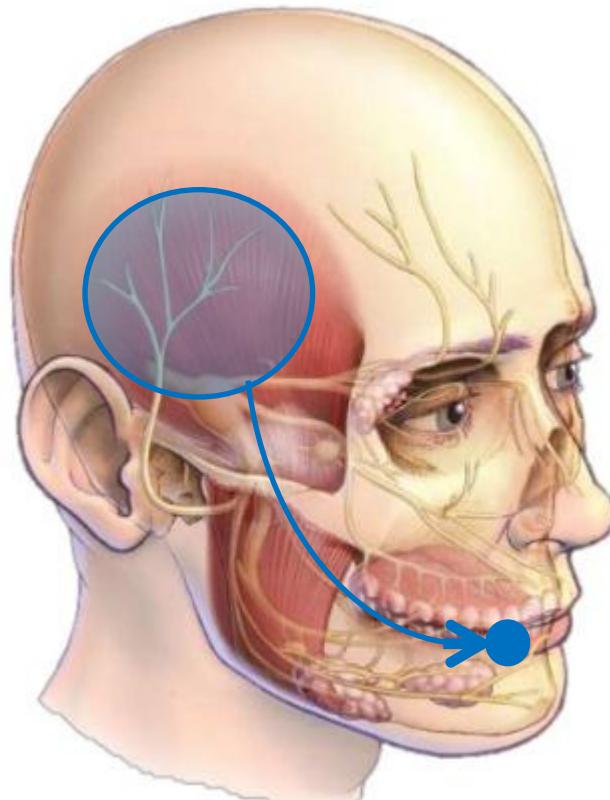
LATs

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.
- 2- La síntesis de proteínas virales en células epiteliales es en etapas temporal y funcionalmente diferentes.
- 3- Los LATs, expresados en células epiteliales, inhiben la apoptosis de éstas células durante los períodos de latencia