

BMM 160 – Microbiologia Básica para Farmácia

Prof. Armando Ventura

Apostila de Virologia

Herpesvírus

Propriedades

Há mais de 130 herpesvirus identificados desde o primeiro isolamento em 1960. Infectam mamíferos, aves, peixes, répteis, anfíbios e moluscos e são agrupados em 13 gêneros. Co-evoluem com as espécies hospedeiras a mais de 200 milhões de anos. A família dos herpesvírus é muito bem adaptada aos seus diversos hospedeiros e apresenta várias características distintas. A grande quantidade de enzimas envolvidas em metabolismo de ácidos nucleicos codificada pelo genoma viral chama a atenção. A replicação do genoma viral e a montagem do capsídeo ocorrem no núcleo, sendo o envelopamento no trânsito através da membrana nuclear e posterior transporte pelo complexo de Golgi. A produção de partículas virais implica em destruição das células no tecido inicialmente infectado, porém, possuem capacidade de latência com o genoma assumindo uma forma circular no núcleo de células alvo específicas (episomo). Os herpesvírus humanos estão presentes em toda população mundial.

Esses vírus possuem genomas de DNA dupla fita linear de 150 a 220 kbp, com grande capacidade de codificar genes quando comparados aos de outros vírus. Os genomas de todos os vírus dessa família apresentam regiões repetitivas nas extremidades e/ou internamente, o que permite o surgimento de formas isoméricas, podendo facilitar eventos de recombinação (**Fig. 1**).

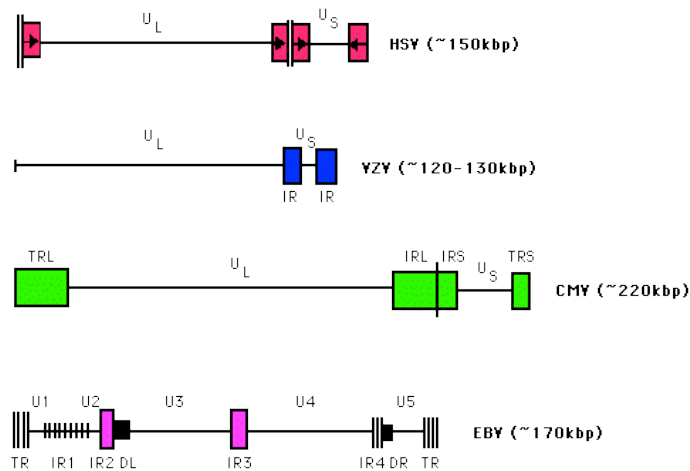


Fig. 1. Regiões repetitivas nos genomas de Herpesvirus (caixas coloridas).

O nucleocapsídeo com 100-110 nm de diâmetro é composto de 162 capsômeros, e tem simetria icosaédrica. Existe um material amorfo em torno do nucleocapsídeo (**Fig. 2**), abaixo do envelope, chamado **tegumento**. O envelope contém glicoproteínas, que formam espículas, sendo que os vírions (partículas completas) têm de 120 a 300 nm de diâmetro, e contêm de 30 a 35 polipeptídeos diferentes. Na superfície do envelope temos várias glicoproteínas (gB, gC, gD, gE, gH/gG e gI) e no nucleocapsídeo várias proteínas compondo os capsômeros (VP5, VP19c, VP23, VP24, VP21, VP22a). O tegumento, por sua vez, contém fatores importantes como o α TIF (*trans induction factor*) e o VHS (*virion host shut-off*), além de outras proteínas. Outros constituintes estão presentes na partícula viral como as poliaminas espermidina (tegumento) e espermina (interior do capsídeo).

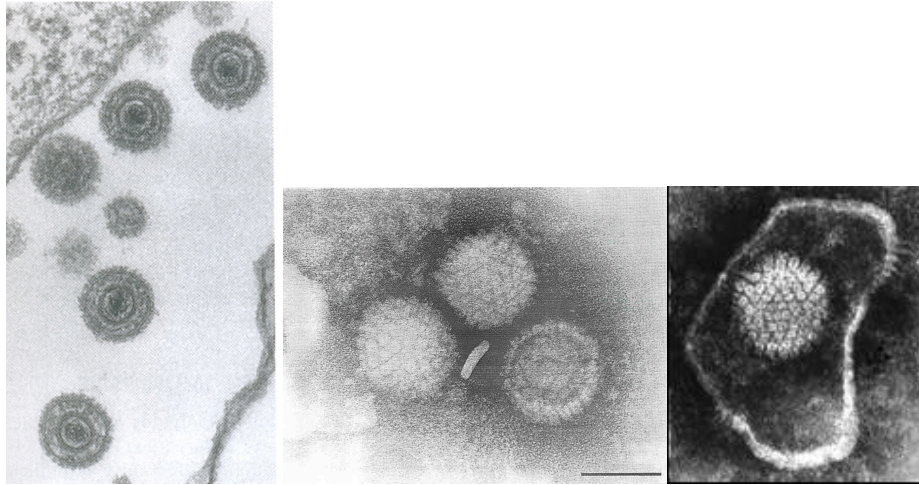


Fig. 2

Replicação

Tendo em mente que a síntese e o processamento das proteínas virais são feitos pela maquinaria celular, obedecendo às suas regras de transporte e modificação pós-tradução, vejamos as etapas da replicação dos herpesvírus numa célula epitelial, infecção produtiva. Essas etapas (baseadas no Herpes Simples 1) estão apresentadas na **Fig. 3**, em que uma célula tem seu núcleo e complexo de Golgi apresentados de forma ampliada. No núcleo a dupla membrana e poros nucleares estão representados. Como acontece para a maioria dos vírus com genoma de DNA de fita dupla, a replicação dos herpesvírus ocorre no núcleo, e está dividida nas etapas precoce (*immediate early*, expressão dos genes alfa), intermediária (*early*, expressão dos genes beta) e tardia (*late*, expressão dos genes gama). Há uma intrincada rede regulatória, de que muito genericamente podemos dizer: os genes alfa estimulam a transcrição dos beta, que reprimem os alfa e estimulam os gama, que reprimem alfa e beta, levando a uma expressão sequencial e coordenada dos genes virais.

O primeiro passo é a adesão do vírus à célula (**Fig. 3**). As glicoproteínas gB e gC estão envolvidas, através de interações com proteoglicanos, heparan sulfato, com a proteína de adesão intercelular fibronectina e com o receptor de FGF (fator de crescimento de fibroblastos). No processo de penetração as glicoproteínas gB e gD promovem a fusão do envelope viral com a membrana citoplasmática, liberando o nucleocapsídeo e as proteínas do tegumento no citoplasma. O capsídeo é transportado através de microtubulos até a proximidade de poros nucleares, sendo o genoma viral injetado no núcleo, aonde é circularizado e permanece em estado episomal, um estado análogo ao dos plasmídeos bacterianos (**Fig. 3**). Duas proteínas importantes do tegumento são a VHS (*virus host shutoff*), que inibe a síntese proteica celular, e a VP16 ou α -TIF (*trans induction factor*), que ativa a transcrição a partir de promotores de genes virais precoces (alfa). A transcrição dos genes virais precoces ocorre porque eles têm em suas regiões regulatórias (promotores) uma sequência de bases consensual, que é reconhecida pela α -TIF. Esses genes determinam a ordem de expressão dos demais genes virais e codificam para as ICPs (*infected cell proteins*).

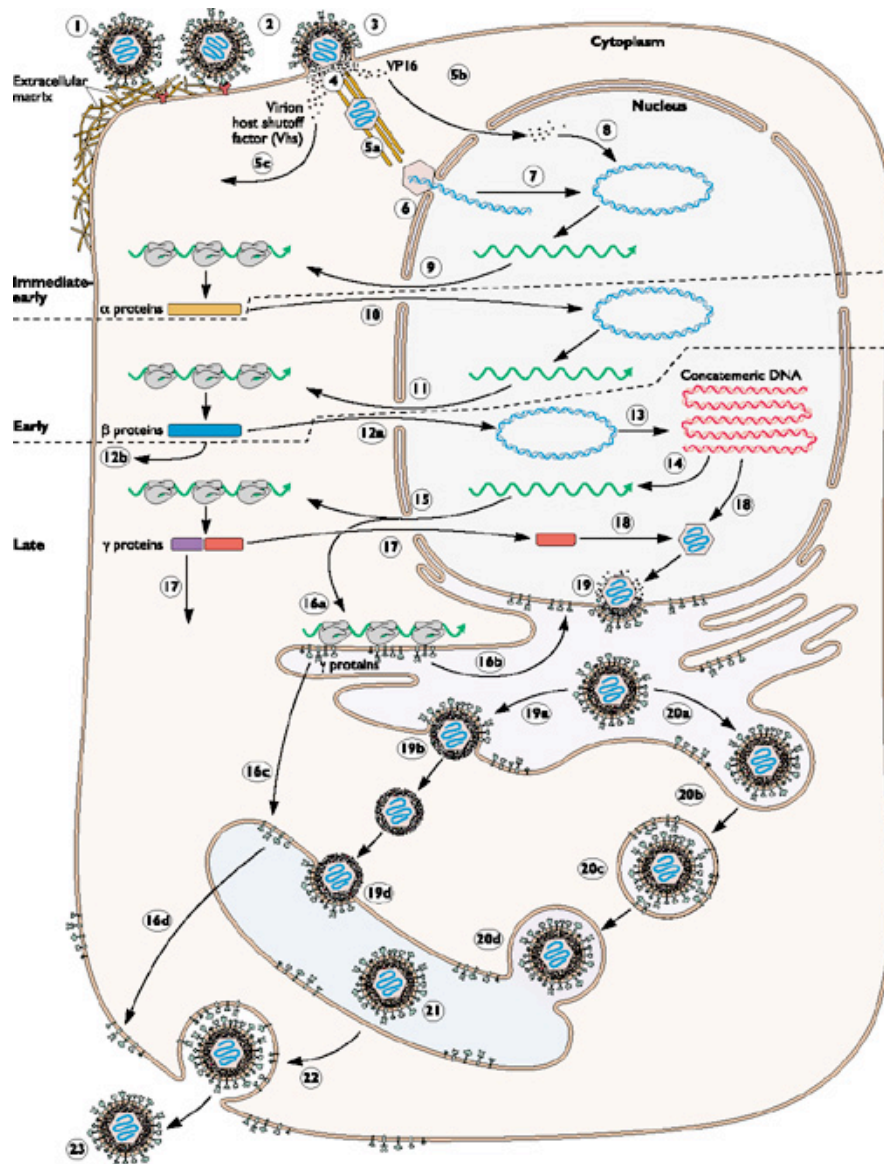


Fig. 3

A transcrição dos genes virais β (intermediários, *early* na fig 3) vai gerar uma série de proteínas envolvidas com a degradação do DNA celular e síntese do DNA viral (ex.: ribonucleotídeo redutase, timidina quinase e DNA polimerase), além da transcrição dos genes virais tardios. A degradação do DNA celular é necessária porque o genoma viral é grande e o metabolismo celular de fornecimento de nucleotídeos não dá conta das necessidades do vírus.

A síntese de DNA viral é feita pela utilização do mecanismo do “círculo rolando” (Fig. 4). Nesse mecanismo ocorre a clivagem do genoma viral em uma das fitas, próximo às extremidades do genoma que estão unidas na forma circular (essas extremidades são compostas de sequências repetitivas). A DNA polimerase viral dá início à síntese, sendo que a fita clivada é estendida. Nesse processo a fita circular vai rolando, servindo de molde para a fita simples recém sintetizada. Essa fita simples vai sendo complementada, resultando num concatamero (várias cópias do genoma seguidas). O empacotamento do DNA viral ocorre por um processo ativo de entrada no nucleocápsídeo (Fig. 5). Sequências das pontas do genoma viral (nas regiões repetitivas) indicam onde deve ocorrer o corte feito por endonucleases presentes no cápsídeo viral.

As proteínas estruturais, do vírion, como as glicoproteínas de envelope gD e gB, a de capsídeo VP5 e o tegumento (produtos dos genes virais tardios) têm que ser transportadas para o núcleo após serem sintetizadas (**Fig. 3**). O nucleocapsídeo, associado às proteínas de tegumento, brota através de regiões da membrana interna do núcleo onde estão posicionadas as glicoproteínas de envelope. Alternativamente o capsídeo pode trafegar pelo retículo endoplasmático, após brotar do núcleo e adquirir o envelope definitivo brotando para dentro da rede trans Golgi. As partículas virais completas são, finalmente, transportadas através do Golgi e liberadas na superfície da célula (**Fig. 3**).

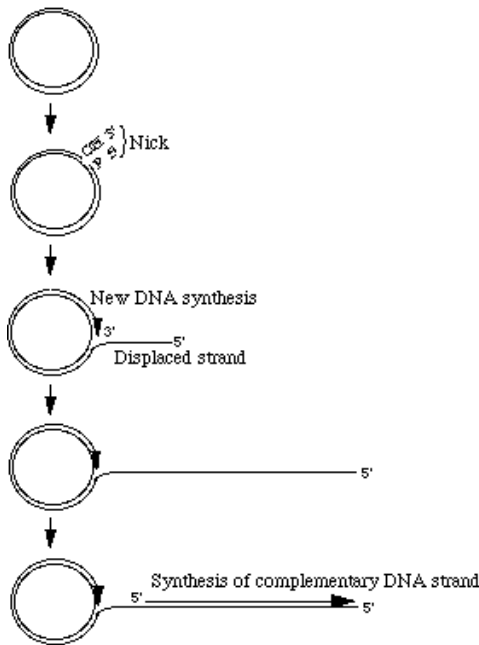


Fig. 4

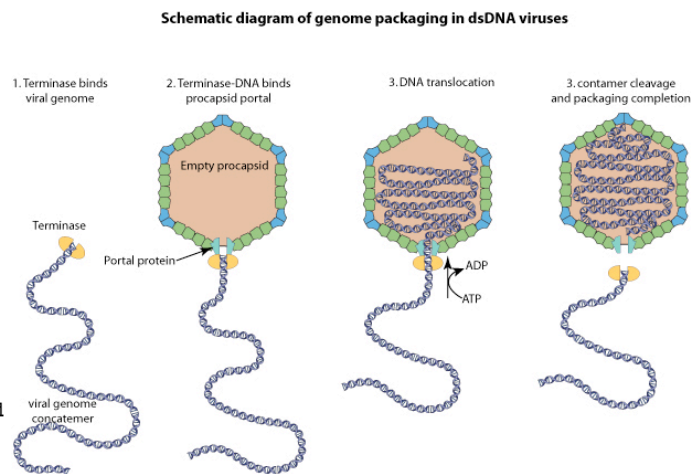


Fig. 5

Tratamento

A terapêutica contra os herpesvirus baseia-se no fato de que as enzimas do metabolismo do DNA viral podem ser alvo de inibição. Vários análogos de nucleosídeos foram e continuam sendo desenvolvidos com essa finalidade. Um deles, o aciclovir, mostrou ter alta afinidade pela enzima timidina quinase viral (TK) em comparação às timidina quinases celulares. Assim, após a adição do fosfato pela TK, as quinases celulares transformam essa molécula em aciclovir trifosfato, para o qual a DNA polimerase viral também tem maior afinidade, incorporando-o à cadeia de DNA que está sendo polimerizada (**Fig. 6**). Como não há o grupo hidroxila 3' para a adição do nucleotídeo seguinte, a síntese do DNA viral é bloqueada. A maior afinidade tanto da TK quanto da DNA polimerase virais pelo aciclovir, torna-o próximo a um fármaco ideal: muito pouco tóxico para o hospedeiro e muito eficiente em bloquear a replicação viral. O tratamento com medicamentos à base de aciclovir (ex.: Zovirax) é mais efetivo para Herpes Simples e Varicela Zoster. O ganciclovir que possui estrutura similar é mais efetivo contra o Citomegalovírus. Outras drogas, também inibidoras da polimerase viral, utilizadas contra os herpesvirus são: famciclovir, valacyclovir, cidofovir, adenina arabinosídeo (ara-A, Vidarabine), idoxuridina, a trifluorotimidina e o foscarnet (**Fig. 7**).

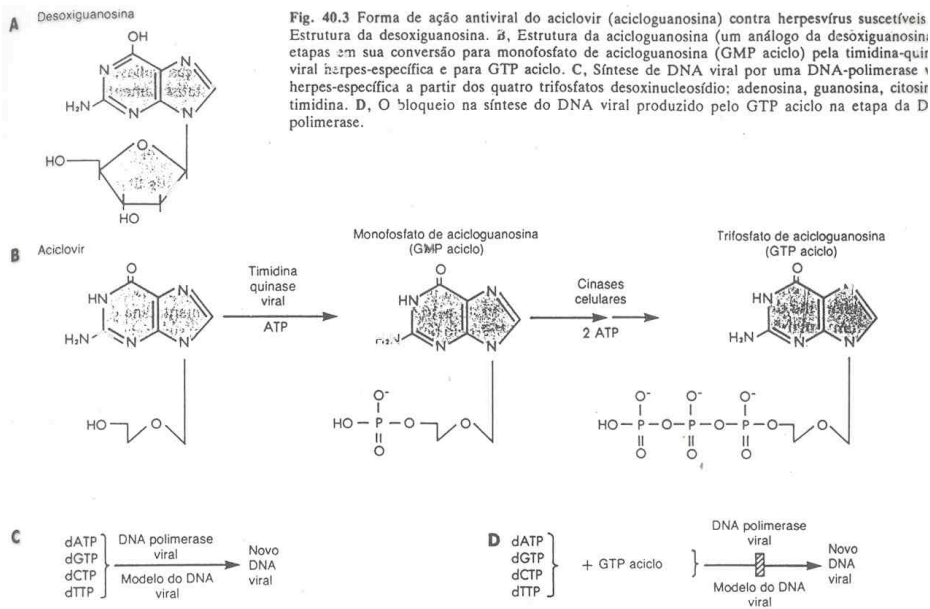


Fig. 40.3 Forma de ação antiviral do aciclovir (acicloguanosina) contra herpesvírus suscetíveis. Estrutura da desoxiguanosina. B, Estrutura da acicloguanosina (um análogo da desoxiguanosina) em sua conversão para monofosfato de acicloguanosina (GMP aciclo) pela timidina-quinase viral herpes-específica e para GTP aciclo. C, Síntese de DNA viral por uma DNA-polimerase 1 herpes-específica a partir dos quatro trifosfatos desoxinucleosídios: adenosina, guanosina, citosina e timidina. D, O bloqueio na síntese do DNA viral produzido pelo GTP aciclo na etapa da D polimerase.

Fig. 6

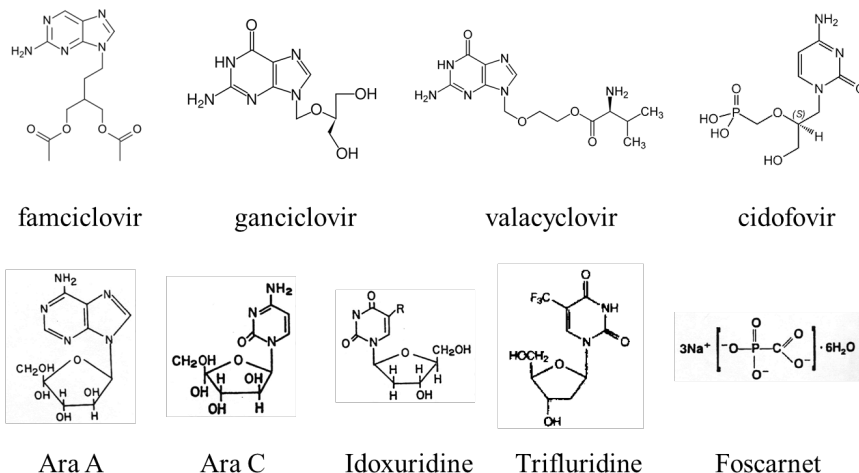


Fig. 7

Latência

A latência é a presença prolongada do genoma viral sem replicação, um fenômeno diferente da persistência (replicação muito lenta) e da transformação maligna. No caso dos Herpes simples (HSVs) e da Varicela Zoster (VZV), após a infecção aguda de células epiteliais, terminais nervosos sensoriais são infectados havendo o transporte dos nucleocapsídeos através dos axônios (**Fig. 8**). O genoma viral se estabelece indefinidamente no núcleo dos neurônios como um epissomo (DNA circular), como por exemplo, no gânglio do nervo trigêmeo que inerva a face e os lábios (HSV1, raramente HSV2). Ao nível molecular esse fenômeno ainda vem sendo caracterizado, sabendo-se que nos HSVs ocorre a expressão dos genes batizados de LATs (referência à latência). O interessante é que esses genes não codificam proteínas, mas sim RNAs estáveis que têm a capacidade de bloquear a expressão dos genes virais.

O re-estímulo do vírus pode ser devido a um desequilíbrio hormonal, estresse (irradiação solar excessiva, distúrbio nervoso) ou queda da resistência do sistema imune. Isso leva à formação de nucleocapsídeos e sua migração através dos axônios para a pele (transporte retrógrado), culminando com novo surto de replicação. Esses surtos são normalmente de 3 a 4, mas podendo chegar a mais de 12, por ano para HSV1 e HSV2. No caso do VZV, cuja infecção primária causa a catapora, a reincidência ocorre em geral em pessoas idosas com o sistema imune debilitado, causando o Zoster (“Shingles”, Fig. 8).

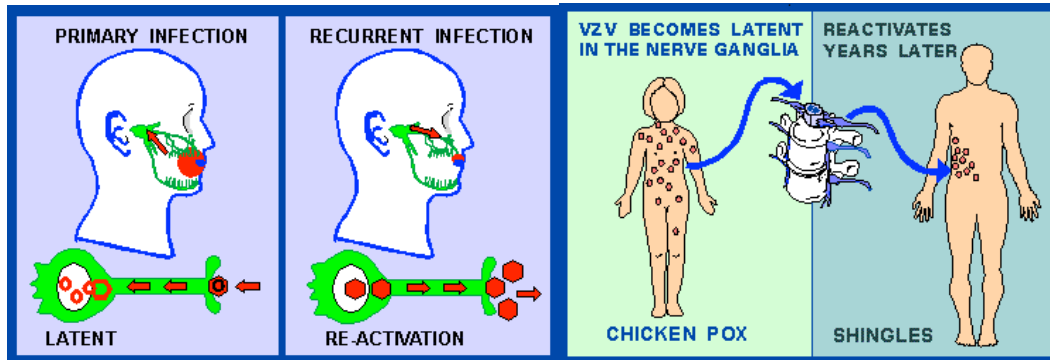


Fig. 8. Latência e reativação.

Doenças causadas pelos herpesvírus humanos

Em termos de **epidemiologia**, a ocorrência desses vírus é universal.

A família Herpesviridae é subdividida em três subfamílias: *Alphaherpesvirinae*, *Gammapherpesvirinae* e *Betaherpesvirinae* (não confundir com as fases da replicação). São diferenciadas por algumas características, sendo no caso dos herpesvírus humanos principalmente as células alvo primárias e o sítio de latência. Numa nomenclatura mais moderna temos herpesvírus humanos numerados de 1 a 8 (HHV1 a 8), sendo: HSV1, HSV2 e Varicela Zoster os HHV1 a 3; Epstein-Barr o HHV4; Citomegalovírus o HHV5. Para os HHV6 a 8 não foram dados nomes especiais. Na subfamília *Alphaherpesvirinae* temos os HHV1 a 3, na *Gammapherpesvirinae* os HHV4 e 8, e na *Betaherpesvirinae* os HHV5 a 7. Utilizaremos a seguir a nomenclatura mais aplicada para cada um deles.

Herpes Simples Humanos dos tipos 1 e 2 (HSV1 e 2)

O modo de transmissão dos HSVs é pelo contato direto (beijo/saliva) e relações sexuais. As portas de entrada são epitélio de membranas mucosas e pele, sendo que nessas células epiteliais ocorre multiplicação eficiente. O HSV1 é adquirido na infância sendo que 2/3 a 3/4 dos adultos têm anticorpos. Já o HSV2 é pouco comum antes da adolescência sendo que 1/6 a 1/2 dos adultos têm anticorpos, no entanto, a prevalência de HSV2 vem aumentando. As infecções mais comuns associadas aos HSVs são o Herpes oral (ou labial, Fig 9), o Herpes genital e as conjuntivites no globo ocular (ver tabela a seguir). Os HSVs podem provocar outras doenças mais graves, porém raras, como encefalites e herpes disseminado ou neonatal, que eventualmente podem ter uma resolução (desaparecimento dos sintomas) sem levar à morte, sendo que para essas doenças não há reincidência. Os HSVs têm como tecido alvo para latência os gânglios nervosos sensoriais (trigêmeo/herpes labial, sacral/herpes genital), o que propicia a reincidência após estímulos como estresse e luz solar em excesso. Imunodeficientes têm risco elevado de sofrer reincidência.



Fig. 9.

Infeção	Herpes tipo	Frequência	Idade	Consequência usual	Reincidência
Oral	1>2	Muito comum	Todas	Resolução	Sim
Genital	2>1	Comum	Adultos e Adolescentes	Resolução	Sim
Ocular	1	Comum	Todas	Resolução	Sim

As drogas de escolha para os Herpes simples são: aciclovir, famciclovir, valaciclovir, idoxuridina, trifluorotimidina, vidarabina (ara-A).

Vírus da Varicela Zoster (VZV)

É transmitido através de inalação e contato direto, tendo como porta de entrada o trato respiratório (células epiteliais como alvo). O VZV causa uma doença muito comum, a catapora (Fig. 10), para a qual existe uma vacina de amplo uso. A latência ocorre, em geral, em gânglios nervosos dorsais, sendo que a recorrência chamada de herpes Zoster (Fig. 11) ocorre raramente, acometendo principalmente indivíduos idosos (tabela abaixo). A sintomatologia do Zoster é muito grave, com dores intensas nos nervos intercostais. Imunodeficientes têm risco elevado de sofrer reincidência.

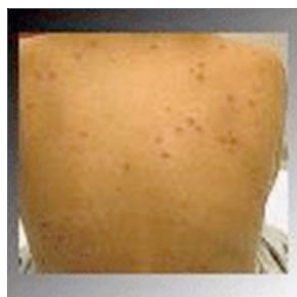


Fig. 10



Fig. 11

Doença	Frequência	Idade	Tecido afetado	Consequência
Catapora	Muito comum	Todas	Principalmente a pele	Resolução, raro ocorrer morte
Zoster (recorrência)	Muito raro	Adultos com idade avançada	Pele e nervos principalmente	Resolução, dor crônica, raro ocorrer morte

As drogas de escolha contra VZV são: aciclovir, valaciclovir e famciclovir.

Vírus Epstein-Barr (EBV)

É transmitido através da saliva e sangue, tendo como porta de entrada o epitélio de membranas mucosas, principalmente orofaríngea. A mononucleose infecciosa é uma doença muito comum (ver tabela abaixo), de sintomatologia leve (febre, mal estar, fadiga, dores de garganta, aumento dos gânglios linfáticos do pescoço), muitas vezes passando despercebida, sendo que mais de 70% da população adulta tem anticorpos contra EBV. As células alvo finais são os linfócitos B presentes na proximidade dos locais de replicação inicial, e em particular nas glândulas salivares (Fig. 12). A latência do EBV é em linfócitos B, em que bloqueiam a apoptose após a expansão clonal. O EBV é associado ao desenvolvimento de tumores importantes: o linfoma de Burkitt prevalente na África (Fig. 13), e o carcinoma nasofaríngeo na Ásia. O genoma viral é encontrado nas células tumorais. Possui a capacidade de imortalizar linfócitos B *in vitro*, propriedade muito explorada no estabelecimento de coleções dessas células.

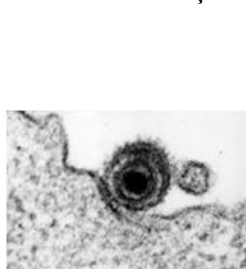


Fig.12



Fig. 13

Doença	Frequência	Idade	Tecido afetado	Consequência
Mononucleose	Muito comum	Todas	Linfonodos e fígado	Resolução
Linfomas Carcinoma	Muito raro	Todas	Linfonodos fígado, baço cérebro	Morte

Tratamento com drogas não é usualmente aplicado contra EBV.

Citomegalovírus (CMV)

O CMV pode estar presente na saliva, sangue, urina e sêmen, tendo como porta de entrada a corrente sanguínea e o epitélio de membranas mucosas, além da via trans-placentária (maior risco se a mãe sofre uma infecção primária durante a gravidez). As células alvo são principalmente os neutrófilos e monócitos. Foi descoberto pela síndrome que provoca na infecção congênita (via trans-placentária), onde o órgão mais afetado é o cérebro dos bebês natimortos. A mononucleose provocada pelo CMV é uma doença comum e com sintomatologia leve. Isso, aliado ao fato de que o CMV faz latência em glândulas secretórias e rins (nos monócitos e linfócitos lá presentes), exige uma vigilância nos casos em que há imunossupressão (ver tabela abaixo). Em especial no transplante de fígado tanto o órgão doado, como o paciente receptor, devem idealmente estar livres desse vírus. À Fig. 14 vemos o efeito citopático do CMV em monócitos no pulmão de um paciente com AIDS (coloração com hematoxilina-eosina). Aidéicos são muito afetados por esse vírus.

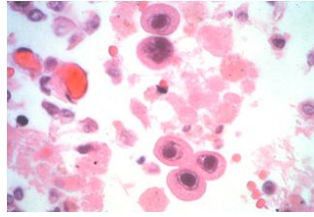


Fig. 14.

Doença	Frequência	Idade	Tecido afetado	Consequência
Mononucleose	Comum	Adolescentes	Linfonodos e fígado	Resolução
Hepatite Pneumonia Retinite	Comum em Imunossuprimidos	Todas	Fígado Pulmão Olhos	Morte ou Cegueira
Infecção Congênita	Pouco comum	Recém-nascido	Cérebro, olhos, Fígado, outros	Problemas no desenvolvimento ou morte

As drogas de escolha contra o CMV são: ganciclovir, forscarnet, cidofovir.

Herpes vírus humanos dos tipos 6, 7 e 8 (HHV6,7 e 8)

O HHV6 (latência em células T) é associado ao exantema súbito ou roséola, doença com evolução benigna, que afeta crianças de seis meses a dois anos (Fig. 15). Já o HHV7 (latência em células T) foi isolado junto com o HHV6, sendo pouco conhecido e não havendo patologia claramente a ele atribuída. O HHV8 (latência em linfócitos B) é associado a sarcoma de Kaposi em pacientes aids, sendo o genoma viral encontrado nas células tumorais (Fig. 16). Tratamento com drogas não é usualmente aplicado contra esses vírus.



Fig. 15



Fig. 16

Diagnóstico, prevenção e defesas do hospedeiro.

O diagnóstico dos herpesvírus pode ser feito pelo isolamento em cultura de células, porém é demorado e pode falhar. Há várias técnicas de imuno-diagnóstico aplicadas a esses vírus (ELISA, imunofluorescência), e procedimentos mais rápidos que somam a inoculação em cultura celular e imuno-diagnóstico. As técnicas de detecção de ácidos nucleicos, principalmente PCR, desempenham um papel relevante em diagnóstico.

A prevenção tem como regra, especialmente para os HSVs, evitar contato durante as crises. Para o vírus da Varicela Zoster pode ser feito tratamento com imunoglobulina (anti VZV), após a exposição, lembrando que somente para este herpesvírus há vacina disponível (catapora).

Os anticorpos aparecem em poucos dias após a infecção, porém há reservatórios protegidos, como os neurônios ganglionares no caso dos HSV e VZV, e outras células no caso dos demais herpesvírus. Isso é devido ao fenômeno da latência, marca característica dos herpesvírus. A resposta imune humoral parece não ser fundamental, pois pacientes agamaglobulinêmicos respondem bem à infecção. A resposta imune celular tem o papel mais importante no combate aos herpesvírus, e com a sua menor eficiência (devido ao aumento da idade ou imunodeficiência) há a reincidência, como para o VZV causando o Zoster. Em termos de respostas inespecíficas, o interferon é mais eficiente contra o VZV do que contra os demais herpes.