

BMM 160 – Microbiologia Básica para Farmácia
Prof. Armando Ventura
Apostila de Virologia

Histórico

Os vírus são virtualmente capazes de infectar todos os organismos vivos, e tiveram um grande impacto na evolução devido à sua habilidade intrínseca de transferir seus genomas para as células hospedeiras. Devido à sua grande diversidade não é viável estudarmos todas essas famílias no espaço reservado aos vírus dentro do programa deste curso. Optamos por abordar apenas os vírus que infectam animais, e mais especificamente alguns dos que infectam humanos causando doenças, por considerá-los de maior interesse ao curso de Farmácia.

Os registros de doenças provocadas por vírus fazem parte da história da humanidade. Lápides datadas de aproximadamente 1400 aC, descrevem a sintomatologia da poliomielite (Fig1). O faraó Ramsés V sobreviveu à varíola, o que é testemunhado claramente pelas marcas das lesões (pústulas) (Fig2) deixadas em sua pele e conservadas pela mumificação (Fig3). Com o correr do tempo aprendemos a lidar com essa terrível doença, tendo sido inventada a técnica da variação aproximadamente 1000 aC na China. O aperfeiçoamento dessa técnica com a utilização de um vírus de bovinos levou ao desenvolvimento da primeira vacina da história pelo médico inglês Edward Jenner em 1796. Comentaremos esse fato em maior detalhe na aula sobre vacinas virais.



Fig1



Fig2



Fig3

Por volta de 1880, Louis Pasteur e Robert Koch haviam estabelecido bases sólidas associando micróbios e doenças. Porém havia uma série de doenças que não preenchiam os postulados de Koch (agente patogênico presente em todos os casos; passível de isolamento *in vitro*; reproduz a doença em indivíduos suscetíveis saudáveis; e destes é possível recuperar o mesmo agente). Na tentativa infrutífera de cultivar o agente causal da raiva, Pasteur utilizou o termo vírus (termo do Latim que significa veneno) para referir-se a essa categoria de patógeno, e que acabou prevalecendo até hoje.

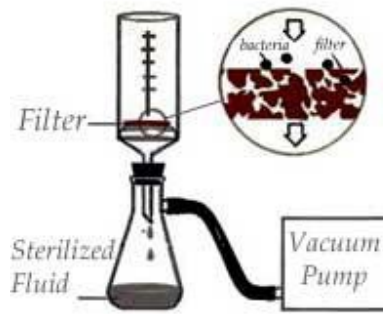


Fig4

Mais tarde uma evolução técnica possibilitou esterilizar soluções por filtração, com filtros de vidro poroso (Fig4). Esses filtros eram capazes de reter bactérias, mas havia alguns agentes patogênicos que passavam e eram capazes de provocar doença, porém não cresciam nos meios de cultura. Esses agentes passaram a ser chamados de vírus em analogia às observações de Pasteur. O primeiro a ser caracterizado dessa forma foi um vírus de plantas, que provoca o mosaico do tabaco (Fig5), pelo cientista Dmitri Iwanowski em 1892 dando início à Virologia. Esse resultado foi confirmado em 1898 por Martinus Beijerinck, que afirmou na sua publicação ser o Vírus do Mosaico do Tabaco um “germe solúvel, associado ao protoplasma vivo das células”.



Fig5

Essa afirmação é surpreendentemente próxima a uma definição mais moderna do que são os vírus. Uma série de agentes foi sendo caracterizada como pertencente a essa categoria de patógenos filtráveis, como a doença dos pés e boca que afeta bovinos em 1898 (Loefer e Froch) e a poliomielite humana em 1909 (Landsteiner e Popper). Entre 1915 e 1917 foram identificados vírus que infectam bactérias (bacteriófagos) por Twort e d’Herelle. Esses dois cientistas tentaram utilizar bacteriófagos na terapia de doenças causadas por bactérias, e só recentemente foi mostrada a viabilidade dessa abordagem. Com o modelo bactéria-bacteriófago também foi possível acumular o conhecimento que hoje é a base da Biologia Molecular.

O desenvolvimento da Microscopia Eletrônica possibilitou a primeira visualização de um vírus, o do Mosaico do Tabaco em 1937, pelo pesquisador d’Herelle, o que veio revolucionar a virologia. Finalmente o desenvolvimento das culturas de células animais por Gey, Eagle e Enders entre 1948 e 1955, possibilitou um estudo mais detalhado dos vírus animais.

Definição e propriedades dos vírus

Os vírus são muito pequenos (20 a 300 nm de diâmetro) possuem apenas um tipo de ácido nucléico, são desprovidos de estrutura celular, não crescem, não metabolizam, não sofrem divisão, são inertes fora de células vivas, são parasitas intracelulares obrigatórios. O mecanismo de origem dos vírus é polêmico. Seriam componentes celulares que adquiriram um invólucro protéico e tornaram-se autônomos? Seriam formas primitivas de vida ou moléculas primitivas auto-replicativas? Seriam produto da involução de simbioses intracelulares? Podemos ficar num meio-termo, admitindo que não possuem origem única, e provavelmente evoluíram com seus hospedeiros.

Dois cientistas laureados com o premio Nobel, Luria e Darnell, nos dão uma definição bem concisa e completa de vírus: “Vírus são entidades cujo genoma é composto por DNA ou RNA, que se reproduzem dentro de células vivas e usam sua maquinaria para efetuar a síntese de partículas especializadas, os vírions, que contêm o genoma viral e o transferem para outras células”. Na tabela a seguir temos uma comparação entre vírus e células.

Propriedades	Vírus	Células
Tipo de ácido nucléico	DNA ou RNA nunca ambos	DNA e RNA
Proteínas	Poucas	Muitas
Membrana lipoprotéica	Envelope presente em alguns vírus	Membrana presente em todas as células
Ribossomos	Ausentes	Presentes
Mitocôndrias	Ausentes	Presentes
Enzimas	Nenhuma ou poucas	Muitas
Multiplicação por fissão binária ou mitose	Não	Sim

A composição química dos vírus quanto aos ácidos nucléicos (genoma) pode ser DNA ou RNA. Quando DNA se apresenta como fita dupla ou fita simples, linear ou circular. Quando RNA o genoma pode ser constituído por uma ou mais de uma molécula (segmentado), e também se apresenta como fita dupla ou fita simples, linear ou circular. As proteínas codificadas pelo genoma viral são divididas em estruturais e não estruturais. As estruturais têm as funções de proteção do genoma e reconhecimento da célula, sendo que algumas apresentam atividades enzimáticas. As não estruturais apresentam atividades enzimáticas (polimerases, proteases, promotoras de modificações pós tradução) ou atuam na regulação da expressão gênica tanto do próprio vírus como da célula hospedeira. Os lipídios são provenientes das membranas celulares e compõem o envoltório ou envelope. Os açúcares, presentes nas proteínas de envoltório provêm de glicosilação feita pela célula hospedeira.

Ao nos referirmos aos vírus, a unidade de medida utilizada é o nm (10^{-9} m). O tamanho das partículas virais é muito variado, indo para os vírus animais dos 30 nm (poliovírus) aos 300

nm (vaccínia e varíola) de diâmetro. Um caso especial é o dos filovírus que podem atingir 970 nm (Ebola), porém o que se considera é o comprimento de seu vírion contendo múltiplas cópias do genoma, e não o diâmetro. Na Fig6 temos um esquema comparando representações de uma pequena bactéria (Clamídia) com 1500 nm, E. coli com 3.000 nm e uma hemácia com 10.000 nm, com diferentes vírus.

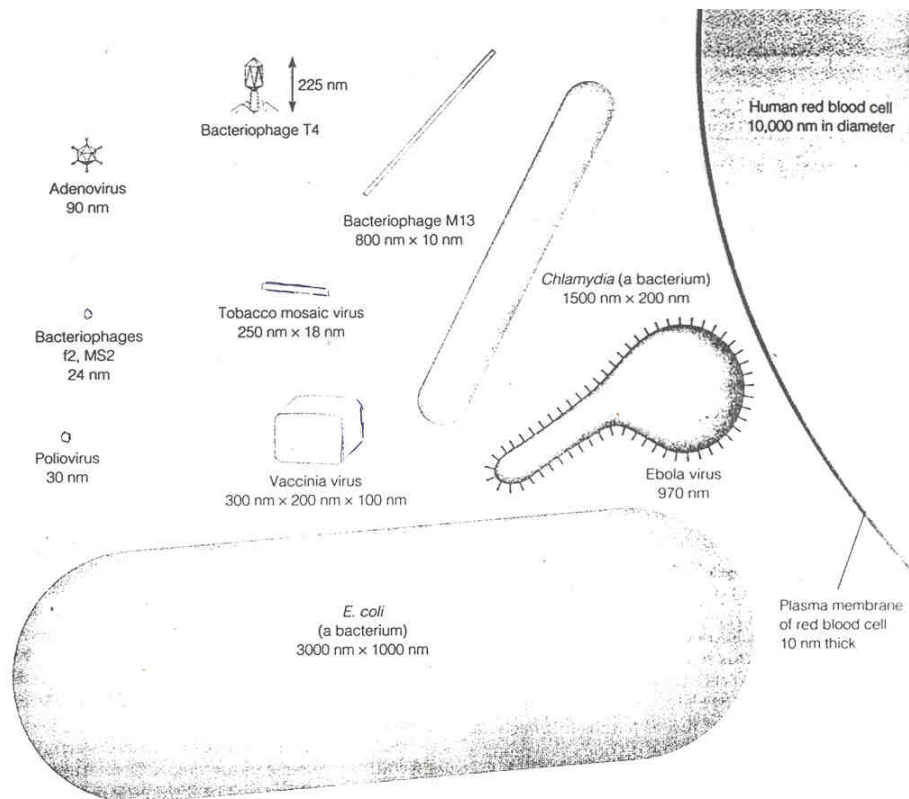


Fig6

Finalmente, devemos comentar que têm sido descobertos vírus de amebas que fogem ao padrão usual, por serem muito maiores tanto em tamanho das partículas quanto dos genomas, que são de DNA de fita dupla. Os Mimivírus descobertos em 1992 e os Megavírus em 2010 têm genoma em torno de 1,2 milhões de pares de bases. Duas espécies recém-descritas (2013), batizadas de Pandoravírus têm genomas com 1,9 e 2,5 milhões de pares de bases. A maior parte desses genomas não é funcional, e podemos especular que está sendo detectado um momento da co-evolução desses vírus e seus hospedeiros, e que esses vírus sofrerão uma redução desses genomas.

Estrutura dos vírus

Um princípio básico da estrutura das partículas virais é a proteção do genoma pelo capsídeo viral. Os capsídeos são constituídos por proteínas virais com propriedades de auto reconhecimento, o que propicia a formação de complexos chamados protômeros, que formam

aglomerados visíveis à microscopia eletrônica, chamados capsômeros. Ao conjunto de capsômeros que engloba o genoma viral dá-se o nome de capsídeo (Fig7).

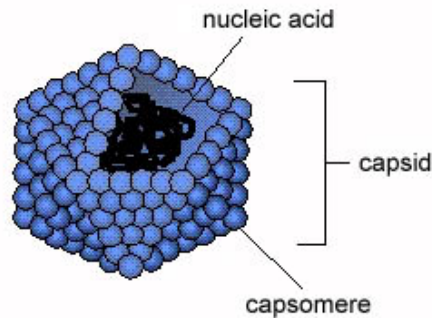


Fig7

As partículas virais podem ser formadas por capsídeos não envelopados, como é o caso dos adenovírus (Fig7) ou envelopados como os herpesvírus (Fig8). No caso dos vírus envelopados o capsídeo passa a ser chamado de nucleocapsídeo. Os envelopes virais, derivados da membrana citoplasmática celular, sempre contêm glicoproteínas virais ancoradas que podem formar espículas visíveis à microscopia eletrônica. Essas glicoproteínas têm a função principal de reconhecer um receptor na superfície da célula alvo da infecção, mas podem ter também a propriedade de promover a fusão de membranas ou carregar atividades enzimáticas.

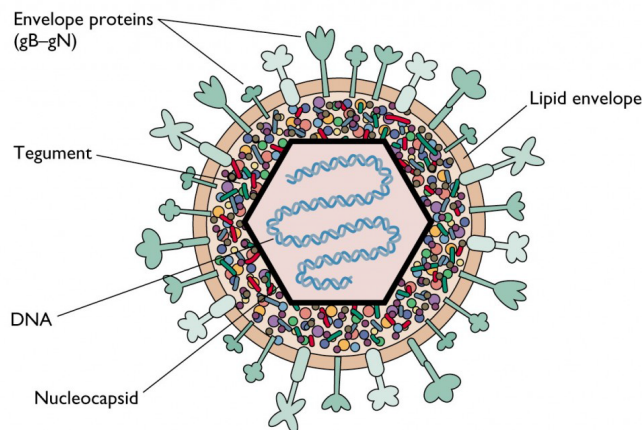


Fig8

A estrutura da maioria dos vírus pode ser enquadrada em duas formas genéricas ou tipos de simetria, a icosaédrica e a helicoidal. Na simetria icosaédrica há uma tendência das proteínas estruturais desses vírus a agruparem-se formando um icosaedro (ou uma estrutura similar, Fig9b) que protege o ácido nucléico viral. Um parâmetro importante para a definição da simetria icosaédrica é encontrar os eixos de simetria característicos desse poliedro de vinte faces triangulares (Fig9a). A simetria icosaédrica é observada, por vezes com perfeição, à microscopia eletrônica e reflete a estabilidade do icosaedro, como exemplificado pelos adenovírus e herpesvírus à figura 10.

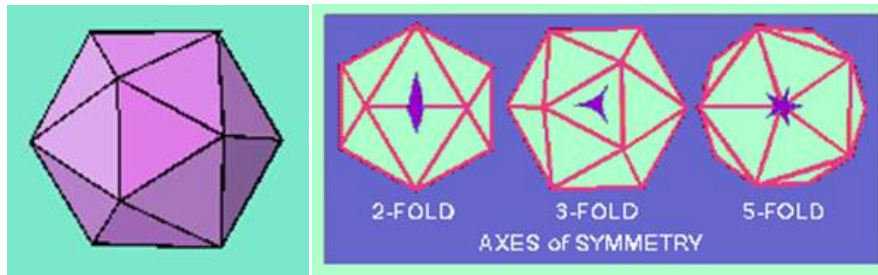
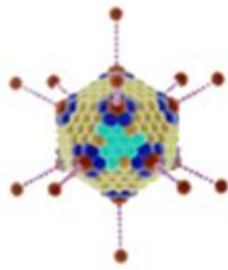


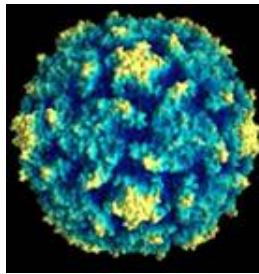
Fig9a

Icosaedro

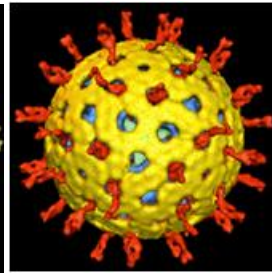
Eixos de simetria



Adenovírus



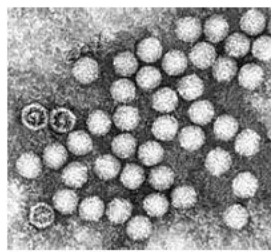
Poliovírus



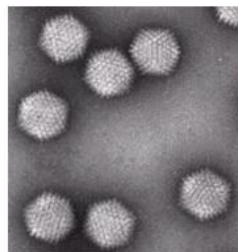
Rotavírus

Fig9b

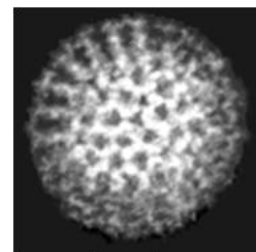
Modelos de vírus icosaédricos



poliovírus



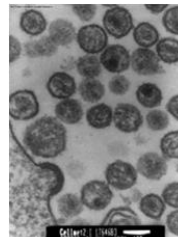
adenovírus



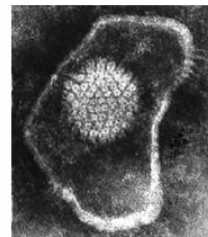
rotavírus



papilomavírus



HIV



herpesvírus

Fig10. Micrografias eletrônicas de vírus icosaédricos

Já na simetria helicoidal, as proteínas do capsídeo interagem mais diretamente com o ácido nucléico, formando estruturas em forma de “molas” com graus variados de compactação. À figura 11a está apresentado um modelo detalhado do vírus do mosaico do tabaco, cujo genoma de RNA simples fita está associado a um único tipo de proteína de capsídeo, formando uma estrutura rígida e bem compacta. Já no caso dos vírus animais, esse capsídeo é mais flexível e na grande maioria dos casos é circundado por um envelope (Fig11b), sendo, portanto um

nucleocapsídeo. À microscopia eletrônica os vírus com simetria helicoidal apresentam uma grande diversidade de formas (Fig12).

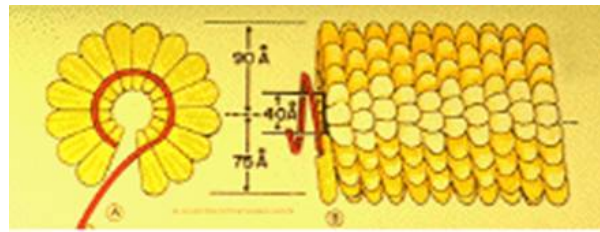


Fig11a. Modelo de vírus do mosaico do tabaco.

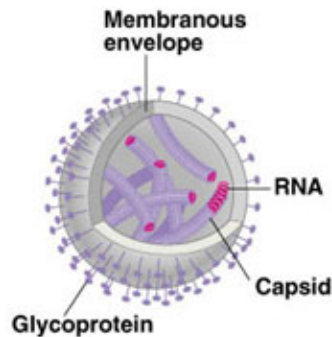
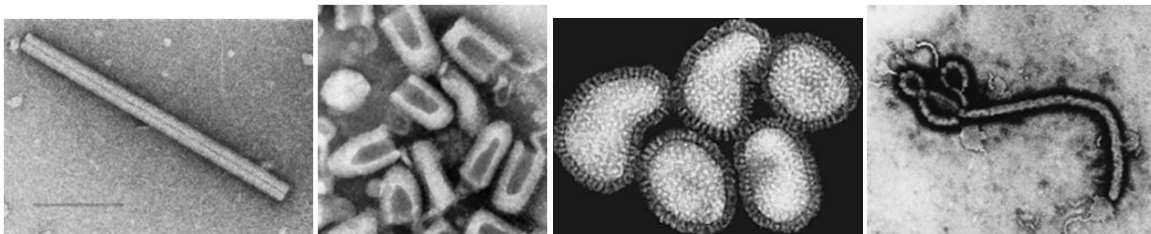


Fig11b Em vírus animais temos capsídeos de simetria helicoidal envelopados



Mosaico do tabaco

Raiva

Influenza

Ebola

Fig12. Micrografias eletrônicas de vírus com simetria helicoidal

Em resumo, podemos ter vírus com simetria icosaédrica não envelopados ou envelopados, e vírus com simetria helicoidal não envelopados ou envelopados (Fig13).

Finalmente, devemos nos referir aos vírus cuja estrutura não é nem icosaédrica, nem helicoidal. São chamados de vírus com simetria complexa pois não se encaixam nos padrões descritos acima. À figura 14 temos apresentadas as micrografias eletrônicas e respectivos modelos de dois vírus com estruturas bem diversas que são ditos de simetria complexa, o bacteriófago T4 com “cabeça, talo e caudas” (o genoma de DNA dupla fita fica empacotado na cabeça), e o vírus da varíola (genoma de DNA dupla fita fica no centro da estrutura com dois envelopes).

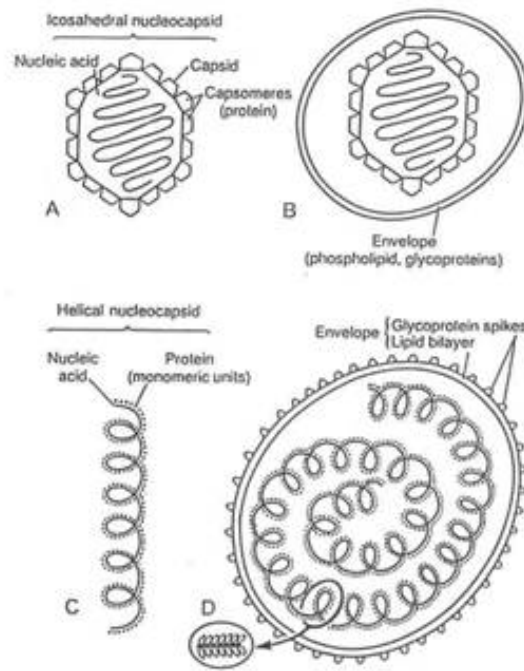
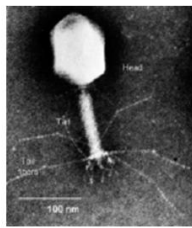
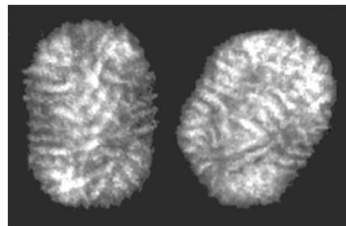


Fig13



Bacteriófago T4



Poxvirus

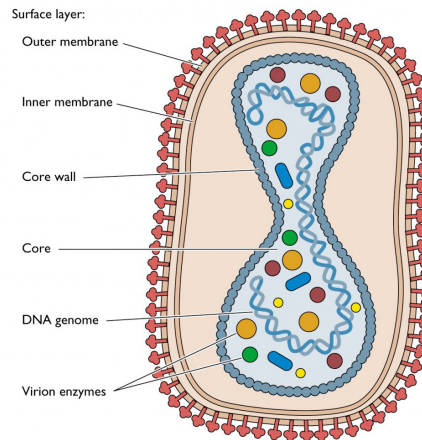
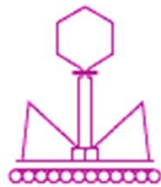


Fig14. Simetria Complexa

Classificação dos vírus

As famílias de vírus podem ser separadas por apresentarem genomas compostos por RNA ou DNA. À Fig15 (“Fig. 5” abaixo) temos uma representação esquemática da diversidade morfológica apresentada por essas famílias.

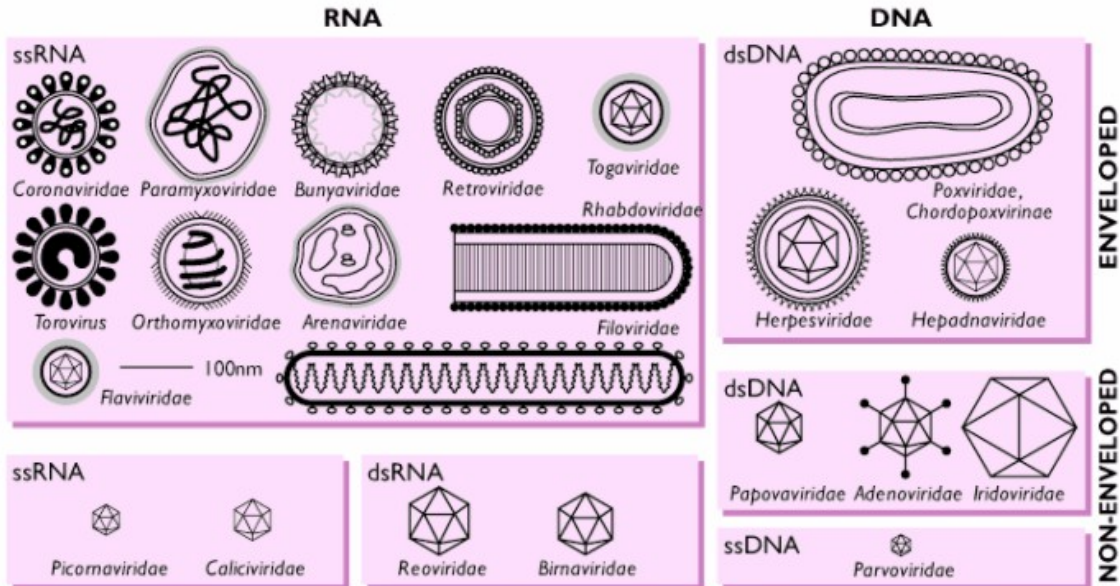


Fig. 5 Diagrammatic representation of the families of viruses infecting vertebrates, grouped according to the nature and strandedness of their genome and the presence or absence of an envelope. Reproduced with permission from Springer-Verlag.

Fig15

Os critérios inicialmente utilizados para a classificação dos vírus baseavam-se principalmente na sintomatologia, o que provocava muitos erros. Uma forma mais adequada é classificar segundo o hospedeiro: vírus de vertebrados, de invertebrados, de plantas, de bactérias (Bacteriófagos) e de fungos (Micovírus). Porém como a quantidade de famílias identificadas é grande, critérios adicionais foram necessários. Estabeleceu-se a partir de 1966 o Comitê Internacional de Taxonomia de Vírus (ICTV), que se reúne periodicamente para atualizar a classificação dos vírus. Atualmente utilizam-se propriedades biológicas, físicas e químicas, para a taxonomia viral, na seguinte ordem:

- Tipo de ácido nucléico e similaridade de seqüência
- Morfologia
- Presença de enzimas no vírion
- Suscetibilidade a agentes físicos e químicos
- Propriedades imunológicas
- Vias de transmissão
- Tropismo
- Patologia ao nível tecidual
- Sintomatologia

Seguindo esses critérios, a gama de vírus que infecta os organismos pode ser então distribuída numa “Virosfera” (Fig16).

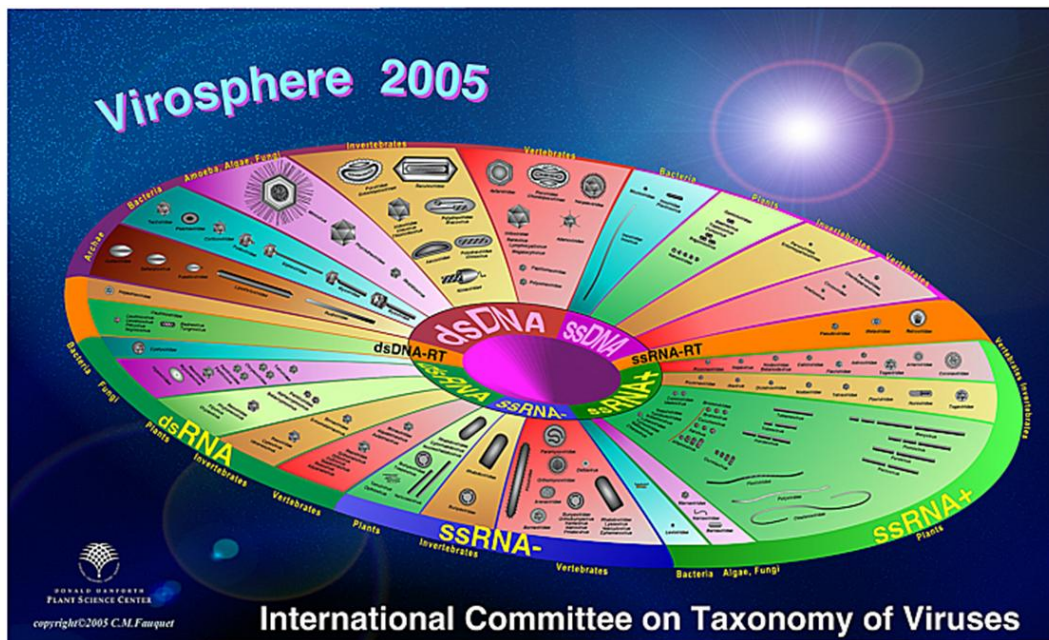


Fig16

As tabelas a seguir apresentam resumidamente a classificação, com alguns dados, de vírus de interesse.

VÍRUS COM GENOMA DE RNA

FAMÍLIA	EXEMPLO	Polaridade/ Estrutura do Ác. Nucléico *	Tamanho genoma em Kpb	Envelope	Simetria
FITA SIMPLES					
Picornaviridae	Poliovírus	(+)	7.2-8.4	Não	I
Togaviridae	Rubéola	(+)	12	Sim	I
Flaviviridae	Febre Amarela	(+)	10	Sim	I
Coronaviridae	Coronavírus	(+)	16-21	Sim	H
Rabdoviridae	Raiva	(-)	13-16	Sim	H
Paramixoviridae	Sarampo	(-)	16-20	Sim	H
Ortomixo- viridae	Influenza	(-) 8 segmentos	14	Sim	H
Buniaviridae	Hantavírus	(-) 3 seg. circulares	13-21	Sim	H
Arenaviridae	Corio-meningite linfocítica	(-) 2 segmentos circulares	10-14	Sim	H
Retroviridae	HIV	(+) 2 idênticos	3-9	Sim	I/H

FITA DUPLA					
Reoviridae	Rotavírus	10-12 segmentos	16-17	Não	I

VÍRUS COM GENOMA DE DNA

FAMÍLIA	EXEMPLO	Polaridade/ Estrutura do Ác. Nucleico *	Tamanho genoma em Kpb	Envelope	Simetria
FITA SIMPLES					
Parvoviridae	Parvovírus humano B-19	(+) ou (-)	5	Não	I
FITA DUPLA E SIMPLES					
Hepadnaviridae	Hepatite B	circular	3	Sim	I
FITA DUPLA					
Papovaviridae	Papiloma-vírus	circular	8	Não	I
Adenoviridae	Adenovírus humanos	linear	36-38	Não	I
Herpesviridae	Herpes Simples	linear	120-230	Sim	I
Poxviridae	Variola	linear	130-280	Sim	Complexa

I = icosaédrica; H = helicoidal; Kpb = Kilo pares de bases.

*Importante: os genomas de fita simples são classificados em polaridade positiva ou negativa, tendo como referência o RNA mensageiro. Ou seja, se a seqüência é a mesma do mRNA (codificadora), temos RNA+ ou DNA+. Caso a seqüência seja a complementar ao mRNA temos RNA- ou DNA-.

No caso dos vírus animais constatamos que os vírus RNA são bem mais numerosos e variados que os vírus DNA, apesar de ser razoável pensar que um parasita com genoma de DNA seria mais bem adaptado aos organismos eucariotos (Fig17).

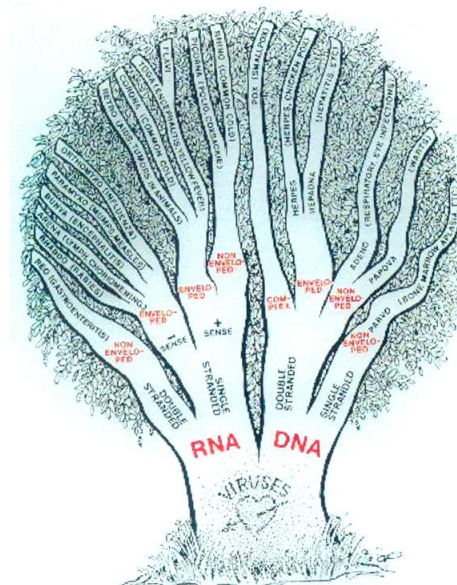


Fig17