

## Replicación viral

**E**l mecanismo de reproducción viral es una de las diferencias fundamentales entre este tipo de microorganismos y todos los demás seres vivos conocidos.

Ya hemos mencionado que los virus requieren un substrato de células vivas para su multiplicación; que ningún virus tiene organelas y por lo tanto carecen de capacidad metabólica (excepto algunos virus que tienen enzimas para iniciar la infección), y que, por lo tanto, todos ellos son obligatoriamente intracelulares.

En esta oportunidad vamos a estudiar los mecanismos de que dispone el virus para penetrar a la célula, reproducirse y salir de la misma para iniciar otro evento de infección en una nueva célula o en otro huésped. En este capítulo nos ocuparemos solamente de los eventos a nivel celular (en otra oportunidad estudiaremos las interacciones del virus con el huésped, cuando

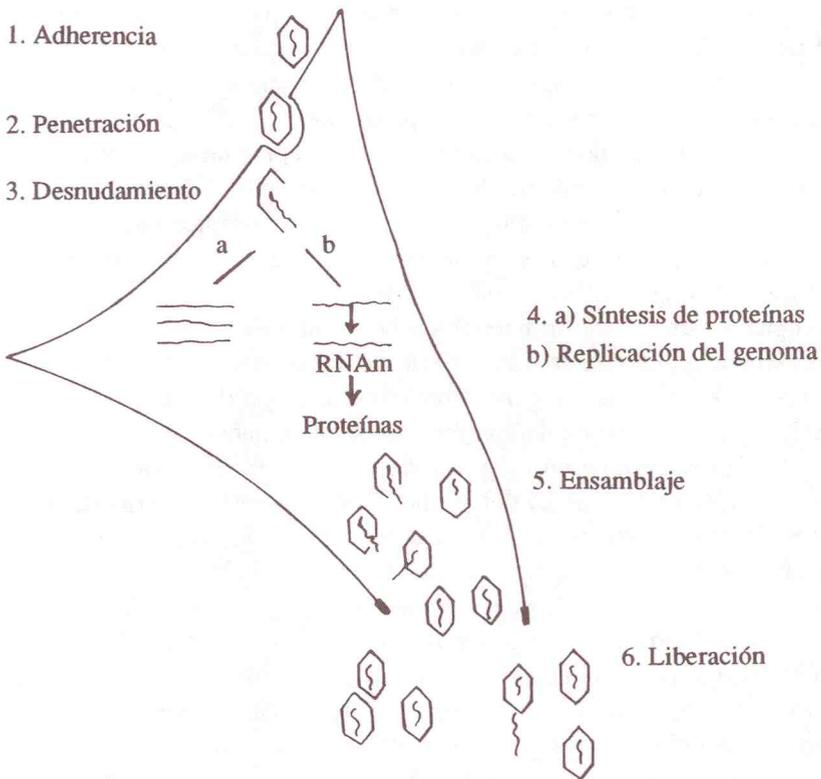


Fig. 1 Mecanismo de replicación de un virus desnudo.

hablemos de patogénesis viral y posteriormente, en la ecología de la infección viral analizaremos las relaciones de los virus con las poblaciones de huéspedes).

La forma más sencilla como podemos resumir los eventos de la replicación viral es la siguiente: 1) el virus debe adherirse a la célula huésped (adherencia); 2) el virus debe penetrar a la célula (penetración); 3) la envoltura y/o la cápside del virus debe(n) romperse para dar salida al ácido nucleico o genoma (desnudamiento); 4) el genoma viral debe traducirse en proteínas estructurales y no estructurales de la nueva partícula viral y debe replicarse para dar origen al nuevo genoma (replicación); 5) las proteínas virales y los nuevos genomas se ensamblan formando las nuevas partículas virales (ensamblaje); y 6) los nuevos virus salen de la célula (liberación) (Fig. 1).

Ahora detengámonos en cada uno de esos pasos por un momento. A nivel de la *adherencia* debemos tener presente que aquí radica la razón fundamental por la cual no todos los huéspedes son susceptibles a todos los virus. La adherencia ocurre a través de receptores específicos presentes en la parte más externa de la partícula viral y el receptor complementario en la membrana celular. Recordemos el caso, por ejemplo, del virus de la poliomielitis, altamente patógeno para el humano, pero completamente inocuo en ratones, salvo algunas cepas de virus en forma experimental, o el virus de la fiebre aftosa completamente apatógeno para equinos. La unión del virus con su receptor es una reacción parecida a la de un anticuerpo con su determinante antigénico, en cuanto a la especificidad y al tipo de unión entre uno y otro; como el complejo antígeno-anticuerpo la unión del virus a la célula es reversible por no utilizar enlaces covalentes sino enlaces iónicos. Por la misma razón, la reacción en uno y otro caso, puede verse modificada por el pH y por la concentración iónica del medio. Otra característica importante de la adherencia es que ésta puede ocurrir a 4°C, lo que significa que la unión no implica gasto de energía ni para el virus ni para la célula.

El paso siguiente, *la penetración*, sí requiere gasto energético de la célula y sólo ocurre a temperatura adecuada. La forma como las partículas virales penetran en la célula es variada: unos virus son endocitados mediante una invaginación de la membrana celular, otros fusionan sus envolturas con la membrana celular, para penetrar y otros pasan directamente. Los virus desnudos penetran por endocitosis o directamente; el virus del polio (Picornaviridae) pasa directamente mientras que los togavirus son endocitados y los ortomixovirus, los paramixovirus y los herpesvirus, que son virus envueltos, penetran mediante la fusión de su envoltura con la membrana celular; en estos casos, la envoltura queda sobre la membrana celular, mientras que las partes internas del virus penetran al citoplasma. La fusión se debe a la interacción de sustancias de la membrana celular con componentes afines de las envolturas virales; ambas estructuras son de naturaleza lipídica.

El *desnudamiento* de los virus es necesario para que el genoma viral y las transcriptasas (en aquellos virus que llevan este tipo de enzimas) queden libres para iniciar el proceso de replicación propiamente dicho. Este paso es sumamente delicado (peligroso) para el virus, pues en el citoplasma celular existen nucleasas que podrían destruir la información genética. En algunos tipos de virus como los herpes, los adeno y los papova, la desintegración del virus ocurre mediante el concurso de enzimas de la célula huésped. En el caso de los reovirus, el genoma viral no es liberado completamente, pero el

proceso de replicación tiene lugar aun sin la liberación completa del genoma. En otros casos, como en los poxvirus, se requiere de una proteína de origen viral para que ocurra completamente el desnudamiento.

La *replicación propiamente dicha* tiene por objeto la síntesis de las proteínas necesarias para las nuevas partículas virales y la replicación del nuevo genoma. Este proceso, aparentemente complicado, ha empezado a aclararse en los últimos años, si bien, para el caso de algunos virus no se tiene todavía toda la información. En primer lugar, para la síntesis de proteínas, el genoma viral tiene que transcribirse en RNA mensajero (es importante recordar aquí que en la célula eucariótica la transcripción del DNA a RNA tiene lugar en el núcleo y por lo tanto es allí donde se encuentran las enzimas necesarias para este efecto. La síntesis de proteínas por su parte, tiene lugar a nivel de los ribosomas en el citoplasma).

La célula eucariótica no está en capacidad de sintetizar un RNA mensajero a partir de un RNA, pues este mecanismo no es propio de las células. Aquí vamos a tener entonces el primer tropiezo de los virus que tiene RNA. Estos virus los podemos dividir en cuatro grupos:

El primero, compuesto por los picornavirus, los togavirus y los coronavirus, tienen un RNA de cadena sencilla que por sí mismo puede servir como RNA mensajero sin necesidad de procesamiento previo, por esta razón este grupo de virus no requiere de una transcriptasa (y, por la misma razón el solo ácido nucleico de estos virus inoculado artificialmente en una célula puede dar lugar a nuevos virus; o sea que es capaz de producir infección). El RNA en primer lugar se traduce en proteínas, la primera de las cuales es una polimerasa necesaria para que el RNA<sup>+</sup>, (por convención se llama RNA positivo a aquél que tiene capacidad de RNA mensajero), sea copiado en RNA negativo y éste a su vez en un RNA positivo que será el nuevo genoma para completar, con las proteínas previamente formadas, el nuevo virus.

El segundo grupo está constituido por los ortomixovirus, los paramixovirus, los arenavirus, los rhabdovirus y los bunyavirus que también tienen RNA de cadena sencilla, pero de polaridad negativa. Estos virus tienen en primer lugar que transcribirse en RNA positivo (o sea RNA mensajero). Puesto que la célula no tiene la transcriptasa necesaria para que se cumpla esta función, todos los virus de esta categoría tienen que llevar consigo esta enzima a fin de poder sintetizar las proteínas para el nuevo virus. El genoma del virus parental se copia en un RNA positivo y este a su vez en un RNA negativo que servirá de genoma para los nuevos virus (consecuentemente, el ácido nucleico extractado de esta clase de virus no es infeccioso per se).

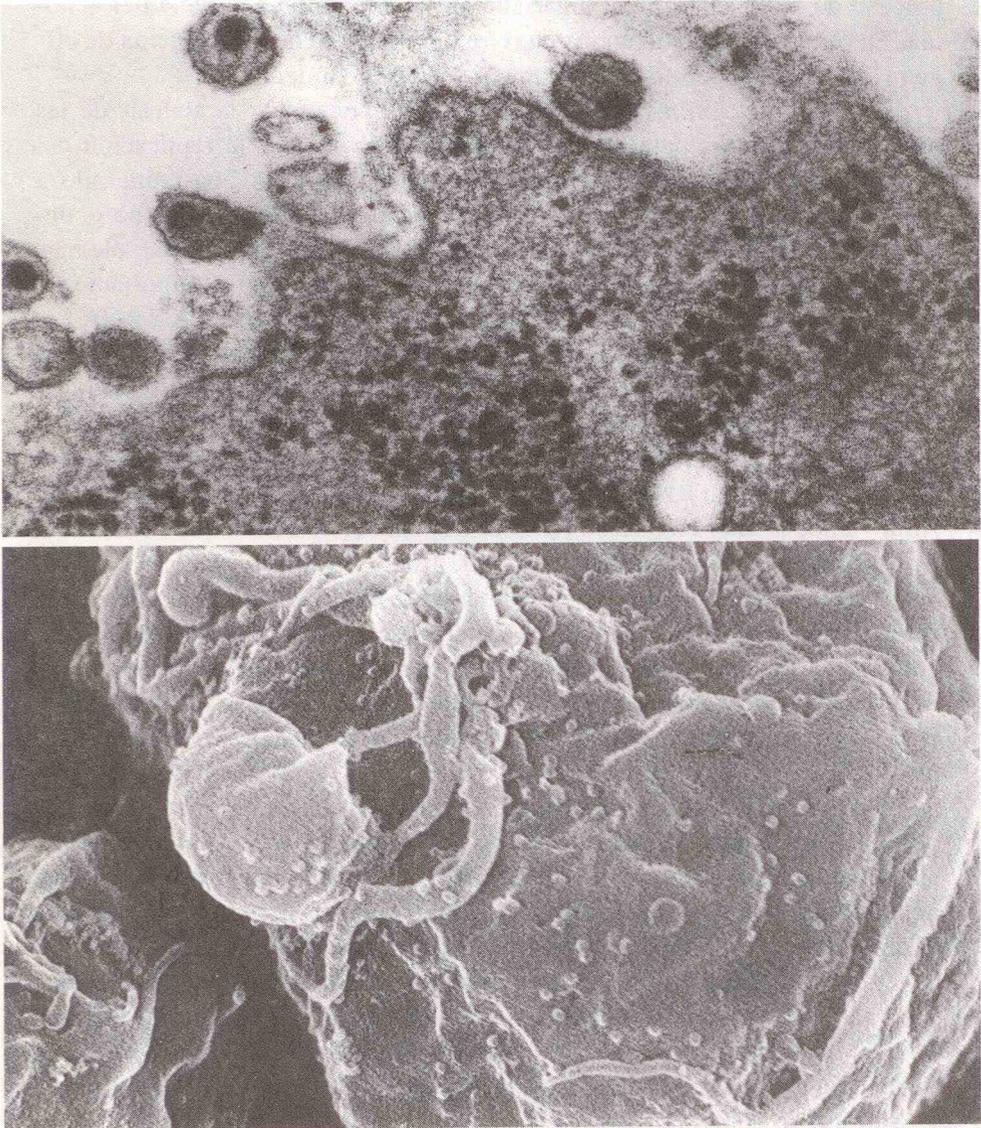


Fig. 2

Virus de la inmunodeficiencia humana.

a. Microscopio electrónico de transmisión virus en proceso de gemación de la membrana citoplasmática mostrando la estructura típica de una partícula tipo c. 115.000 x.

b. Microscopio electrónico de barrido. Virus gemando de un linfocito infectado. 20.400 x.

Atención de Mery Lane Martin CDC, Atlanta, GA.

Un tercer grupo de virus RNA lo constituyen los retrovirus, que se caracterizan por tener un RNA de cadena sencilla de polaridad positiva, pero hacen su replicación mediante transcripción a DNA. Como la célula no tiene una enzima capaz de realizar este proceso, los virus tienen que llevar consigo la famosa transcriptasa reversa (esta enzima encontrada por primera vez en estos virus y no sospechada antes, rompió el dogma de la biología molecular, según el cual la información genética sólo fluye de DNA a RNA y de éste a proteínas). Por acción de la transcriptasa reversa se produce una cadena de DNA complementaria al RNA viral, luego se produce una segunda cadena de DNA complementaria, lo cual da lugar finalmente a una cadena doble y circular de DNA que es llevada al núcleo donde se integra al DNA de la célula huésped; a partir de este momento la información viral se denomina provirus y se comporta como un gen celular que puede eventualmente expresarse utilizando para ello las enzimas celulares.

El último grupo de virus RNA lo constituyen los reovirus y los birnavirus. Estos poseen una doble cadena de RNA segmentada (una positiva y la otra negativa). En este caso, la cadena positiva sale parcialmente de la cápside, y sirve como RNA mensajero y a la vez como molde para que se produzca una cadena complementaria de RNA negativo. De esta manera se produce la cadena doble de RNA que constituye el nuevo genoma. (Quizá la historia de la replicación de estos virus sea más larga y compleja, pero es todo lo que se sabe hasta el momento).

Igualmente los virus DNA se pueden dividir también en 4 grupos:

El primero constituido por los papovavirus, los adenovirus y los herpesvirus que son transcritos y replicados en el núcleo de la célula huésped haciendo uso de las enzimas presentes en ese núcleo (por lo anterior, el DNA de estos virus, si se inyecta en el núcleo de una célula puede ser infeccioso).

El segundo grupo lo constituyen los poxvirus y el virus de la peste porcina africana, los cuales inician su transcripción en la misma cápside y la finalizan a nivel del citoplasma. Estos virus tienen que llevar su propia transcriptasa, puesto que normalmente la célula sólo tiene esta enzima en el núcleo. Los poxvirus son quizá los virus más complejos y por lo tanto sus mecanismos de replicación no están muy claros.

En el tercer grupo están los parvovirus, los cuales poseen una cadena sencilla de DNA. En este grupo hay dos variedades, unos que son autónomos y otros que requieren de la presencia de un adenovirus o de un herpesvirus para poder iniciar su replicación. De la cadena sencilla de DNA, que es de polaridad positiva, se debe producir una cadena complementaria de DNA

y a partir de este momento el proceso continúa como si se tratara de un virus de doble cadena de DNA. La replicación de estos virus tiene lugar en el núcleo; hay diferencias importantes en los mecanismos íntimos que utilizan los virus autónomos de los que utilizan los virus defectuosos (aquéllos que necesitan de otro para su replicación); pero en esta oportunidad no nos detendremos en más detalles.

El último grupo de virus DNA lo constituyen los Hepadnavirus. Las dos cadenas de DNA que constituyen el genoma del virus son transcritas cada una en RNA que sirven para la traducción en proteínas en primer lugar y en segundo lugar mediante transcriptasa reversa, para dar lugar al DNA para el nuevo virus. Este novedoso mecanismo de replicación ha sido propuesto recientemente y de ser confirmado, representaría el primer caso diferente a los retrovirus que utilizan transcriptasa reversa.

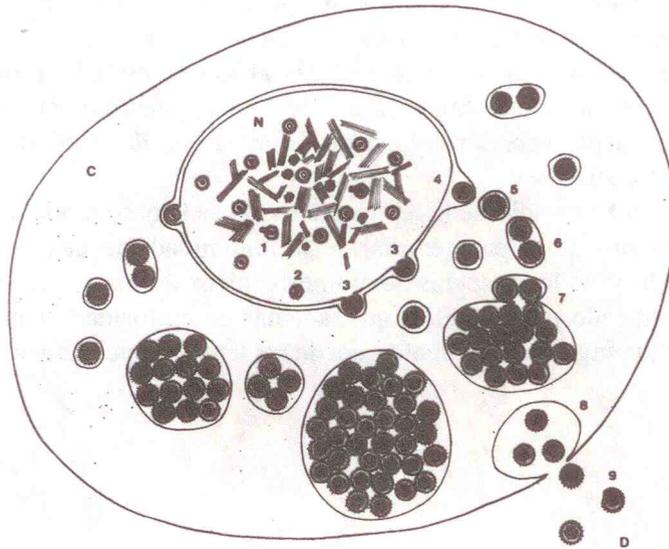
En resumen, la replicación viral implica todo un arsenal de mecanismos genéticos y enzimáticos, dependiendo de la naturaleza del genoma viral. Estos mecanismos son más o menos conocidos, dependiendo también de la complejidad de cada grupo y por esta razón todavía quedan soluciones de continuidad en el conocimiento de la replicación de algunos virus.

Finalmente, el **ensamblaje** y la **liberación** de los virus son dos pasos que están íntimamente relacionados por lo que serán considerados en conjunto. El proceso tiene lugar en el núcleo, como es el caso de los herpesvirus; en el citoplasma, como ocurre con los picornavirus, los reovirus, los adenovirus, los parvovirus y los poxvirus; o a nivel de membranas celulares como es el caso de todos los virus RNA que tienen envoltura (ortomixovirus, paramixovirus, arenavirus, rhabdovirus, togavirus, retrovirus, Bunyavirus, Flavivirus, Torovirus y coronavirus).

En el caso de los herpesvirus, el ensamblaje de la cápside tiene lugar en la parte interna de la membrana nuclear y de esta misma membrana mediante gemación, el virus toma la envoltura. Luego los virus son transportados en vesículas hasta el exterior de la célula evitando el contacto con el medio citoplasmático (Fig. 2).

Los virus que se ensamblan en el citoplasma dependen exclusivamente de la lisis de la célula para ganar su liberación. La lisis o desintegración de la célula ocurre por efecto de la inhibición de la síntesis de macromoléculas inducida por las proteínas virales, por efecto tóxico de ciertas proteínas virales (adeno virus) o por otros mecanismos no bien caracterizados.

Los virus que se ensamblan a nivel de membranas celulares, lo hacen introduciendo en primer lugar proteínas virales en la membrana; la nucleo-



**Fig. 3** Representación esquemática de los diferentes pasos en la replicación del citomegalovirus (Herpesvirus) del cobayo en una célula de las glándulas salivales. El orden de la secuencia está indicado por numerales. N núcleo, C citoplasma, D ducto salival. Tomado de Fong et al. Arch. Virol. 64, (97-108) 1980.

cápside se ensambla en la parte adyacente a la membrana modificada. El virus gana su envoltura al gemar de esa membrana, que puede ser la membrana citoplásmica, en cuyo caso el virus logra simultáneamente la liberación, retrovirus, por ejemplo, o puede ser una membrana intracitoplasmática (del aparato de Golgi o del retículo endoplásmico, como es el caso de los coronavirus y los flavivirus); en este caso el virus quedaría dentro de la célula y de allí puede salir por lisis.

La liberación por gemación es un sistema mucho más eficiente que la lisis, pues no implica necesariamente la destrucción de la célula; entre los virus que utilizan este método, los efectos patológicos sobre la célula varían; puede haber lisis como en los togavirus, o no lisis como es el caso de algunos retrovirus.

El proceso de ensamblaje de las proteínas en cápsides obedece a las leyes de la termodinámica en el sentido de que ocurre espontáneamente y se logran estructuras estables. Igualmente debemos tener presente para enten-

der posteriormente los mecanismos de patogénesis viral, que los virus que se ensamblan y se liberan en asociación con membranas celulares, inducen cambios antigénicos en las células al introducir glicoproteínas de origen viral en dicha membrana; a través de estos cambios el sistema inmunológico puede reconocer el estado de infección de la célula y proceder a su destrucción.

**Epiflogo.** El estudio de la replicación viral es la base fundamental para el entendimiento de la patogénesis, de la inmunidad, de la terapia, de la cuantificación y de los mecanismos tumorigénicos de los virus. Su estudio está pues, indicado para aquellos que, además de curiosidad científica, tienen un interés pragmático en cualquiera de los temas mencionados.