

Historia de la Virología y características generales de los virus



*Silvio Urcuqui I. Biol. Msci. PhD. Facultad de Medicina,
Grupo de Inmunovirología, U de Antioquia.*

Jorge Ossa L. MV. MS. PhD. Profesor Jubilado, U de Antioquia.

La historia de la Virología, como ciencia, podríamos decir que se inicia desde la década de 1880 - 1890, cuando Pasteur y Koch se dedicaban al estudio de la teoría infecciosa del origen de las enfermedades. Para esta época ya se había demostrado el papel etiopatológico de los hongos y las bacterias y se habían logrado obtener cultivos puros de bacterias, siguiendo la metodología (postulados) descrita por Koch, en la que se define lo esencial para determinar los organismos causantes de una enfermedad. Sin embargo, muchas enfermedades permanecían sin una etiología definida; ni hongos ni bacterias podían aislarse de los fluidos o tejidos de los individuos enfermos.

En 1884 Chamberland, asociado de Pasteur, inventó un filtro con el objeto de obtener agua bacteriológicamente pura; y este "sencillo" instrumento dio la clave para el descubrimiento de los virus. El primer intento del uso del filtro para el estudio de las enfermedades fue hecho por Ivanowski cuando, exitosamente, trató de reproducir la enfermedad del mosaico del tabaco a partir de savia filtrada. (Previamente Mayer había demostrado que la enfermedad, que él llamó mosaico del tabaco, era trasmisible a plantas sanas utilizando savia de plantas infectadas; pero ningún agente infeccioso había podido aislarse hasta entonces). Este experimento no fue aprovechado correctamente; era solo el año de 1892 y todavía no había sospechas de que existiesen microorganismos más pequeños que las bacterias. El investigador interpretó sus resultados diciendo que una posible toxina, secretada por una bacteria, era la causa de la enfermedad (las toxinas habían sido descubiertas por



Yersin y Roux 5 años atrás). En su última publicación (1903) Ivanowski hace una detallada descripción de la enfermedad, incluyendo dos tipos de inclusiones en células y tejidos infectados, observadas por microscopía, y concluye que el agente causante de la enfermedad, es un tipo de bacteria incultivable.

Más tarde, en 1898, Beijerinck, desconocedor de los estudios de Ivanowski, repitió el experimento con los mismos resultados pero con una nueva interpretación: la enfermedad no era producida por microbios aerobios o anaerobios sino por un 'contagio fluido viviente' (*contagium vivum fluidum*). Con sus experimentos demostró que el agente infeccioso era capaz de reproducirse en las plantas enfermas. Igualmente describió que los extractos infecciosos eran estables hasta por tres meses, pero la virulencia no aumentaba ni disminuía; los agentes eran estables en los tejidos secos, pero se inactivaban si se calentaban a 90 grados. Con todos estos resultados concluyó que el agente causante de la enfermedad no era una bacteria y que los virus se mueven en las plantas a través del floema. Esta fue la primera vez que se utilizó la palabra Virus para estos agentes; si bien, el mismo Jenner habría utilizado este término en sus estudios de "la vacuna". (Virus, anteriormente, se había utilizado como sinónimo de veneno, pero nunca se había hablado de un veneno viviente). El filtro fue, por lo tanto, un instrumento fundamental en la historia temprana de la Virología y por esta misma razón los virus se han conocido como 'agentes filtrables'.

En el mismo año (1898) Loëffler y Frosch, en Alemania, hicieron un descubrimiento similar al filtrar fluidos vesiculares de bovinos enfermos con fiebre aftosa. Este fue, entonces, el segundo virus conocido y el primero en animales. Los autores confirmaron la característica de viviente, pues ellos mencionaron la capacidad de reproducción del agente. Posteriormente en 1901 se describió el virus de la fiebre amarilla.

Sin embargo, el hecho de que en 1880 aún no se conociesen los virus, no fue obstáculo para que Pasteur descubriera un método para prevenir la rabia, en los perros y en los humanos, tarea que culminó exitosamente en 1885, siete años antes de los experimentos de Ivanoski y 13 años antes de la confirmación de Beijerinck.

Si hacemos un paréntesis y miramos más atrás en la "prehistoria" de la Virología, encontramos que las enfermedades virales han existido desde épocas inmemoriales y existen registros en ese sentido desde los siglos XV y X antes de Cristo, en monolitos y en momias de los reyes egipcios, donde se pueden ver los efectos deformantes de la poliomielititis y de la viruela. Posteriormente encontramos que los chinos, desde el siglo X de nuestra era, estaban tratando de protegerse contra la viruela, mediante la variolación; y finalmente, Jenner en 1798, descubrió una forma segura y eficaz para proteger la población humana contra esta enfermedad, al inocular material infectado de la viruela bovina (pus) para inmunizar contra el virus de la viruela humana. Estos experimentos que Jenner llamó "vaccination" fue la primera "vacuna" propiamente di-

cha, (*Vacca*: vaca; *Vaccinus*: relativo a las vacas). Recordemos además que Jenner fue el primero en introducir el término virus.

Regresemos al principio del siglo XX. Ya mencionamos el caso de la fiebre amarilla, pero es necesario mencionar también que el médico Carlos Finley fue quien primero demostró la transmisión de esta enfermedad por medio de mosquitos; según trabajos publicados desde 1881. En 1908 y 1911 se hicieron dos descubrimientos muy importantes, en el área de la virología, relacionados con la etiología viral de dos tipos de neoplasias de gallinas: la leucosis linfoide y el sarcoma de Rous. Desde entonces quedaron asociados los virus al cáncer; y hoy sabemos que esa asociación es verdaderamente causal para algunos, pero no para todos los tipos de neoplasias del hombre y de los animales.

En 1915 y 1917 se demostró la existencia de los bacteriófagos (fagos), por parte de d'Herelle y Twort, respectivamente. Estos son virus específicos de bacterias y su estudio condujo, más tarde, a grandes avances en la biología molecular. Ellos –los fagos– fueron el elemento clave para llegar a concluir que los ácidos nucleicos son la “sustancia de la herencia”. También fueron importantes los fagos porque, debido a su más fácil manipulación en el laboratorio, permitieron estudiar las principales propiedades y mecanismos de multiplicación viral. En la actualidad los fagos siguen a la vanguardia de la investigación en la biología molecular y son una herramienta importante en la ingeniería genética. En el 2008 se describieron los virófagos, o virus capaces de multiplicarse en otro virus; en este caso, los mimivirus. Estos minivirus son miembros de la nueva familia *Mimiviridae* que son virus gigantes, descritos en los últimos 5 años, y que infectan amebas; su genoma está constituido por ADN de doble cadena. Un ejemplo de estos virófagos es el “Sputnik”, que contiene ADN circular.

En las décadas subsiguientes se desarrollaron las técnicas para estudiar los virus en el laboratorio: Los filtros de colodión, desarrollados por Elford alrededor de 1930, con los cuales se pudo estimar el tamaño de los virus; los huevos embrionados; los ratones y otros animales de laboratorio y, finalmente, los cultivos celulares. Este último desarrollo es de particular importancia, pues con el se pudo avanzar hacia la virología cuantitativa. Carrel fue el primero en intentar los cultivos celulares de gallina en 1910 y fue su alumno Earle quien en 1940, logró la primera línea celular inmortal a partir de fibroblastos de ratón tratados con metilcolantreno. De estos estudios resultó la línea celular, aún en uso en la actualidad, llamada células L. Otro investigador, menos mencionado, fue George Gey, quien, por la misma época, hizo avances similares. Con base en esta tecnología de cultivos de células fue que Enders pudo demostrar, al final de la década de 1940, la capacidad de replicación del virus del polio en células no neuronales de embrión humano.

En 1935 W.M. Stanley logró cristalizar el virus del mosaico del tabaco al adicionar sulfato de amonio a la savia obtenida de plantas infectadas, y concluye que el virus es una



proteína autocatalítica que se puede multiplicar en las células (por este trabajo recibió el premio Nobel en química, en 1946); sin embargo, fue F.C. Bawden y colaboradores (1936) quienes demostraron que la preparación cristalina del virus contenía no solo proteínas, si no también pequeñas cantidades de ácido nucleico.

En 1937 se estandarizó la técnica de la cristalografía usando como modelo los virus del mosaico del tabaco y del polio. El microscopio electrónico se inauguró en 1939 y se perfeccionó con alta resolución en 1950. Estas dos técnicas jugaron un papel muy importante en el desarrollo de la virología como ciencia. Para la década de los años 60 ya se habían aislado la gran mayoría de agentes que producen las principales infecciones en humanos, como el polio, la varicela, la rabia, la rubeola, etc; y algunos otros virus de plantas como el mosaico del rábano amarillo. Adicionalmente, ya se habían desarrollado unas pocas vacunas.

Desde la década de 1950 ya podemos decir que la Virología tenía bien identificada su problemática, había desarrollado una metodología propia para tratar de dar respuesta y eran claras sus grandes perspectivas de desarrollo. Por tanto, desde ese entonces podemos llamar ciencia a esta área del conocimiento. A partir del año 60 los estudios virológicos se sofisticaron mucho más y a la par que se iba determinando el comportamiento epidemiológico de las infecciones virales, se fue profundizando en el conocimiento de la biología molecular de los virus. Como resultado de toda esta actividad investigativa tenemos, en la actualidad, más y mejores sistemas para el diagnóstico y la prevención de las infecciones virales. Una gran área que apenas empieza a rendir el fruto de muchos y costosos esfuerzos, es la terapia de las enfermedades virales; este campo sigue siendo un legado para la próxima generación de virólogos.

Es importante resaltar los trabajos de Klug, quien empezó a trabajar con Franklin en 1954, dos años antes de la aparición de la foto de la estructura cuaternaria del virus del mosaico del tabaco (VMT) obtenida por cristalografía. Dicha foto se obtuvo a partir de partículas virales sin ácido nucleico (ARN) y fue fundamental para confirmar la hipótesis de Watson, quien había propuesto que el virus tenía una estructura helicoidal; además fue la evidencia reina para demostrar que el ARN viral era una hélice y no una estructura sólida. Posteriormente, estudios con el VMT permitieron a Crick y Watson, determinar que el virus estaba constituido simétricamente por diferentes subunidades de la misma proteína que cubría el ARN. Después Klug y sus colaboradores demostraron que las proteínas virales son esenciales para el auto-ensamblaje. Según su modelo, la encapsidación se inicia por la interacción de una secuencia del ARN viral con las proteínas, dando lugar a una estructura helicoidal.

Ya caracterizados los virus, a principios de la década de 1970, se dio otro gran paso en la exploración del mundo submicroscópico: se descubrieron los Viroides que, a diferencia

de los virus, no tienen cápside y consisten simplemente de una corta cadena de RNA. Estos agentes producen enfermedades en plantas y, hasta el presente, no se ha demostrado su participación en la patología humana o veterinaria, pero no sería extraño que en los próximos años se demuestre esta asociación. Adicionalmente en 1981, se propuso la existencia de otro tipo de agentes infecciosos: los Priones; novedosos no sólo por su tamaño sino por su naturaleza; se trata de "simples proteínas"; sin ácidos nucleicos, que son infecciosas y tendrían la capacidad de "multiplicarse". Este descubrimiento le mereció a Stanley Prusiner el premio Nobel en 1997. Ahora sabemos que no se trata de una verdadera replicación sino de un efecto de toxicidad mediante el cual la proteína involucrada, que normalmente se expresa en cerebro, sufre una modificación estructural que le impide metabolizarse y consecuentemente se acumula para finalmente producir la muerte neuronal. La sintomatología y la muerte del individuo sobrevienen en forma inexorable. Ejemplos de estas enfermedades son el scrapie de las ovejas y la enfermedad de Creutzfeldt-Jacob del humano, entre otras.

Uno de los éxitos más resonantes de la virología moderna ha sido el descubrimiento y caracterización de los oncogenes, por parte de Bishop y Weinberg, y muchos más; esto ha llevado a aclarar muchos aspectos del origen de los tumores en general y la participación de los virus en particular. Igualmente, y quizá mucho más publicitado, fue el descubrimiento del HTLV/LAV, por parte de Gallo en Estados Unidos y Montaigner, en Francia. Este virus resultó ser el agente del síndrome de inmunodeficiencia humana, y por sí solo podría llenar miles de páginas de historia de las infecciones virales y su impacto sobre la humanidad.

La nueva época de la Virología, la que se inicia con el siglo XXI, es la de la comprensión de la patogénesis de las infecciones virales. Quizá podríamos decir que justamente el fruto de la investigación y la información acumulada, hasta el presente, en temas tan básicos como la replicación y la estructura de los virus, cobra ahora toda su importancia, pues hemos llegado al momento de analizar lo que podríamos llamar la relación estructura-función en la interacción de los virus y sus hospederos. Este nivel de entendimiento, que bien hubieran envidiado nuestros pioneros, continúa la tradición de la Virología en el sentido de mantenerse a la vanguardia de la bioquímica molecular. En resumen, la Virología ha revolucionado el mundo de las enfermedades infecciosas y el mundo de la biología molecular, a la vez que ofrece pautas para el entendimiento de la célula y de la misma vida.

Características de los virus

El tamaño es una de las características más atractivas de los virus, aunque realmente no es la más importante, pero fue un parámetro que se utilizó durante mucho tiempo para la definición de estos agentes filtrables. Para medir los virus se utiliza el nanómetro, que equivale a 10^{-9} m, o sea que es mil veces más pequeño que una micra. El rango de tama-



ño de los virus conocidos varía de 20 a 750 nm. El rango superior, donde se encuentran los poxvirus (agentes de las viruelas del hombre y de los animales) está cercano al tamaño de los micoplasmas, las rickettsias y las clamidias; es interesante que los poxvirus son también los virus más complicados, desde el punto de vista estructural, por lo cual se podrían considerar como el eslabón entre los virus y los microorganismos más complejos, aunque este concepto es meramente comparativo e hipotético. El descubrimiento de los mimivirus, que son virus gigantes, del tamaño de las bacterias más pequeñas complica este panorama.

Los virus más simples tienen una cápside proteica que encierra un ácido nucleico. Cada uno de los elementos o conjuntos proteicos que conforman la cápside se llama capsómero. Otros virus tienen además de los componentes mencionados, una capa o envoltura de naturaleza lipídica; éstos son los virus "envueltos"; mientras que a los primeros se les llama "desnudos". Este aspecto es importante porque la presencia de lípidos confiere una mayor susceptibilidad a las condiciones medioambientales y a los solventes orgánicos como el éter; de tal suerte que, aunque parezca paradójico, los virus desnudos son más resistentes.

Según el arreglo geométrico de la partícula viral, los virus se pueden clasificar en icosaédricos, que son aquellos cuyo ácido nucleico se encuentra dentro de una cápside icosaédrica (un icosaedro es una figura geométrica con 20 caras y 12 ángulos). Otros virus son helicoidales, lo que significa que el ácido nucleico está dispuesto en forma de hélice y las proteínas de la cápside están recubriendo dicha hélice formando, generalmente, cilindros como en el caso de los rhabdovirus y del virus del mosaico del tabaco.

La característica fundamental más importante de los virus, desde el punto de vista biológico es que, a diferencia de todos los demás seres vivos conocidos, los virus solamente poseen un tipo de ácido nucleico; bien ADN o bien ARN, pero nunca se encuentra en una cápside viral ambos tipos, como sí ocurre en las bacterias y en los eucariotes. El ácido nucleico de un virus puede ser de cadena sencilla o de cadena doble y podemos generalizar diciendo que todos los virus que poseen RNA son de cadena sencilla, excepto los de las familias *Reoviridae*, *Birnaviridae*, *Totiviridae*, *Partitiviridae* y los *Hypoviridae*. Por su parte todos los que tienen DNA, son de cadena doble, excepto los de las familias *Parvoviridae*, *Inoviridae*, *Microviridae*, *Geminiviridae* y los *Circoviridae*. Otro aspecto importante a resaltar que en algunos virus con un ARN de polaridad positiva, el genoma funciona directamente como un ARNm.

Otra serie de características de los virus, que están relacionadas entre sí, tienen que ver con su naturaleza de parásitos intracelulares obligatorios, su carencia de metabolismo propio y la imposibilidad de lograr su crecimiento en medios artificiales. Los virus carecen de organelas del tipo de las mitocondrias, el aparato de Golgi y los ribosomas; por lo tanto, son incapaces de hacer cualquier tipo de síntesis de energía o de proteínas, lo

que hace que sean completamente dependientes de células vivas para su crecimiento. En el mismo sentido, a diferencia de las bacterias, los virus requieren de medios de cultivo vivos; es decir, de células, para su manipulación en el laboratorio; mientras que las bacterias crecen en medios artificiales (hecha la excepción de las bacterias intracelulares obligatorias y de algunos protozoarios) podemos decir en términos generales que ésta es una característica de los virus.

Los mecanismos de multiplicación de los virus también son diferentes a los sistemas utilizados por los demás seres vivos: los virus no se multiplican por división binaria, sino por replicación de sus ácidos nucleicos. Algunos virus llevan consigo la enzima necesaria para iniciar esa replicación (una transcriptasa o una polimerasa); los virus que se replican en el citoplasma llevan la información genética para que esa enzima sea sintetizada en la célula hospedera; otros virus no necesitan esta enzima, pues la célula dispone de ella en el sitio apropiado; esto es, en el núcleo. La replicación viral será estudiada en detalle más adelante.

Finalmente, debemos mencionar que los virus al no poseer los mismos mecanismos metabólicos de las bacterias, son refractarios a los antibióticos. Los únicos antibióticos posiblemente activos serían aquellos que interfieren con el metabolismo de los ácidos nucleicos y las proteínas virales, pero no hay grandes diferencias entre estos mecanismos virales y los propios de la célula hospedera, por lo que una terapia eficiente contra la infección viral resultaría demasiado tóxica para la célula infectada. Debemos aclarar, sin embargo, que los avances moleculares de punta, conocidos en el día de hoy, están cambiando este panorama y consecuentemente las drogas antivirales específicas ya empezaron a aparecer.

Se ha descrito un gran número de especies virales, capaces de infectar casi todas las especies de animales (incluidos los artrópodos), los vegetales (incluyendo las algas y hongos), los protistas, así como las bacterias, que son infectadas por los bacteriófagos. Como hemos mencionado, las características de los virus han contribuido enormemente al desarrollo del conocimiento, no solo en el campo de la virología misma, sino también de la biología celular y molecular.

Clasificación

La clasificación y ordenamiento de los elementos de una serie es el resultado del mejor conocimiento de dichos elementos; es decir, sus similitudes, sus diferencias, sus particularidades, etc. El conocimiento de los elementos de la serie viral, ha llevado desde hace varios años a sistemas de clasificación que van sufriendo cambios a medida que los descubrimientos arrojan nuevos elementos de juicio. En un principio existió la tendencia a dar nombres latinizados a los virus, pero a medida que éstos aumentaron, el sistema se hizo impracticable. Posteriormente los virus se agruparon según el tipo de daño que producían; pero cuando se descubrió que un mismo virus podía producir



diferentes sintomatologías, este sistema cayó en desuso (todavía quedan vestigios de esta clasificación cuando se habla de enterovirus, encefalovirus, respiravirus, etc.). En la actualidad los virus se agrupan en familias y algunas familias se subclasifican en subfamilias y en géneros; todo ello dependiendo principalmente de las características físico-químicas de las partículas virales, de algunas características biológicas y de las diferencias antigénicas.

Las tres características mayores para la clasificación de los virus son:

1. Naturaleza del ácido nucleico (DNA o RNA).
2. Tipo de simetría (icosahédrica, helicoidal o indeterminada).
3. Presencia o ausencia de envoltura (virus envueltos o desnudos).

Acogiéndonos a estos parámetros podemos distinguir, en la actualidad, 73 familias entre los virus de los vertebrados (los virus de las plantas y de los invertebrados son mucho más numerosos, y no serán considerados en este libro).

Clasificación de Baltimore

Durante los últimos años, el incremento del conocimiento de la biología molecular de los virus ha tenido un gran desarrollo. Uno de los avances más importantes es el desciframiento de la vía mediante la cual se expresa la información codificada en el genoma viral. Dichos hallazgos muestran que el mecanismo es similar al que sigue el material genético celular; es decir, el ADN debe ser transcrito a ARNm, que es finalmente traducido en proteínas. David Baltimore, en 1985, propuso una clasificación viral complementaria a la diseñada por el Consejo Internacional para la Taxonomía de los Virus (ICTV), basada en el tipo de estrategia que el virus utiliza para su replicación. Todos los virus, independiente del tipo de genoma, deben convertir la información genética en ARN necesario para dirigir la síntesis proteica; esto es un RNAm. Por convención, los biólogos moleculares, denominan al ARNm como RNA de polaridad positiva (+) dada su orientación $5' \rightarrow 3'$ (de la misma manera, se llama polaridad negativa (-) a la orientación $3' \rightarrow 5'$). En los genomas de doble cadena, ya sea DNA o RNA, siempre habrá una cadena positiva y otra negativa; esto es, cadenas complementarias.

Claves nemotécnicas para facilitar el estudio de la clasificación de los virus:

Virus con RNA:

- Pico RNA: los más pequeños entre los RNA (piccolo = pequeño).
- Toga virus: toga = capa. Virus con envoltura (pero no son los únicos con envoltura).



- Rhabdo virus: virus con forma de bala.
- Retro virus: virus que llevan transcriptasa reversa.
- Reo virus: virus con doble cadena de RNA.
- Bunya virus: virus originariamente aislados en Bunyamwera, Uganda.
- Paramixó virus: virus parecidos pero diferentes a los Ortomixovirus.
- Arena virus: virus que contienen estructuras como arena (vistos al microscopio electrónico).
- Calici virus: virus con una estructura en forma de cáliz.
- Flavi virus: familia cuyo prototipo es el virus de la Fiebre Amarilla (Fluvus = amarillo).
- Ortomixó virus: virus con tropismo especial por tejidos mucinógenos.
- Corona virus: virus con proyecciones en su estructura parecidas a una corona (vistos al microscopio electrónico).
- Birna virus: virus con dos segmentos de RNA.
- Toro virus: virus con forma de doughnut o pandeyuca (Torus = doughnut).
- Filo virus: virus alargado y cilíndrico (Filo = hilo).

Virus con DNA:

- Parvo virus: el más pequeño entre los DNA (parvulus = pequeño).
- Herpes virus: herpes, del griego: erupción, serpentear. Virus conocidos inicialmente por su tendencia a producir lesiones eruptivas como el zóster o culebrilla.
- Pox virus: virus que se caracterizan por producir pústulas (Pock = pústula).
- Pa po va virus: familia compuesta por tres géneros:
 - Polioma virus: poly = muchos; oma = tumor.
 - Papiloma virus: Papilla = pezón, verruga; oma = tumor.
 - Agente vacuolante: el virus SV40 que produce lesiones vacuolantes en los tejidos.
- Hepadna virus: virus de DNA causantes de hepatitis.
- Adeno virus: virus aislados originalmente de glándulas adenoides.
- Irido virus: virus de insectos (iridescent = tornasolado, se refiere a algunos insectos).
- Mimivirus, o Acanthamoeba Polyphaga mimivirus: infecta amebas y se puede observar a microscopio de luz. L a nueva familia de estos virus gigantes se llama *Mimiviridae*.



