

13 Vírus, Viroides e Prions

Os vírus são muito pequenos para serem vistos ao microscópio óptico e não se multiplicam fora de suas células hospedeiras. Por isso, embora as doenças causadas por vírus não sejam uma novidade, as partículas virais não puderam ser estudadas até o século XX. Em 1886, o químico holandês Adolf Mayer demonstrou que a doença do mosaico do tabaco (DMT) era transmissível de uma planta doente para uma planta sadia. Em 1892, em uma tentativa de isolar a causa da DMT, o bacteriologista russo Dimitri Iwanowiski filtrou a seiva de plantas doentes em filtros de porcelana construídos para reter bactérias. Ele esperava encontrar o micróbio preso ao filtro. Ao contrário, constatou que o agente infeccioso havia passado através dos diminutos poros do filtro. Quando ele injetou o fluido filtrado em plantas saudáveis, elas contraíram a doença. A primeira doença humana associada com um agente filtrável foi a febre amarela.

Os avanços nas técnicas de biologia molecular nos anos de 1980 e 1990 permitiram a identificação de vários novos vírus, incluindo o vírus da imunodeficiência humana (HIV) e o coronavírus associado à síndrome respiratória aguda severa (SARS). O vírus israelense da paralisia aguda tornou-se uma preocupação em 2006, quando dizimou cerca de 90% das abelhas polinizadoras em algumas colmeias norte-americanas. Esse novo vírus foi identificado pela primeira vez em Israel, em 2002, e parece circular nos Estados Unidos desde então. Doenças humanas causadas por esses vírus serão discutidas na Parte Quatro. Neste capítulo, iremos estudar a biologia dos vírus.



SOB O MICROSCÓPIO

Lentivirus. O vírus causador da Aids.

P&R

Em 2007, pesquisadores converteram células da pele em células-tronco embrionárias. Primeiramente, eles inseriram moléculas de RNA complementar para quatro genes embrionários em um vírus; o provírus resultante inseriu os genes no DNA das células da pele. Que vírus pode fazer isto?

Procure pela resposta neste capítulo.

Características gerais dos vírus

OBJETIVO DO APRENDIZADO

13-1 Diferenciar um vírus de uma bactéria.

Cerca de cem anos atrás, os pesquisadores não poderiam imaginar a existência de partículas submicroscópicas, descrevendo então estes agentes infecciosos como um fluido contagioso – do latim, *contagium vivum fluidum*. Já em 1930, os cientistas começaram a utilizar a palavra *virus*, que no latim significa veneno, para descrever estes agentes filtráveis. Todavia, a natureza dos vírus permaneceu obscura até 1935, quando Wendell Stanley, um químico norte-americano, isolou o vírus do mosaico do tabaco, tornando possível, pela primeira vez, o desenvolvimento de estudos químicos e estruturais com um vírus purificado. A invenção do microscópio eletrônico, aproximadamente na mesma época, possibilitou sua visualização.

A questão de os vírus serem organismos vivos ou não tem uma resposta ambígua. A vida pode ser definida como um conjunto complexo de processos resultantes da ação de proteínas codificadas por ácidos nucleicos. Os ácidos nucleicos das células vivas estão em atividade o tempo todo. Como são inertes fora das células vivas, os vírus não são considerados organismos vivos. No entanto, quando um vírus penetra uma célula hospedeira, o ácido nucleico viral torna-se ativo, ocorrendo a multiplicação viral. Sob esse ponto de vista, os vírus estão vivos quando se multiplicam dentro da célula hospedeira. Do ponto de vista clínico, os vírus podem ser considerados vivos por serem capazes de causar infecção e doença, assim como bactérias, fungos e protozoários patogênicos. Dependendo do ponto de vista, um vírus pode ser considerado um agregado excepcionalmente complexo de elementos químicos ou um micro-organismo muito simples.

Como então definimos um vírus? Originalmente, os vírus foram diferenciados de outros agentes infecciosos por serem muito pequenos (filtráveis) e por serem **parasitas intracelulares obrigatórios** – ou seja, requerem células hospedeiras vivas para se multiplicarem. Entretanto, essas duas propriedades são compartilhadas por determinadas bactérias pequenas como algumas riquétsias. Os vírus e as bactérias são comparados na **Tabela 13.1**.

Sabe-se agora que as características que realmente distinguem os vírus estão relacionadas a sua organização estrutural simples e aos mecanismos de multiplicação. Dessa forma, os **vírus** são entidades que:

- Contêm um único tipo de ácido nucleico, DNA ou RNA.
- Contêm um invólucro proteico (às vezes recoberto por um envelope de lipídeos, proteínas e carboidratos) que envolve o ácido nucleico.
- Multiplicam-se no interior de células vivas utilizando a maquinaria de síntese celular.
- Induzem a síntese de estruturas especializadas na transferência do ácido nucleico viral para outras células.

Os vírus possuem poucas ou mesmo nenhuma enzima própria para seu metabolismo. Por exemplo, não possuem enzimas para a síntese proteica e a geração de ATP. Os vírus devem se apossar da maquinaria metabólica da célula hospedeira para sua multiplicação. Esse fato é de considerável importância médica para o de-

Tabela 13.1 Comparação entre vírus e bactérias

	Bactérias		Vírus
	Bactérias típicas	Riquétsias/clamídias	
Parasita intracelular	Não	Sim	Sim
Membrana plasmática	Sim	Sim	Não
Fissão binária	Sim	Sim	Não
Passagem através de filtros bacteriológicos	Não	Não/Sim	Sim
Possui ambos, DNA e RNA	Sim	Sim	Não
Metabolismo de geração de ATP	Sim	Sim/Não	Não
Ribossomos	Sim	Sim	Não
Sensíveis a antibióticos	Sim	Sim	Não
Sensíveis ao interferon	Não	Não	Sim

envolvimento de drogas antivirais, pois a maioria das drogas que interferem na multiplicação viral também pode interferir com a fisiologia da célula hospedeira, sendo, por isso, demasiadamente tóxicas para uso clínico. (As drogas antivirais são discutidas no Capítulo 20.)

Espectro de hospedeiros

O **espectro de hospedeiros** de um vírus consiste na variedade de células hospedeiras que o vírus pode infectar. Existem vírus que infectam invertebrados, vertebrados, plantas, protistas, fungos e bactérias. No entanto, a maioria é capaz de infectar tipos específicos de células de uma única espécie de hospedeiro. Em raras exceções, os vírus cruzam barreiras de espécies, expandindo assim seu espectro de hospedeiros. Um exemplo é descrito no quadro da página 370. Neste capítulo iremos nos preocupar principalmente com os vírus que infectam seres humanos e bactérias. Os vírus que infectam bactérias são denominados **bacteriófagos** ou **fagos**.

O espectro de hospedeiros de um vírus é determinado pela exigência viral quanto à sua ligação específica à célula hospedeira e pela disponibilidade de fatores celulares do hospedeiro em potencial necessários para a multiplicação viral. Para que ocorra a infecção da célula hospedeira, a superfície externa do vírus deve interagir quimicamente com receptores específicos presentes na superfície celular. Os dois componentes complementares são unidos por ligações fracas, como ligações de hidrogênio. A combinação de muitos sítios de ligação e receptores resulta em uma forte associação entre a célula hospedeira e o vírus. Para alguns bacteriófagos, o receptor faz parte da parede da célula hospedeira; em outros casos, faz parte das fímbrias ou dos flagelos. No caso de vírus animais, os receptores estão na membrana plasmática das células hospedeiras.

A possibilidade de utilização dos vírus para tratamento de doenças é intrigante por causa de seu estreito espectro de hospedeiros e sua capacidade de matar as células hospedeiras. A ideia de

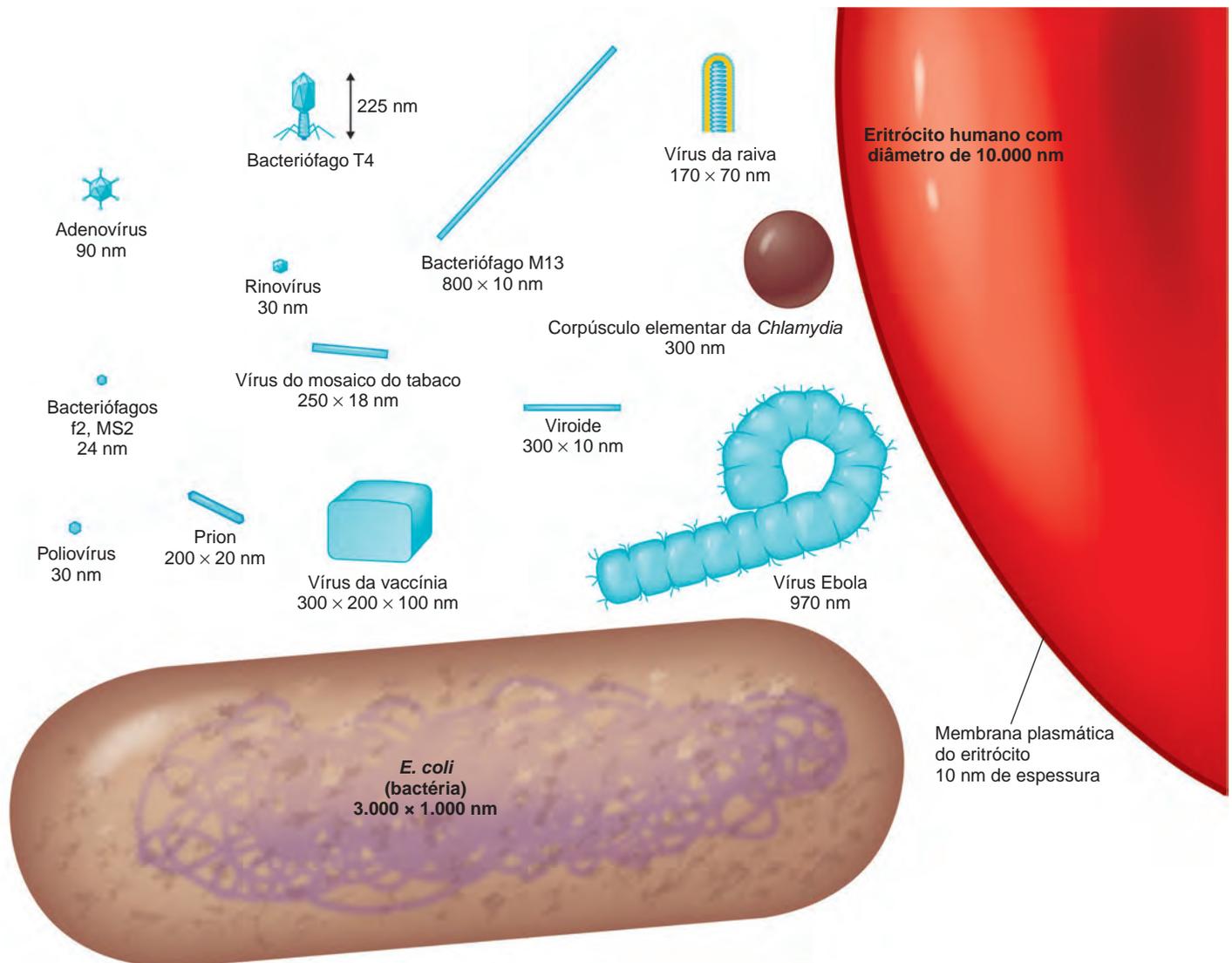


Figura 13.1 Tamanho dos vírus. Os tamanhos de vários vírus (em azul esverdeado) e bactérias (em marrom) são comparados com um eritrócito humano, representado à direita dos micróbios. As dimensões estão em nanômetros (nm) e representam diâmetro ou comprimento por largura.

P Quais as diferenças entre os vírus e as bactérias?

uma *fagoterapia*, utilizando bacteriófagos para tratar infecções bacterianas, já existe há cerca de 100 anos. Avanços recentes no entendimento das interações vírus-hospedeiro têm possibilitado novos estudos no campo da fagoterapia.

Infecções virais induzidas experimentalmente em pacientes com câncer durante a década de 1920 sugeriram que os vírus podem ter atividades antitumorais. Estes vírus destruidores de tumor, ou *oncolíticos*, podem seletivamente infectar e matar células tumorais ou induzir uma resposta imune contra essas células. Alguns vírus infectam de forma natural as células tumorais e outros podem ser modificados geneticamente para infectá-las. Atualmente, vários estudos estão em andamento para determinar o mecanismo de ação dos vírus oncolíticos e a segurança do uso da terapia viral.

Tamanho dos vírus

O tamanho viral é determinado com o auxílio da microscopia eletrônica. Vírus diferentes variam consideravelmente em tamanho. Apesar de a maioria deles ser um pouco menor que as bactérias, alguns dos maiores vírus (como o vírus da vaccínia) são praticamente do mesmo tamanho de algumas bactérias pequenas (como micoplasmas, riquetsias e clamídias). O comprimento dos vírus varia de cerca de 20 a 1.000 nm. A **Figura 13.1** ilustra o tamanho comparativo de alguns vírus e bactérias.

TESTE SEU CONHECIMENTO

- ✓ Como o pequeno tamanho dos vírus poderia ter ajudado os pesquisadores a detectá-los antes da invenção da microscopia eletrônica? **13-1**



Influenza: cruzando a barreira de espécies

O vírus da gripe, ou influenza tipo A, é encontrado em vários animais diferentes, incluindo porcos, baleias, cavalos e focas. Algumas vezes, o vírus influenza A detectado em uma espécie animal pode cruzar a barreira da espécie e causar doença em outra espécie. Por exemplo, até 1998 somente o subtipo H1N1 era encontrado nas populações de porcos nos Estados Unidos. Em 1998, o subtipo H3N2, proveniente de seres humanos, foi introduzido na população de porcos e causou doença disseminada no rebanho de suínos. Os subtipos diferem por causa de certas proteínas localizadas na superfície do vírus (as proteínas hemaglutinina [HA] e neuraminidase [NA]). Existem 16 subtipos diferentes de HA e 9 subtipos diferentes de NA do vírus influenza tipo A.

Como diferentes combinações de proteínas H e N são possíveis?

Cada combinação corresponde a um subtipo diferente. Quando falamos de “vírus influenza humano” nos referimos àqueles subtipos amplamente disseminados entre seres humanos. Existem somente três subtipos conhecidos de vírus influenza humano (H1N1, H1N2 e H3N2).

O que existe de diferente nos vírus da Tabela A?

Estes subtipos ocorrem principalmente em aves. Os vírus que causam a influenza aviária em geral não infectam seres humanos, mas podem ser transmitidos aos seres humanos: (1) diretamente das aves ou de ambientes contaminados por elas ou (2) através de um hospedeiro intermediário, como o porco. Os porcos são transmissores importantes, pois podem ser infectados com os vírus influenza humano e aviário. O genoma do vírus influenza é composto por oito segmentos. Um genoma segmentado permite o rearranjo dos genes virais e a criação de novos vírus influenza A se partículas virais de duas espécies diferentes infectarem a mesma pessoa ou animal (veja a figura). Isto é conhecido como *desvio antigénico* (do inglês *antigenic shift*).

Por que ocorrem tão poucos casos de influenza aviária em humanos?

Até o momento, o vírus da influenza aviária não tem causado surtos na população humana, pois

a transmissão pessoa-pessoa não é infectiva. Todos os casos na **Tabela A** podem ser atribuídos a surtos em aves domésticas, exceto um caso notável de possível transmissão de uma filha para sua mãe.

Em quais continentes ocorreram casos de infecção por H5N1 em humanos?

Durante o século XX, o surgimento de novos subtipos de influenza A causou três pandemias, todas disseminadas ao redor do mundo em um

intervalo de um ano após terem sido detectadas pela primeira vez (veja a **Tabela B**). É provável que alguns segmentos de genoma desses subtipos de influenza A tenham se originado das aves. Muitos cientistas acreditam que a ocorrência de uma próxima pandemia de influenza é apenas uma questão de tempo.

Fonte: Adaptado dos textos do *MMWR*.

Tabela A Casos recentes de infecções humanas pelo vírus da influenza aviária			
Vírus influenza	Localização	Ano	Casos humanos
H5N1	Sudeste asiático	2005-2007	350 esporádicos
H5N1	Egito	2006-2007	38
H5N1	China	2006-2007	25
H7N2	Reino Unido	2007	4
H5N1	Turquia	2006	3
H5N1	Iraque	2006	2
H5N1	Azerbaijão	2006	1
H5N1	Jibuti	2006	1
H5N1	Nigéria	2007	1
H5N1	Sudeste asiático	2005	130 esporádicos
H5N1	Sudeste asiático	2004	35 esporádicos
H7N3	Canadá	2004	Infecções oculares em trabalhadores de granjas
H7N2	Nova York	2003	1
H7N7	Holanda	2003	89
H5N1	China	2003	2
H7N2	Virgínia	2002	1
H9N2	China	1999	2
H5N1	China	1997	18

Estrutura viral

OBJETIVO DO APRENDIZADO

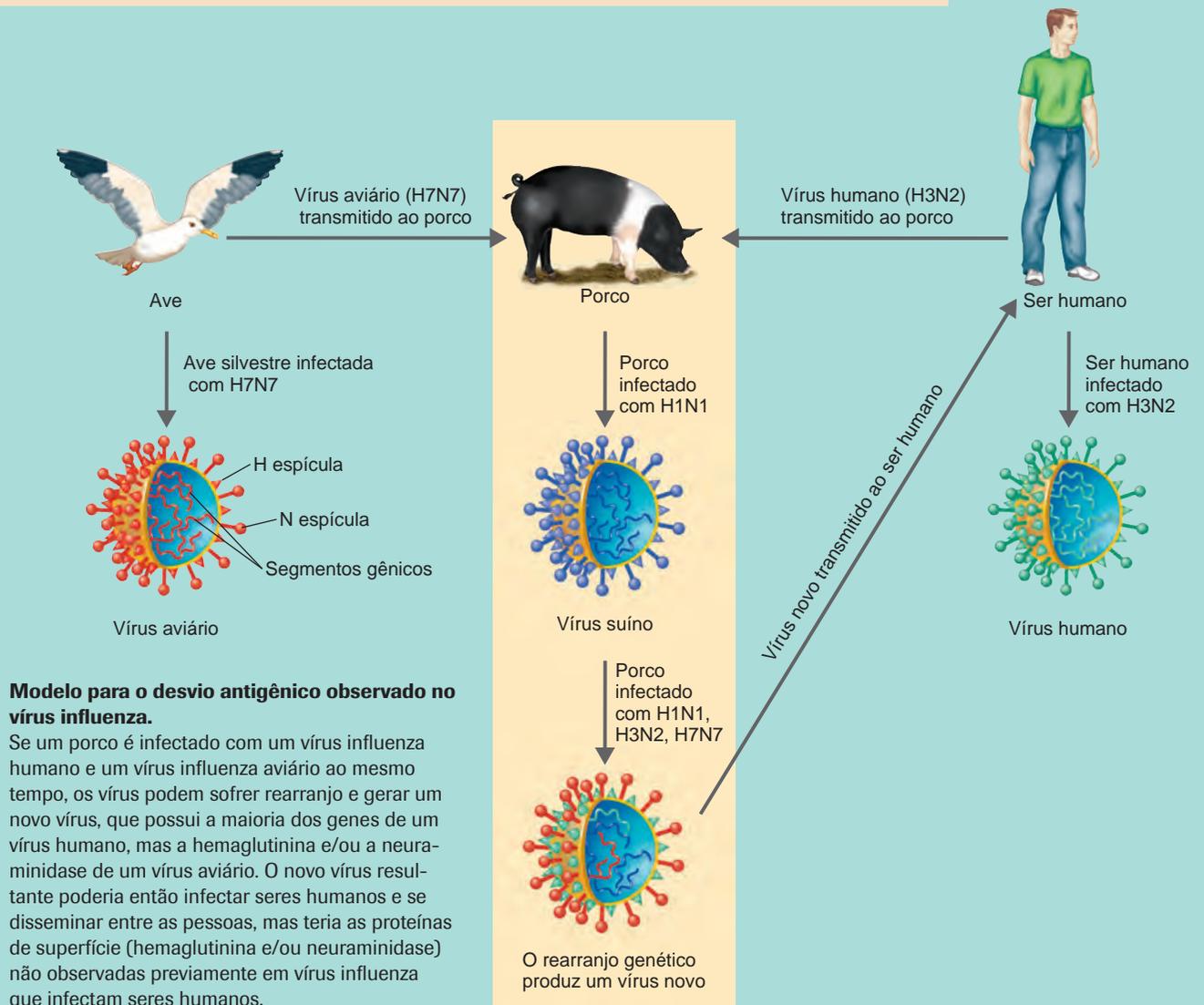
13-2 Descrever a estrutura química e física dos vírus envelopados e dos vírus não envelopados.

Um **vírion** é uma partícula viral completa e infecciosa composta por um ácido nucleico envolto por uma cobertura de proteína, que o protege do ambiente e serve como um veículo de transmissão de uma célula hospedeira para outra. Os vírus são classificados de acordo com as diferenças na estrutura desses envoltórios.

Tabela B

Pandemias causadas por influenza A durante o século XX

1918-19	O vírus H1N1 causou mundialmente cerca de 50 milhões de mortes. A origem do vírus pandêmico de 1918-19 não é clara.
1957-58	O vírus H2N2 causou cerca de 70.000 mortes nos Estados Unidos. Foi inicialmente identificado na China no final do mês de fevereiro de 1957. O vírus continha uma combinação de genes do vírus influenza humano e aviário.
1968-69	O vírus H3N2 causou cerca de 34.000 mortes nos Estados Unidos. O vírus continha genes do vírus influenza humano e aviário.



Ácido nucleico

Ao contrário das células procarióticas e eucarióticas, nas quais o DNA é sempre o material genético principal (o RNA possui um papel auxiliar), os vírus podem possuir tanto DNA como RNA,

mas nunca ambos. O ácido nucleico dos vírus pode ser de fita simples ou dupla. Assim, existem vírus com DNA de fita dupla, DNA de fita simples, RNA de fita dupla e RNA de fita simples. Dependendo do vírus, o ácido nucleico pode ser linear ou circu-

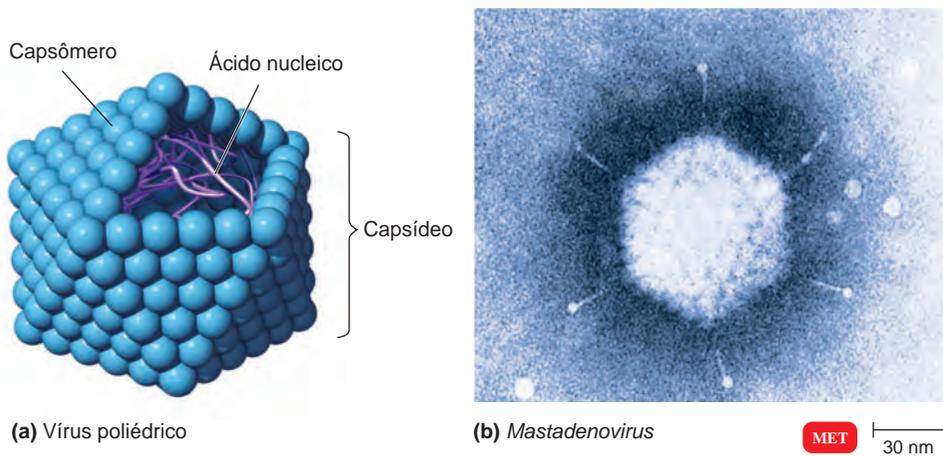


Figura 13.2 Morfologia de um vírus poliédrico não envelopado. **(a)** Diagrama de um vírus poliédrico (icosaédrico). **(b)** Microfotografia do *Mastadenovirus*, um adenovírus. São visíveis os capsômeros individuais do capsídeo.

P Qual é a composição química do capsídeo?

lar. Em alguns vírus (como o vírus da gripe), o ácido nucleico é segmentado.

A porcentagem de ácido nucleico viral em relação à porcentagem de proteína é de cerca de 1% no caso do vírus influenza e de cerca de 50% para certos bacteriófagos. A quantidade total de ácido nucleico varia de poucos milhares de nucleotídeos (ou pares de nucleotídeos) até 250.000 nucleotídeos. (O cromossomo de *E. coli* possui, aproximadamente, 4 milhões de pares de bases.)

Capsídeo e envelope

O ácido nucleico dos vírus é protegido por um envoltório proteico chamado de **capsídeo** (Figura 13.2a). A estrutura do capsídeo é determinada basicamente pelo genoma viral e constitui a maior parte da massa viral, especialmente em partículas pequenas. Cada capsídeo é composto por subunidades proteicas chamadas de **capsômeros**. Em alguns vírus, as proteínas que compõem os capsômeros são de um único tipo; em outros, vários tipos de proteínas podem estar presentes. Os capsômeros em geral são visíveis nas microfotografias

eletrônicas (veja um exemplo na Figura 13.2b). A organização dos capsômeros é característica para cada tipo de vírus.

Em alguns vírus, o capsídeo é coberto por um **envelope** (Figura 13.3a), que normalmente consiste em uma combinação de lipídeos, proteínas e carboidratos. Alguns vírus animais são liberados da célula hospedeira por um processo de extrusão, no qual a partícula é envolvida por uma camada de membrana plasmática celular que passa a constituir o envelope viral. Em muitos casos, o envelope contém proteínas codificadas pelo genoma viral juntamente com materiais derivados de componentes normais da célula hospedeira.

Dependendo do vírus, os envelopes podem ou não apresentar **espículas**, constituídas por complexos carboidrato-proteína que se projetam da superfície do envelope. Alguns vírus se ligam à superfície da célula hospedeira através dessas espículas, que são tão características de muitos vírus que são usadas na sua identificação. A capacidade de determinados vírus, como o vírus da gripe (Figura 13.3b), de agregar eritrócitos está associada à presença das espículas. Esses vírus se ligam aos eritrócitos formando pontes en-

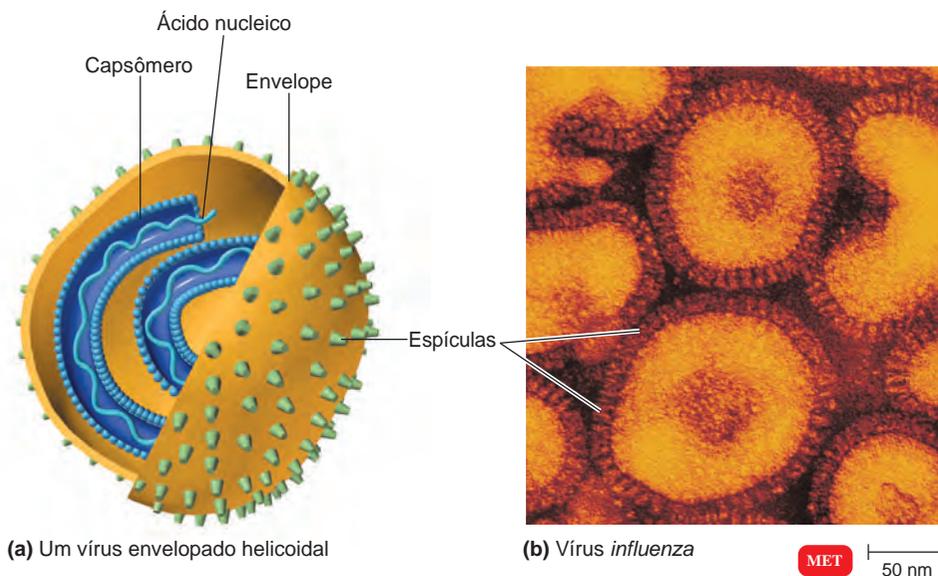
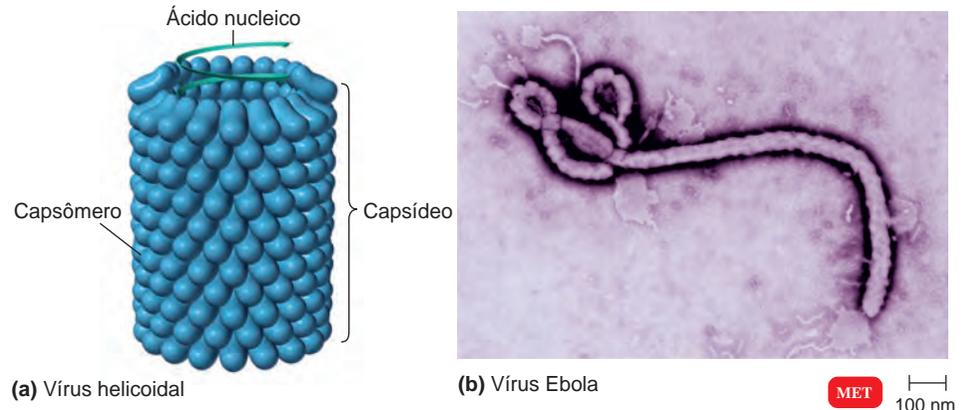


Figura 13.3 Morfologia de um vírus helicoidal envelopado. **(a)** Diagrama de um vírus helicoidal envelopado. **(b)** Microfotografia do vírus influenza A2. Note o halo de espículas se projetando da superfície externa do envelope (veja o Capítulo 24).

P Quais são os tipos de ácido nucleico de um vírus?

Figura 13.4 Morfologia de um vírus helicoidal. (a) Diagrama de uma parte de um vírus helicoidal. Foram removidas várias fileiras de capsômeros para expor o ácido nucleico. (b) Microfotografia do vírus Ebola, um filovírus, mostrando os bastonetes helicoidais.

P Qual é a composição química dos capsômeros?



tre eles. A agregação resultante é chamada de *hemaglutinação* e é a base para vários testes laboratoriais úteis. (Veja a Figura 18.7, página 511.)

Os vírus cujos capsídeos não estão cobertos por um envelope são conhecidos como **vírus não envelopados** (veja a Figura 13.2). Nesse caso, o capsídeo protege o ácido nucleico viral do ataque das nucleases presentes nos fluidos biológicos e promove a ligação da partícula às células suscetíveis.

Quando um hospedeiro é infectado por um vírus, o sistema imune é estimulado a produzir anticorpos (proteínas que reagem com as proteínas de superfície do vírus). Essa interação entre os anticorpos do hospedeiro e as proteínas virais inativa o vírus e interrompe a infecção. Entretanto, muitos vírus podem escapar dos anticorpos, pois os genes que codificam as proteínas virais de superfície sofrem mutações. A progênie dos vírus mutantes possui proteínas de superfície alteradas, de forma que não são capazes de reagir com os anticorpos. O vírus da gripe frequentemente sofre alterações em suas espículas, sendo por esta razão que se contrai a gripe mais de uma vez. Apesar de termos produzido anticorpos contra um subtipo de vírus da gripe, este pode sofrer mutações e nos infectar novamente.

Morfologia geral

Os vírus podem ser classificados em vários tipos morfológicos diferentes, com base na arquitetura do capsídeo. A estrutura do capsídeo tem sido elucidada por microscopia eletrônica e uma técnica conhecida como cristalografia de raios X.

Vírus helicoidais

Os vírus helicoidais lembram bastões longos, que podem ser rígidos ou flexíveis. O genoma viral está no interior de um capsídeo cilíndrico e oco com estrutura helicoidal (Figura 13.4). Os vírus que causam raiva e febre hemorrágica são helicoidais.

Vírus poliédricos

Muitos vírus animais, vegetais e bacterianos são poliédricos. O capsídeo da maioria dos vírus poliédricos tem a forma de um icosaedro, um poliedro regular com 20 faces triangulares e 12 vértices (veja a Figura 13.2a). Os capsômeros de cada face formam um tri-

ângulo equilátero. O adenovírus é um exemplo de um vírus poliédrico com a forma de um icosaedro (veja a Figura 13.2b). O poliovírus também é icosaédrico.

Vírus envelopados

Como mencionado anteriormente, o capsídeo de alguns vírus é coberto por um envelope. Os vírus envelopados são relativamente esféricos. Os vírus helicoidais e os poliédricos envoltos por um envelope são denominados *vírus helicoidais envelopados* ou *vírus poliédricos envelopados*. Um exemplo de vírus helicoidal envelopado é o vírus influenza (veja a Figura 13.3b). O vírus do herpes (gênero *Simplexvirus*) é um exemplo de vírus poliédrico (icosaédrico) envelopado (veja a Figura 13.16b).

Vírus complexos

Alguns vírus, particularmente os vírus bacterianos, possuem estruturas complicadas e são denominados **vírus complexos**. Um bacteriófago é um exemplo de um vírus complexo. Alguns bacteriófagos possuem capsídeos com estruturas adicionais aderidas (Figura 13.5a). Nesta figura, note que o capsídeo (cabeça) é poliédrico e a bainha é helicoidal. A cabeça contém o genoma viral. Mais adiante neste capítulo, serão descritas as funções de outras estruturas, como a bainha, as fibras da cauda, a placa e o pino. Os poxvírus são outro exemplo de vírus complexos que não possuem capsídeos claramente definidos, mas apresentam várias coberturas ao redor do genoma viral (Figura 13.5b).

TESTE SEU CONHECIMENTO

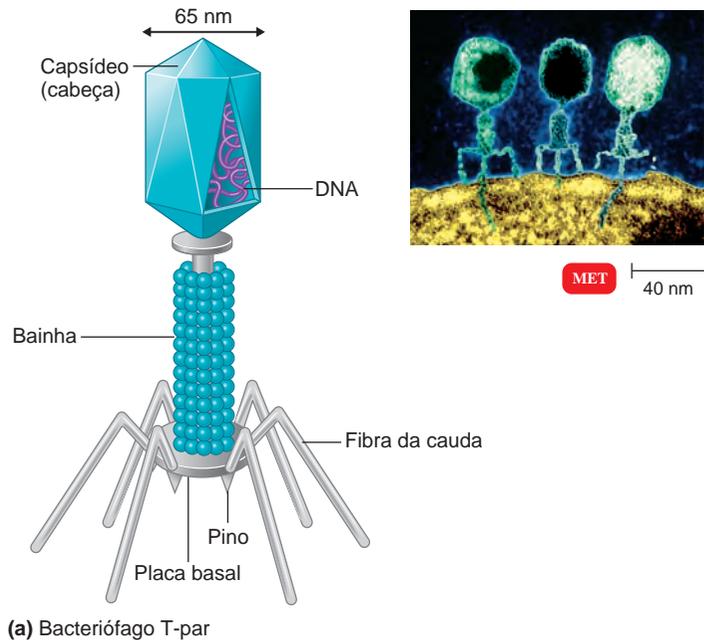
- ✓ Desenhe um vírus poliédrico não envelopado que possua espículas.
13-2

Taxonomia dos vírus

OBJETIVOS DO APRENDIZADO

- 13-3 Definir espécie viral.
13-4 Dar um exemplo de família, gênero e nome vulgar de um vírus.

Da mesma maneira que precisamos de categorias taxonômicas para plantas, animais e bactérias, necessitamos de taxonomia viral para



(a) Bacteriófago T-par

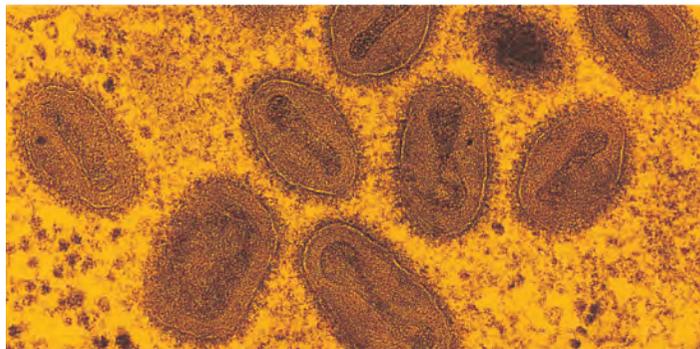
(b) *Orthopoxvirus*

Figura 13.5 Morfologia de um vírus complexo. (a) Diagrama e microfotografia de um bacteriófago T-par. (b) Microfotografia do vírus da varíola, uma espécie do gênero *Orthopoxvirus*.

P Qual é a importância do capsídeo para um vírus?

nos auxiliar a organizar e entender novos organismos descobertos. A classificação mais antiga dos vírus tem como base a sintomatologia, como a das doenças que afetam o sistema respiratório. Esse sistema é conveniente, mas não é aceitável cientificamente porque o mesmo vírus pode causar mais de uma doença, dependendo do tecido afetado. Além disso, esse sistema agrupa artificialmente vírus que não infectam seres humanos.

Os virologistas começaram a tratar do problema da taxonomia viral em 1966, com a criação do Comitê Internacional de Taxonomia Viral (CITV). Desde então, o CITV tem agrupado os vírus em famílias com base (1) no tipo de ácido nucleico viral, (2) na estratégia de replicação e (3) na morfologia. O sufixo *virus* é usado para os gêneros, enquanto as famílias de vírus recebem o sufixo *viridae*, e as ordens, o sufixo *ales*. No uso formal, os nomes das famílias e

dos gêneros são usados da seguinte maneira: Família *Herpesviridae*, gênero *Simplexvirus*, vírus do herpes humano tipo 2.

Uma **espécie viral** compreende um grupo de vírus que compartilham a mesma informação genética e o mesmo nicho ecológico (espectro de hospedeiros). Epítetos específicos não são utilizados para os vírus. Dessa forma, as espécies virais são designadas por nomes descritivos vulgares, como vírus da imunodeficiência humana (HIV), e as subespécies (se existirem) são designadas com um número (HIV-1). A Tabela 13.2 apresenta um resumo para a classificação dos vírus que infectam seres humanos.

TESTE SEU CONHECIMENTO

- ✓ Como as espécies virais se diferenciam das espécies bacterianas? **13-3**
- ✓ Adicione as terminações corretas à palavra *Papilloma* – para exemplificar a família e o gênero que incluem o HPV, o vírus que causa o câncer cervical. **13-4**

Isolamento, cultivo e identificação de vírus

OBJETIVOS DO APRENDIZADO

- 13-5** Descrever como os bacteriófagos são cultivados.
- 13-6** Descrever como os vírus animais são cultivados.
- 13-7** Listar três técnicas utilizadas para identificar os vírus.

O fato de os vírus não poderem se multiplicar fora de uma célula viva complica a detecção, a quantificação e a identificação. Os vírus não se multiplicam em meios de cultura quimicamente sintéticos, devendo estar obrigatoriamente associados a células vivas. As plantas e os animais são de manutenção difícil e dispendiosa, e os vírus patogênicos que se multiplicam somente em primatas superiores ou em hospedeiros humanos trazem complicações adicionais. No entanto, os vírus cujos hospedeiros são as células bacterianas (bacteriófagos) multiplicam-se mais facilmente em culturas bacterianas. Essa é uma razão pela qual a maior parte do nosso conhecimento sobre a multiplicação viral provém do estudo dos bacteriófagos.

O cultivo de bacteriófagos em laboratório

Os bacteriófagos podem se multiplicar tanto em culturas bacterianas em meio líquido em suspensão quanto em meio sólido. O meio sólido torna possível o uso do *método da contagem da placa de lise* para a detecção e a quantificação das partículas virais. Uma amostra de bacteriófagos é misturada com as bactérias em ágar fundido. O ágar contendo a mistura de bacteriófagos e bactérias é então colocado em uma placa de Petri contendo uma camada de meio de cultura com ágar mais duro. A mistura vírus-bactéria se solidifica formando uma camada com a espessura aproximada de uma célula bacteriana. Cada vírus infecta uma bactéria, se multiplica e libera centenas de novos vírus que infectarão as bactérias adjacentes que, por sua vez, produzirão novos vírus. Após vários ciclos de multiplicação viral, todas as bactérias localizadas nas proximidades da infecção inicial são destruídas. Isso leva à produção de um determinado número de zonas claras, ou **placas de**

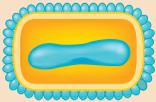
Tabela 13.2 Famílias de vírus que afetam seres humanos			
Características/ dimensões	Família viral	Gêneros importantes	Aspectos clínicos ou especiais
DNA de fita simples não envelopado			
18 a 25 nm	<i>Parvoviridae</i> 	Parvovírus humano B19	A quinta doença; anemia em pacientes imunocomprometidos. Consulte o Capítulo 21.
DNA de fita dupla não envelopado			
70 a 90 nm	<i>Adenoviridae</i> 	<i>Mastadenovirus</i>	Vírus de tamanho médio que causam várias infecções respiratórias em seres humanos; alguns causam tumores em animais.
40 a 57 nm	<i>Papovaviridae</i> 	<i>Papillomavirus</i> (vírus que causam verrugas em seres humanos) <i>Polyomavirus</i>	Vírus pequenos que induzem tumores; vírus que causam verrugas em humanos (papiloma) e determinados vírus que produzem câncer em animais (polioma e símio). Consulte os Capítulos 21 e 26.
DNA de fita dupla envelopado			
200 a 350 nm	<i>Poxviridae</i> 	<i>Orthopoxvirus</i> da (vírus da vaccínia e varíola) <i>Molluscipoxvirus</i>	Vírus muito grandes, complexos e em forma de tijolo que causam doenças como a varíola, o <i>Moluscum contagiosum</i> (lesões de pele semelhantes a verrugas) e a varíola bovina (<i>Cowpox</i>). Consulte o Capítulo 21.
150 a 200 nm	<i>Herpesviridae</i> 	<i>Simplexvirus</i> (HHV-1 e 2) <i>Varicellovirus</i> (HHV-3) <i>Lymphocryptovirus</i> (HHV-4) <i>Cytomegalovirus</i> (HHV-5) <i>Roseolovirus</i> (HHV-6) HHV-7 Vírus do sarcoma de Kaposi (HHV-8)	Vírus de tamanho médio que causam várias doenças em humanos como herpes labial, catapora, herpes zoster e mononucleose infecciosa; causam um tipo de câncer humano denominado linfoma de Burkitt. Consulte os Capítulos 21, 23 e 26.
42 nm	<i>Hepadnaviridae</i> 	<i>Hepadnavirus</i> (vírus da hepatite B)	Após a síntese proteica, o vírus da hepatite B usa a transcriptase reversa para produzir o seu DNA a partir de um mRNA; causa hepatite B e tumores hepáticos. Consulte o Capítulo 25.
RNA de fita simples positiva não envelopado			
28 a 30 nm	<i>Picornaviridae</i> 	<i>Enterovirus</i> <i>Rhinovirus</i> (vírus do resfriado comum) Vírus da hepatite A	São conhecidos, pelo menos, 70 enterovírus humanos, incluindo poliovírus, coxsackie e ecovírus; existem mais de 100 rinovírus que são a causa mais comum dos resfriados. Consulte os Capítulos 22, 24 e 25.
35 a 40 nm	<i>Caliciviridae</i> 	Vírus da Hepatite E <i>Norovirus</i>	Inclui agentes causadores de gastroenterites e um tipo de hepatite humana. Consulte o Capítulo 25.
RNA de fita simples positiva envelopado			
60 a 70 nm	<i>Togaviridae</i> 	<i>Alphavirus</i> <i>Rubivirus</i> (vírus da rubéola)	Inclui muitos vírus transmitidos por artrópodes (<i>Alphavirus</i>); entre as doenças estão as encefalites equinas orientais e ocidentais. O vírus da rubéola é transmitido por via respiratória. Consulte os Capítulos 21, 22 e 23.

Tabela 13.2 Famílias de vírus que afetam seres humanos			
Características/dimensões	Família viral	Gêneros importantes	Aspectos clínicos ou especiais
40 a 50 nm	<i>Flaviviridae</i> 	<i>Flavivirus</i> <i>Pestivirus</i> Vírus da hepatite C	Podem se replicar nos artrópodes que os transmitem; as doenças incluem a febre amarela, a dengue e as encefalites de St. Louis e do Oeste do Nilo (<i>West Nile virus</i>). Consulte os Capítulos 22, 23 e 25.
80 a 160 nm	<i>Coronaviridae</i> 	<i>Coronavirus</i>	Associados com infecções do trato respiratório superior e resfriado comum; vírus causador da síndrome respiratória aguda severa (SARS). Consulte o Capítulo 24.
RNA de fita simples negativa, fita única			
70 a 180 nm	<i>Rhabdoviridae</i> 	<i>Vesiculovirus</i> (vírus da estomatite vesicular) <i>Lyssavirus</i> (vírus da raiva)	Vírus em forma de projétil possuindo envelope com espículas; causam raiva e numerosas doenças animais. Consulte o Capítulo 22.
80 a 14.000 nm	<i>Filoviridae</i> 	<i>Filovirus</i>	Vírus helicoidais envelopados; os vírus Ebola e Marburg são filovírus.
150 a 300 nm	<i>Paramyxoviridae</i> 	<i>Paramyxovirus</i> <i>Morbilivirus</i> (vírus do sarampo)	Os paramixovírus causam <i>parainfluenza</i> , caxumba e a doença de Newcastle em aves domésticas. Consulte os Capítulos 21, 24 e 25.
32 nm	<i>Deltaviridae</i> 	Hepatite D	Depende de coinfeção com <i>Hepadnavirus</i> . Consulte o Capítulo 25.
RNA de fita simples negativa, segmentado			
80 a 200 nm	<i>Orthomyxoviridae</i> 	<i>Vírus influenza</i> A, B e C	As espículas presentes no envelope aglutinam eritrócitos. Consulte o Capítulo 24.
90 a 120 nm	<i>Bunyaviridae</i> 	<i>Bunyavirus</i> (vírus da encefalite da Califórnia) <i>Hantavirus</i>	Os hantavírus causam febres hemorrágicas como a febre hemorrágica coreana e a síndrome pulmonar; associados com roedores. Consulte os Capítulos 22 e 23.
110 a 130 nm	<i>Arenaviridae</i> 	<i>Arenavirus</i>	Os capsídeos helicoidais possuem grânulos contendo RNA; causam coriomeningite linfocitária, febre hemorrágica venezuelana e a febre de Lassa. Consulte o Capítulo 23.
Produs DNA			
100 a 120 nm	<i>Retroviridae</i> 	<i>Oncovirus</i> <i>Lentivirus</i> (HIV)	Incluem todos os vírus de RNA causadores de tumor. Os oncovírus causam leucemia e tumores em animais; o lentivírus HIV causa Aids. Consulte o Capítulo 19.
RNA de fita dupla, não envelopado			
60 a 80 nm	<i>Reoviridae</i> 	<i>Reovirus</i> <i>Rotavirus</i>	Envolvidos em infecções respiratórias brandas e gastroenterites; uma espécie sem classificação causa a febre do carrapato do Colorado. Consulte o Capítulo 25.



Figura 13.6 Placas de lise formadas por bacteriófagos. Placas de lise de diferentes tamanhos formadas pelo bacteriófago λ (lambda) em uma monocamada de *E. coli*.

P O que significa unidade formadora de placa?

lise, que são visíveis na monocamada de células bacterianas que crescem na superfície do ágar (Figura 13.6). Enquanto as placas são formadas, as bactérias de outras regiões da placa de Petri e que não foram infectadas continuam se proliferando rapidamente e produzem áreas de turbidez.

Cada placa corresponde, teoricamente, a uma única partícula viral da suspensão original. Dessa forma, a concentração das suspensões virais, medida pelo número de placas formadas, em geral é dada em **unidades formadoras de placas (UFPs)**.

O cultivo de vírus animais em laboratório

Em laboratório, geralmente são utilizados três métodos para o cultivo de vírus animais. Esses métodos envolvem o uso de animais, ovos embrionados e culturas celulares.

Em animais vivos

Alguns vírus só podem ser cultivados em animais como camundongos, coelhos e cobaias. A maioria dos estudos para avaliar a resposta imune contra infecções virais também é realizada em animais infectados. A inoculação de animais pode ser utilizada como um procedimento diagnóstico para a identificação e o isolamento de um vírus a partir de amostras clínicas. Após ser inoculado com o espécime clínico, o animal é observado quanto ao aparecimento de sinais de doença ou é sacrificado para que seus tecidos possam ser analisados à procura de partículas virais.

Alguns vírus humanos não se multiplicam em animais, ou se multiplicam, mas não causam doença aparente. A falta de mode-

los animais naturais para o vírus da Aids tem tornado mais lento o nosso entendimento sobre o processo da doença e tem impedido o teste de drogas que inibam a multiplicação do vírus *in vivo*. Os chimpanzés podem ser infectados com uma subespécie do HIV (HIV-1, gênero *Lentivirus*), mas, como não apresentam sintomas da doença, não podem ser usados no estudo dos efeitos da multiplicação viral ou no tratamento da doença. Vacinas contra a Aids estão sendo testadas atualmente em seres humanos, mas a doença evolui de maneira tão lenta que pode demorar anos para se determinar sua eficácia. Em 1986, foi descrita uma Aids símia, uma doença da imunodeficiência em macacos verdes, seguida da descrição, em 1987, de uma Aids felina, uma doença da imunodeficiência em gatos domésticos. Essas doenças são causadas por lentivírus proximalmente relacionados ao HIV que se desenvolvem em poucos meses, constituindo assim um modelo para se estudar a multiplicação viral em diferentes tecidos. Em 1990, foi desenvolvido um método para inoculação de camundongos com o HIV que consiste no uso de camundongos imunodeficientes enxertados para a produção de células T e gamaglobulina humanas. Os camundongos constituem um modelo confiável para o estudo da replicação viral, embora não sejam um modelo adequado para o desenvolvimento de vacinas.

Em ovos embrionados

Para vírus capazes de se multiplicar em *ovos embrionados*, essa é uma forma de hospedeiro conveniente e não dispendiosa para o cultivo de muitos vírus animais. Uma perfuração é feita na casca do ovo embrionado, e uma suspensão viral ou uma suspensão de tecido suspeito de conter vírus é injetada no fluido presente no interior do ovo. O ovo contém várias membranas, e os vírus também podem ser injetados próximos da membrana mais adequada à sua multiplicação (Figura 13.7). A multiplicação viral se manifesta

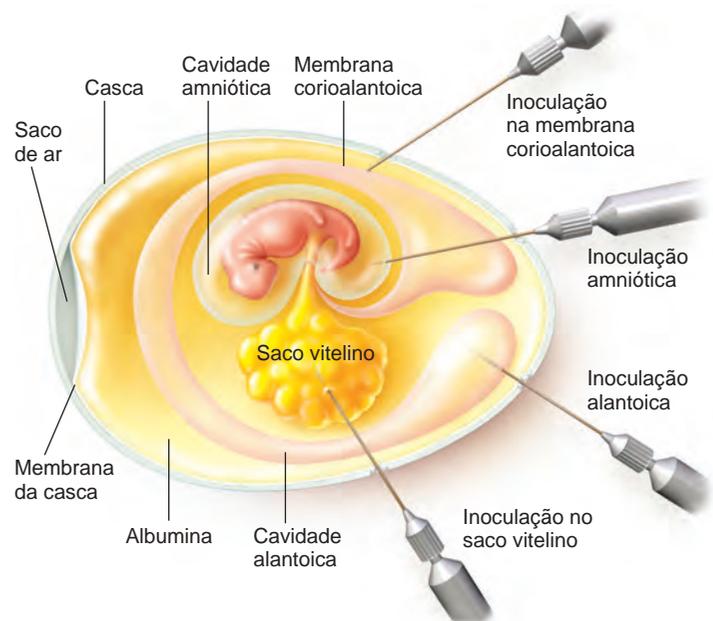


Figura 13.7 Inoculação em um ovo embrionado. Os sítios das injeções determinam em qual membrana os vírus irão se multiplicar.

P Por que os vírus se multiplicam em ovos e não em meios de cultura?



Figura 13.8 Culturas celulares. As células transformadas podem crescer indefinidamente em cultivo.

P Por que nos referimos às células transformadas como células “imortais”?

pela morte do embrião, por danos às células embrionárias ou pela formação de lesões típicas nas membranas. Esse método já foi um dos mais utilizados para o isolamento e a multiplicação viral, sendo ainda usado na produção de vírus para algumas vacinas. É por isso que poderão nos perguntar, antes de sermos vacinados, se somos alérgicos a ovo, pois proteínas do ovo podem estar presentes nessas preparações de vacinas. (As reações alérgicas serão discutidas no Capítulo 19.)

Em culturas de células

As **culturas de células** têm substituído os ovos embrionados como meio de cultivo preferido para muitos vírus. As culturas de células consistem em células que se dividem em meio de cultura em laboratório. É mais conveniente trabalhar com cultivos celulares do que com animais ou ovos embrionados, pois em geral os cultivos constituem coleções mais homogêneas de células e podem ser propagados e manipulados da mesma forma que as culturas bacterianas.

A obtenção de uma linhagem celular é iniciada com o tratamento enzimático de fragmentos do tecido animal para separação das células (Figura 13.8). As células isoladas são suspensas em uma solução com pressão osmótica, nutrientes e fatores de crescimento necessários ao seu desenvolvimento. As células normais tendem a aderir ao recipiente de plástico ou vidro e se reproduzem formando uma monocamada. A infecção viral dessa monocamada muitas vezes causa a sua destruição à medida que os vírus se multiplicam. Essa destruição celular é denominada **efeito citopático (ECP)**, ilustrado na Figura 13.9. O ECP pode ser detectado e quantificado da mesma forma que as placas de lise produzidas por bacteriófagos em monocamadas de bactéria, sendo informado como UFP/mL.

Os vírus podem se multiplicar em células de linhagem primária ou contínua. As **células de linhagem primária**, derivadas de fragmentos de tecidos, tendem a morrer após poucas gerações. Determinadas linhagens celulares, denominadas **linhagens diploides**, derivadas de embriões humanos, podem manter-se por cerca de 100 gerações e são amplamente utilizadas para a multiplicação

de vírus que requerem hospedeiros humanos. Linhagens como essas são utilizadas para o cultivo do vírus da raiva na produção de uma vacina antirrábica chamada de vacina humana diploide (veja o Capítulo 22).

As **células de linhagem contínua** são utilizadas na multiplicação rotineira de vírus em laboratório. São células transformadas (ou cancerígenas) aquelas que podem ser mantidas por um número indefinido de gerações, sendo às vezes chamadas de linhagens imortais (veja a discussão sobre transformação na página 390). Uma dessas linhagens, a célula HeLa, foi isolada do câncer de uma mulher (Henrietta Lacks) falecida em 1951. Após anos de cultivo em laboratório, muitas dessas linhagens perderam quase todas as suas características originais, mas essas alterações não interferiram no seu uso para a multiplicação viral. Apesar do sucesso do cultivo celular no isolamento e na multiplicação dos vírus, ainda existem alguns vírus que nunca puderam ser cultivados com sucesso por meio desse método.

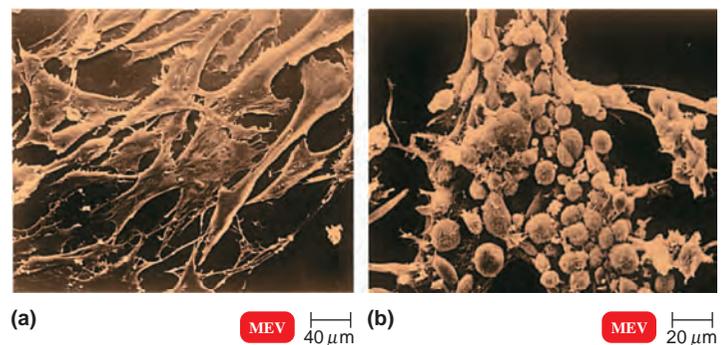


Figura 13.9 Efeito citopático dos vírus. (a) Células de camundongo não infectadas, formando uma monocamada. (b) As mesmas células 24 horas após a infecção com o vírus da estomatite vesicular (VSV) (veja a Figura 13.18a). Observe a superposição e o “arredondamento” celular.

P Como a infecção por VSV afeta as células?

A ideia do cultivo celular data do final do século XIX, mas só se tornou uma técnica laboratorial após o desenvolvimento dos antibióticos nos anos subsequentes à Segunda Guerra Mundial. O principal problema relacionado com o cultivo celular é que as células devem ser mantidas livres de contaminação microbiana. A manutenção de linhagens celulares requer pessoal treinado, com experiência considerável e trabalhando em tempo integral. Devido a essas dificuldades, a maioria dos laboratórios hospitalares e muitos laboratórios de saúde pública não isolam nem identificam os vírus. Em vez disso, as amostras são enviadas para laboratórios de referência especializados nessas funções.

Identificação viral

A identificação de um isolado viral não é tarefa fácil. Para começar, os vírus só podem ser vistos com o auxílio de um microscópio eletrônico. Os métodos sorológicos, como o *Western blotting*, são os métodos de identificação mais comumente utilizados (veja a Figura 10.12, página 289). Nesses testes, o vírus é detectado e identificado por sua reação com anticorpos. Os anticorpos serão discutidos com detalhes no Capítulo 17, e alguns testes imunológicos para identificação viral, no Capítulo 18. A observação dos efeitos citopáticos, descrita no Capítulo 15 (página 441), também é útil para a identificação dos vírus.

Os virologistas podem identificar e caracterizar os vírus por métodos moleculares modernos, como o uso de poliformismos de tamanho de fragmentos de restrição (RFLPs, de *restriction fragment length polymorphisms*) e da reação em cadeia da polimerase (PCR, de *polymerase chain reaction*) (Capítulo 9, página 251). A PCR foi utilizada para amplificação do RNA viral e identificação do vírus da encefalite do oeste do Nilo nos Estados Unidos, em 1999, e do coronavírus associado à SARS na China, em 2002.

TESTE SEU CONHECIMENTO

- ✓ O que é o método de placa? **13-5**
- ✓ Por que, na prática, células de linhagem contínua são mais utilizadas para o cultivo viral do que células de linhagem primária? **13-6**
- ✓ Quais testes poderiam ser usados para a identificação do vírus influenza em um paciente? **13-7**

Multiplicação viral

OBJETIVOS DO APRENDIZADO

- 13-8** Descrever o ciclo lítico dos bacteriófagos T-pares.
- 13-9** Descrever o ciclo lisogênico do bacteriófago lambda.
- 13-10** Comparar e contrastar o ciclo de multiplicação dos vírus animais contendo DNA ou RNA.

O ácido nucleico de um vírion contém somente uma pequena quantidade dos genes necessários para a síntese de novos vírus. Entre eles estão os genes que codificam os componentes estruturais do vírion, como as proteínas do capsídeo, e os genes que codificam algumas enzimas utilizadas no ciclo de multiplicação viral. Essas enzimas são sintetizadas e funcionam somente quando o vírus está dentro da célula hospedeira. As enzimas virais são quase que exclusivamente envolvidas na replicação e no processamento do ácido nucleico viral. As enzimas necessárias para a síntese de

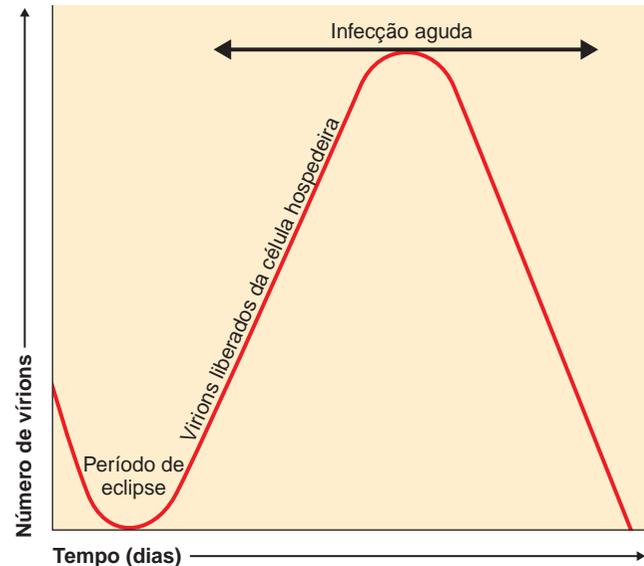


Figura 13.10 Curva de ciclo único. Novas partículas virais só são encontradas na cultura após a biossíntese e a maturação. A infecção viral resulta na morte da maioria das células infectadas, e conseqüentemente novos vírus não serão mais produzidos.

P O que pode ser detectado nas células durante a biossíntese e a maturação?

proteínas, os ribossomos, o tRNA e a produção de energia são fornecidos pela célula hospedeira e são usados na síntese de proteínas virais, incluindo enzimas virais. Embora os menores vírions não envelopados não contenham nenhuma enzima, os vírions maiores podem possuir uma ou mais enzimas que auxiliam no processo de penetração do vírus na célula hospedeira ou na replicação do ácido nucleico viral.

Assim, para que um vírus se multiplique, ele precisa invadir a célula hospedeira e assumir o comando da sua maquinaria metabólica. Um único vírion pode dar origem, em uma única célula hospedeira, a algumas ou mesmo milhares de partículas virais iguais. Esse processo pode alterar drasticamente a célula hospedeira, podendo causar sua morte. Em algumas infecções virais, a célula sobrevive e continua a produzir vírus indefinidamente.

A multiplicação dos vírus pode ser demonstrada com uma **curva de ciclo único** (Figura 13.10). Os dados podem ser obtidos por infecção de todas as células de uma cultura e posterior teste do meio de cultura e das células quanto à presença de vírions, proteínas e ácidos nucleicos virais.

Multiplicação de bacteriófagos

Embora a maneira pela qual um vírus penetra e é liberado da célula hospedeira possa variar, o mecanismo básico de multiplicação viral é similar para todos os vírus. Os bacteriófagos podem se multiplicar por dois mecanismos alternativos: o ciclo lítico e o ciclo lisogênico. O **ciclo lítico** termina com a lise e a morte da célula hospedeira, enquanto no **ciclo lisogênico** a célula hospedeira permanece viva. Visto que os *bacteriófagos T-pares* (T2, T4 e T6) são os mais estudados, descreveremos sua multiplicação em seu hospedeiro *E. coli*, como um exemplo de ciclo lítico.

Bacteriófagos T-pares: o ciclo lítico

Os vírions dos bacteriófagos T-pares são grandes, complexos e não envelopados, com uma estrutura característica de cabeça e cauda mostrada na Figura 13.5a e na **Figura 13.11**. O tamanho de seu DNA corresponde a apenas cerca de 6% do DNA de uma bactéria *E. coli*, ainda que esse DNA seja suficiente para codificar mais de 100 genes. O ciclo de multiplicação desses vírus, assim como o de todos os outros vírus, ocorre em cinco etapas distintas: adsorção, penetração, biossíntese, maturação e liberação.

Adsorção. ① Após uma colisão ao acaso entre as partículas do fago e as bactérias, a *adsorção*, ou *ancoragem*, ocorre. Durante esse processo, um sítio de adsorção no vírus se liga ao sítio do receptor complementar na parede da célula bacteriana. Essa ligação consiste em uma interação química, na qual se formam ligações fracas entre o sítio de adsorção e o receptor celular. Os bacteriófagos T-pares possuem fibras na extremidade da cauda que servem como sítios de adsorção. Os receptores complementares estão na parede da célula bacteriana.

Penetração. ② Após a adsorção, os bacteriófagos T-pares injetam seu DNA (ácido nucleico) dentro da bactéria. Para isso, a cauda do bacteriófago libera uma enzima, a **lisozima**, que destrói uma porção da parede celular bacteriana. Durante o processo de *penetração*, a bainha da cauda do fago se contrai, e o centro da cauda atravessa a parede da célula bacteriana. Quando o centro alcança a membrana plasmática, o DNA da cabeça do fago penetra na bactéria, passando através do lúmen da cauda e da membrana plasmática. O capsídeo permanece do lado de fora da célula bacteriana. Portanto, a partícula do fago funciona como uma seringa hipodérmica injetando o DNA dentro da célula bacteriana.

Biossíntese. ③ Assim que o DNA do bacteriófago alcança o citoplasma da célula hospedeira, ocorre a biossíntese do ácido nucleico e das proteínas virais. A síntese proteica do hospedeiro é interrompida pela degradação do seu DNA induzida pelo vírus, pela ação de proteínas virais que interferem com a transcrição, ou pela inibição da tradução.

Inicialmente, o fago utiliza várias enzimas e os nucleotídeos da célula hospedeira para sintetizar cópias do seu DNA. Logo a seguir tem início a biossíntese das proteínas virais. Todo o RNA transcrito na célula corresponde a mRNA transcrito a partir do DNA do fago para a síntese de enzimas virais e das proteínas do capsídeo viral. Os ribossomos, as enzimas e os aminoácidos da célula hospedeira são usados na tradução. Durante o ciclo de multiplicação do fago, controles gênicos regulam a transcrição de regiões diferentes do DNA. Por exemplo, mensagens precoces são traduzidas em proteínas virais precoces, que são as enzimas usadas na síntese do DNA do fago. Da mesma forma, mensagens tardias são traduzidas em proteínas tardias, utilizadas na síntese do capsídeo viral.

Por um período de vários minutos após a infecção, fagos completos não são encontrados na célula hospedeira. Somente componentes isolados – DNA e proteína – podem ser detectados. Esse período da multiplicação viral, no qual vírions completos e infectivos ainda não estão formados, é denominado **período de eclipse**.

Maturação. ④ A próxima sequência de eventos consiste na *maturação*. Durante esse processo, vírions completos são formados a partir do DNA e dos capsídeos. Os componentes virais se organizam espontaneamente, formando a partícula viral e eliminando a necessidade de muitos genes não estruturais e de outros produtos gênicos. As cabeças e as caudas dos fagos são montadas separadamente a partir de subunidades de proteínas: a cabeça recebe o DNA viral e se liga à cauda.

Liberação. ⑤ O estágio final da multiplicação viral é a liberação dos vírions da célula hospedeira. O termo **lise** geralmente é utilizado para essa etapa da multiplicação dos fagos T-pares, pois, nesse caso, a membrana citoplasmática é rompida (lise). A lisozima, codificada por um gene viral, é sintetizada dentro da célula. Essa enzima destrói a parede celular bacteriana, liberando os novos bacteriófagos produzidos. Os fagos liberados infectam outras células suscetíveis vizinhas, e o ciclo de multiplicação viral é repetido dentro dessas células.

Bacteriófago lambda (λ): o ciclo lisogênico

Em contraste aos bacteriófagos T-pares, alguns vírus não causam lise e morte celular quando se multiplicam na célula hospedeira. Esses *fagos lisogênicos* (também denominados *fagos temperados*) podem induzir um ciclo lítico, entretanto são capazes de incorporar seu DNA ao DNA da célula hospedeira para iniciar um ciclo lisogênico. Na **lisogenia**, o fago permanece latente (inativo). As células bacterianas hospedeiras são conhecidas como *células lisogênicas*.

Utilizaremos o exemplo do bacteriófago λ (lambda), um fago lisogênico bem estudado, como exemplo de ciclo lisogênico (**Figura 13.12**).

- ① Após a penetração em uma célula de *E. coli*,
- ② o DNA do fago, originalmente linear, forma um círculo.
- ③A Esse círculo pode se multiplicar e ser transcrito,
- ④A levando à produção de novos fagos e à lise celular (ciclo lítico).
- ③B Alternativamente, o círculo pode se recombinar com o DNA bacteriano circular e se tornar parte dele (ciclo lisogênico). O DNA do fago inserido na célula passa a ser chamado de **profago**. A maioria dos genes do profago é reprimida por duas proteínas repressoras codificadas pelo genoma do profago. Esses repressores ligam-se aos operadores e interrompem a transcrição de todos os outros genes do fago. Dessa maneira, os genes do fago que poderiam direcionar a síntese e a liberação de novos vírions são desligados, da mesma forma que são desligados os genes de *E. coli* comandados pelo operon *lac* quando ligado ao repressor *lac* (Figura 8.12, página 224).

Sempre que a maquinaria celular replicar o cromossomo bacteriano,

- ④B o DNA do profago também será replicado. O profago permanece latente na progênie celular.
- ⑤ Entretanto, um evento espontâneo raro ou mesmo a ação da luz UV ou de determinadas substâncias químicas pode levar à excisão do DNA do profago e ao início do ciclo lítico.

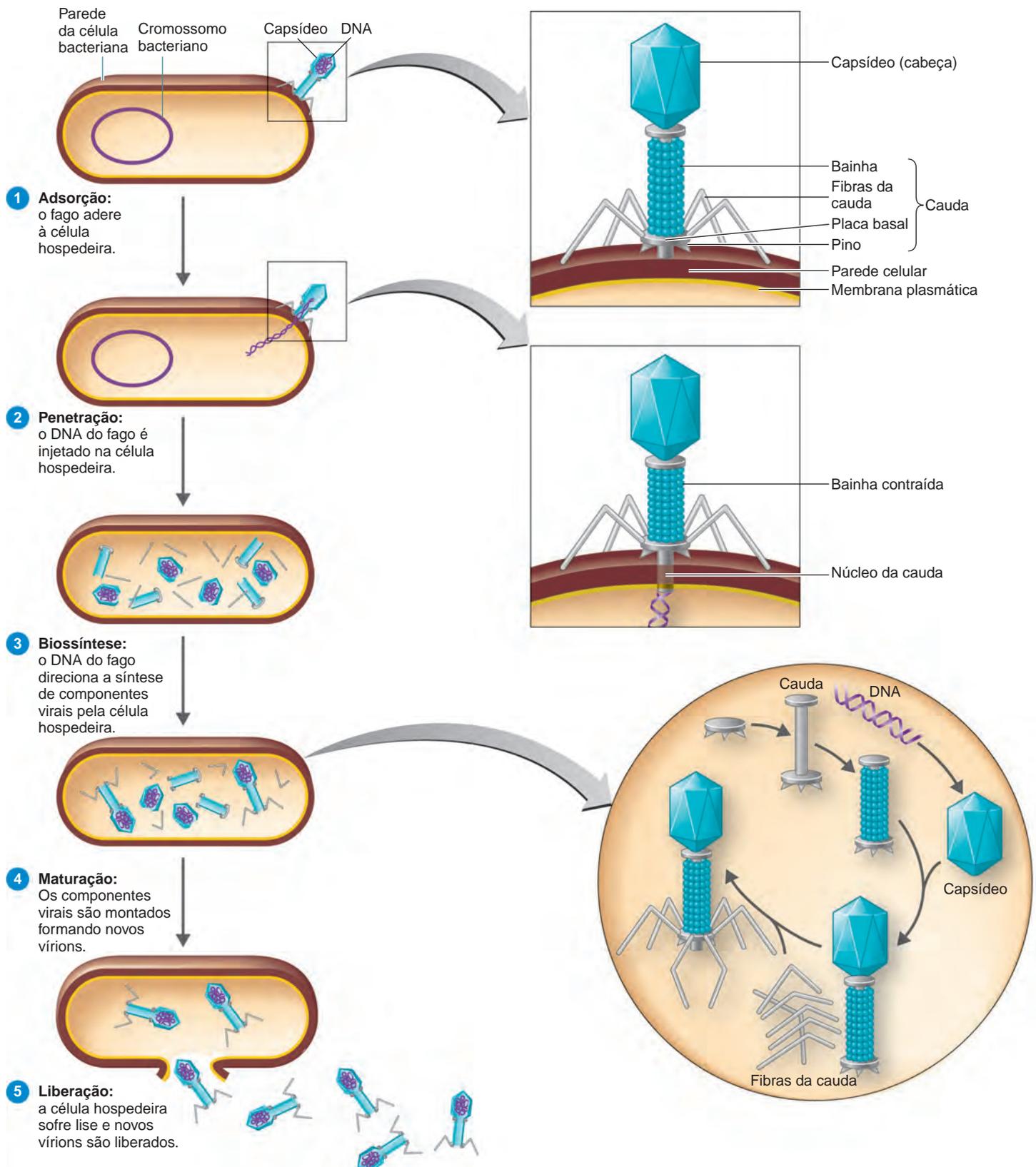


Figura 13.11 O ciclo lítico de um bacteriófago T-par.

P Qual é o resultado de um ciclo lítico?

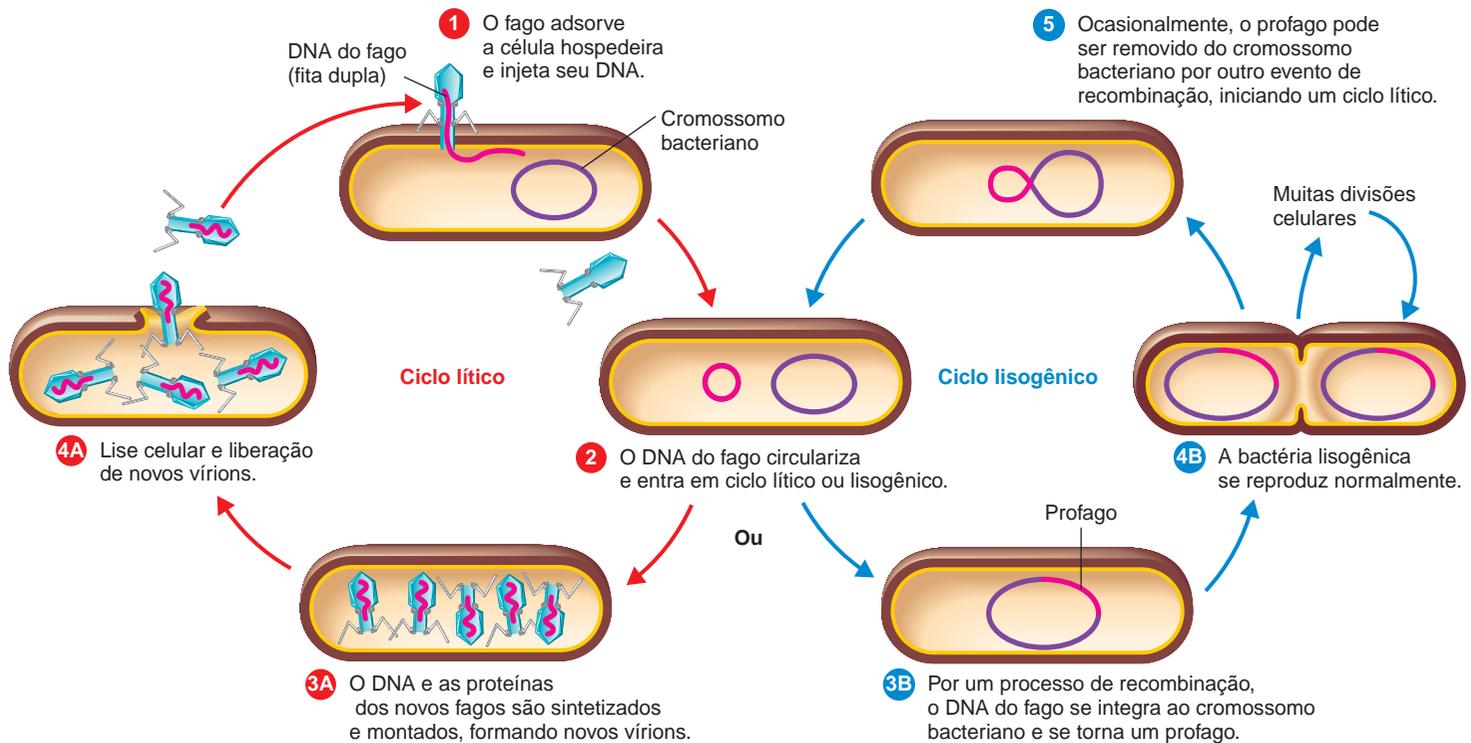


Figura 13.12 O ciclo lisogênico do bacteriófago λ em *E. coli*.

P Quais são as diferenças entre o ciclo lisogênico e o ciclo lítico?

A lisogenia apresenta três consequências importantes. Em primeiro lugar, as células lisogênicas são imunes à reinfecção pelo mesmo fago (entretanto, não são imunes à infecção por outros tipos de fagos). A segunda consequência é que as células hospedeiras podem exibir novas propriedades, o que é conhecido como **conversão**. Por exemplo, a bactéria *Corynebacterium diphtheriae*, que causa a difteria, é um patógeno cujas características promotoras da doença são relacionadas à síntese de uma toxina. Essa bactéria só pode produzir toxina quando possui um fago temperado, pois o gene que codifica para a toxina está no profago. Em um outro exemplo, somente os estreptococos que carregam um fago lisogênico ou temperado são capazes de produzir a toxina relacionada com a síndrome do choque tóxico. A toxina produzida pelo *Clostridium botulinum*, a bactéria que causa o botulismo, é codificada por um gene do profago, assim como a toxina Shiga, que é produzida por cepas patogênicas de *E. coli*.

A terceira consequência da lisogenia é que ela torna possível a **transdução especializada**. No Capítulo 8 foi visto que os genes bacterianos podem ser empacotados em um capsídeo de fago e transferidos para outra bactéria por um processo chamado de transdução generalizada (veja a Figura 8.28, página 239). Qualquer gene bacteriano pode ser transferido por esse processo porque o cromossomo do hospedeiro está fragmentado em pedaços que podem ser empacotados em um capsídeo de fago. Entretanto, na transdução especializada, somente determinados genes bacterianos podem ser transferidos.

A transdução especializada é mediada por um fago lisogênico, que empacota o DNA bacteriano *junto* com seu próprio DNA

no mesmo capsídeo. Quando um profago é excisado do cromossomo bacteriano, genes adjacentes de ambos os lados podem permanecer ligados ao DNA do fago. Na **Figura 13.13**, o bacteriófago λ carrega, de seu hospedeiro galactose-positivo, o gene *gal*, responsável pela fermentação da galactose. O fago transfere esse gene para uma célula galactose-negativa, tornando-a galactose-positiva.

Certos vírus animais podem sofrer processos muito semelhantes à lisogenia. Os vírus animais que permanecem latentes por longos períodos dentro das células, sem se multiplicarem ou sem causarem doenças, podem estar inseridos no cromossomo da célula hospedeira ou permanecer separados, mas estar em um estado reprimido (como alguns fagos lisogênicos). Vírus que causam câncer também podem estar latentes, como será discutido mais adiante neste capítulo.

TESTE SEU CONHECIMENTO

- ✓ Como os bacteriófagos sintetizam nucleotídeos e aminoácidos se não possuem nenhuma enzima metabólica? **13-8**
- ✓ A bactéria *Vibrio cholerae* produz toxina e é capaz de causar a cólera somente quando está lisogênica. O que isso significa? **13-9**

Multiplicação de vírus animais

A multiplicação dos vírus animais segue o padrão básico da multiplicação dos bacteriófagos, mas com várias diferenças, resumidas na **Tabela 13.3**. Os vírus animais diferem dos fagos no seu mecanismo de penetração dentro da célula hospedeira. Além disso, uma

vez dentro da célula, a síntese e a montagem de novos componentes virais são ligeiramente diferentes, em parte devido às diferenças entre as células procarióticas e eucarióticas. Os vírus animais possuem determinados tipos de enzimas que não são encontrados nos fagos. Finalmente, os vírus animais e os fagos diferem quanto aos mecanismos de maturação e liberação e quanto aos efeitos de sua multiplicação na célula hospedeira.

Na discussão que se segue sobre a multiplicação de vírus animais, consideraremos os processos comuns aos vírus de DNA e de RNA. Esses processos são adsorção, penetração, desnudamento e liberação. Examinaremos também as diferenças entre os dois tipos de vírus, com relação aos processos de biossíntese.

Adsorção

Como os bacteriófagos, os vírus animais possuem sítios de adsorção que se ligam a sítios receptores na superfície da célula hospedeira. No entanto, os receptores das células animais são proteínas e glicoproteínas da membrana plasmática. Além disso, os vírus animais não possuem apêndices como as fibras da cauda de alguns bacteriófagos. Nos vírus animais, os sítios de ligação estão distribuídos por toda a superfície da partícula viral. Esses sítios variam de acordo com os diferentes grupos de vírus. Nos adenovírus, que são vírus icosaédricos, são pequenas fibras nos vértices do icosaedro (veja a Figura 13.2b). Na maioria dos vírus envelopados, como o vírus influenza, os sítios de adsorção são espículas localizadas na superfície do envelope (veja a Figura 13.3b). Logo que uma espícula se liga ao receptor da célula hospedeira, sítios receptores adicionais migram em direção ao vírus. A ligação de muitos sítios completa o processo de adsorção.

Os sítios receptores são características genéticas do hospedeiro. Consequentemente, o receptor para um determinado vírus pode variar de pessoa para pessoa. Isso pode explicar as diferenças individuais na suscetibilidade a um vírus em particular. Por exemplo, pessoas que não possuem o receptor celular para o parvovírus B19 (denominado antígeno P) são naturalmente resistentes à infecção e não desenvolvem a quinta doença causada por esse vírus (veja a página 600). O entendimento da natureza do processo de adsorção pode levar ao desenvolvimento de drogas que previnam as infecções virais. Anticorpos monoclonais (discutidos no Capítulo 17) que se ligam aos sítios de adsorção dos vírus ou a receptores celulares poderão, em breve, ser usados no tratamento de algumas infecções virais.

Penetração

Após a adsorção, ocorre a penetração. Nas células eucarióticas, os vírus penetram pelo processo de **pinocitose**, que é um processo celular ativo através do qual nutrientes e outras moléculas entram na célula (Capítulo 4, página 100). A membrana plasmática celular está constantemente sofrendo invaginações para formar vesículas. Essas vesículas contêm elementos originados do exterior da célula e que são levados para o seu interior para serem digeridos. Se um vírus se ligar a uma evaginação da membrana plasmática de uma célula hospedeira em potencial, esta envolverá o vírus, formando uma vesícula (Figura 13.14a).

Os vírus envelopados podem penetrar no interior da célula por um processo alternativo denominado **fusão**, no qual o envelope viral se funde com a membrana plasmática e libera o capsídeo

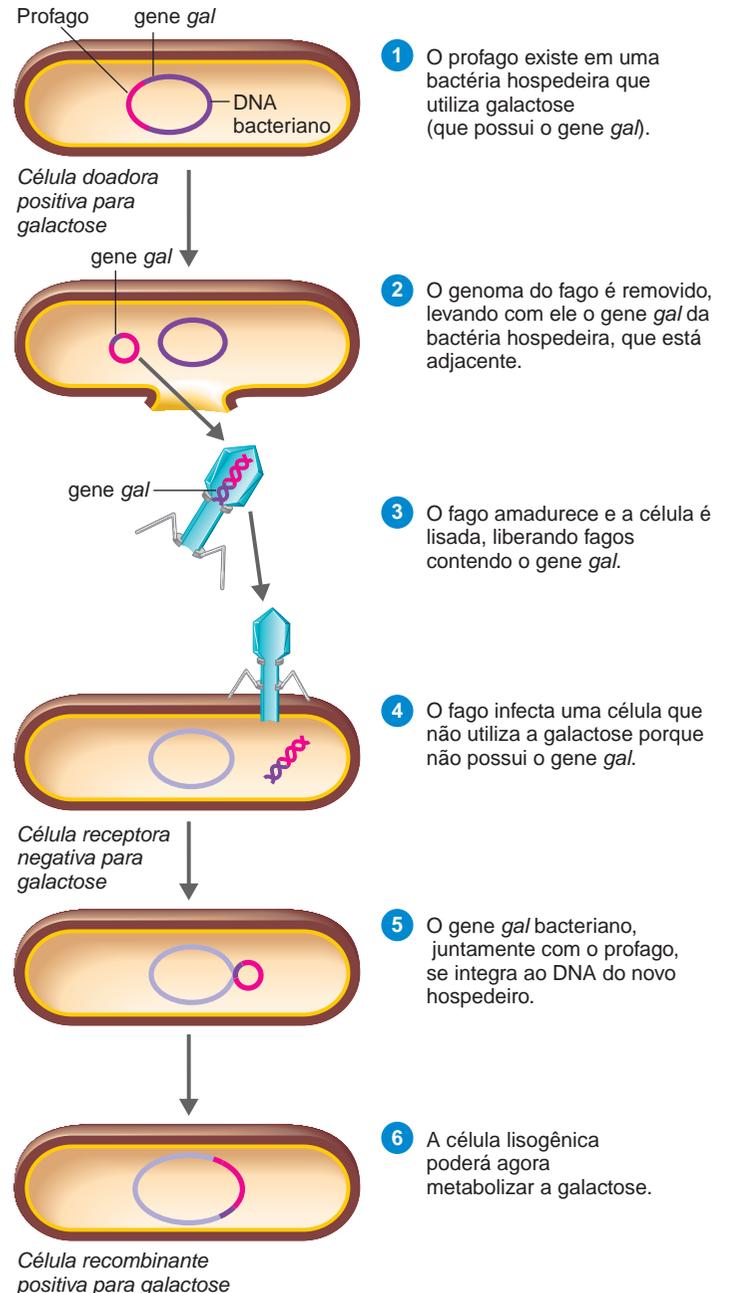


Figura 13.13 Transdução especializada. Quando o profago é excisado do cromossomo bacteriano, pode carregar um pedaço do DNA adjacente a ele no cromossomo bacteriano.

P Quais são as diferenças entre a transdução especializada e o ciclo lítico?

no citoplasma. Esse é o método pelo qual o HIV penetra na célula (Figura 13.14b).

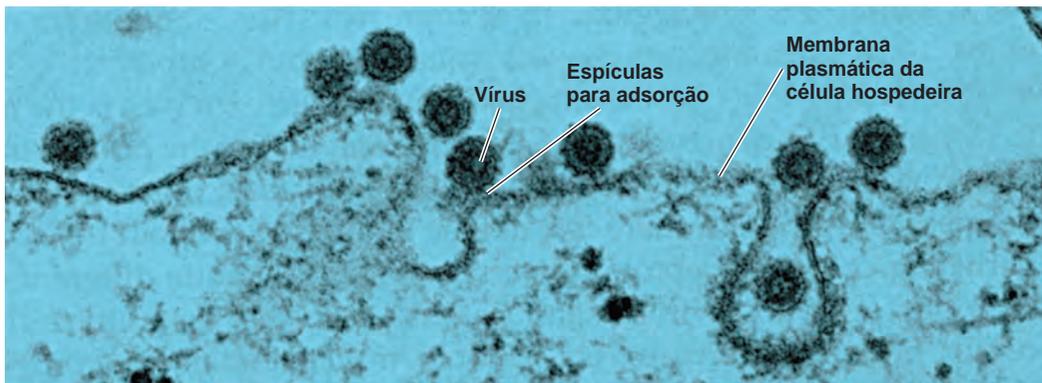
Desnudamento

Durante o período de eclipse da infecção viral, os vírus são desmontados e não são observadas partículas virais dentro da célula. O **desnudamento** consiste na separação do ácido nucleico viral de

Tabela 13.3 Comparação entre a multiplicação dos bacteriófagos e dos vírus animais		
Estágio	Bacteriófagos	Vírus animais
Adsorção	As fibras da cauda ancoram nas proteínas da parede celular	Os sítios de adsorção são proteínas e glicoproteínas da membrana plasmática
Penetração	O DNA viral é injetado dentro da célula	O capsídeo penetra por endocitose ou por fusão
Desnudamento	Desnecessário	Remoção enzimática das proteínas do capsídeo
Biossíntese	No citoplasma	No núcleo (vírus com genoma DNA) ou citoplasma (vírus com genoma RNA)
Infecção crônica	Lisogenia	Latência; infecções virais lentas; câncer
Liberação	Lise da célula hospedeira	Os vírus envelopados brotam; os não envelopados rompem a membrana plasmática

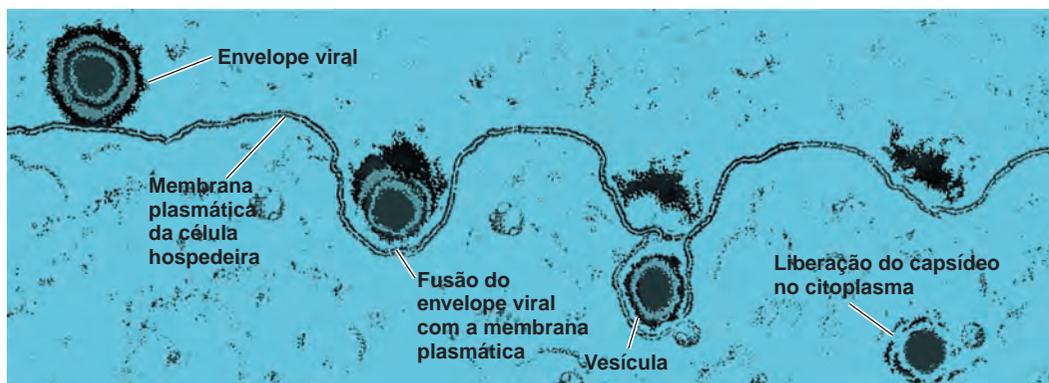
seu envoltório proteico. Uma vez que o vírion está dentro de uma vesícula endocítica, o capsídeo é digerido quando a célula tenta digerir o conteúdo vesicular. Nos vírus não envelopados, o capsídeo pode ser liberado dentro do citoplasma da célula hospedeira. Esse processo varia de acordo com o tipo de vírus. Alguns vírus animais concluem o processo de desnudamento por ação de enzimas lisos-

somais da célula hospedeira. Essas enzimas degradam o capsídeo viral. O desnudamento dos poxvírus é concluído por uma enzima específica codificada pelo genoma viral e sintetizada imediatamente após a infecção. Em outros vírus, o desnudamento parece envolver exclusivamente enzimas do citoplasma da célula hospedeira. Pelo menos para um vírus, o poliovírus, o desnudamento começa



(a) Penetração de togavírus por pinocitose

MET 140 nm



(b) Penetração de herpesvírus por fusão

MET 400 nm

Figura 13.14 A entrada dos vírus nas células hospedeiras. Após a adsorção, os vírus penetram na célula hospedeira por (a) pinocitose ou (b) fusão.

P Em quais processos do ciclo de replicação viral a célula é ativamente controlada pelo vírus?

enquanto o vírus ainda está ancorado à membrana plasmática da célula hospedeira.

A biossíntese dos vírus de DNA

Geralmente, os vírus de DNA replicam seu genoma no núcleo da célula hospedeira usando enzimas virais e sintetizam as proteínas do capsídeo e outras proteínas no citoplasma, usando enzimas do hospedeiro. As proteínas migram, então, para o núcleo e são reunidas com o DNA recém-sintetizado para formar os novos vírions. Os vírions são transportados pelo retículo endoplasmático para a membrana da célula hospedeira e são liberados. Os herpesvírus, os papovavírus, os adenovírus e os hepadnavírus seguem esse padrão de biossíntese (Tabela 13.4). Os poxvírus são uma exceção, pois todos os seus componentes são sintetizados no citoplasma.

A Figura 13.15 mostra a sequência de eventos da multiplicação dos papovavírus, como exemplo de multiplicação de um vírus de DNA.

- 1-2 Após a adsorção, a penetração e o desnudamento, o DNA viral é liberado no núcleo da célula hospedeira.
- 3 A seguir ocorre a transcrição de uma porção do DNA viral que codifica os “genes precoces”, seguida da sua tradução. Os produtos desses genes são enzimas requeridas para a multiplicação do DNA viral. Na maioria dos vírus de DNA, a transcrição precoce é realizada pela transcriptase do hospedeiro (RNA-polimerase); os poxvírus, no entanto, possuem sua própria transcriptase.
- 4 Algum tempo após o início da replicação do DNA, ocorre a transcrição e a tradução dos genes “tardios”. As proteínas tardias incluem as proteínas do capsídeo e outras proteínas estruturais.
- 5 Isso leva à síntese das proteínas do capsídeo, que ocorre no citoplasma da célula hospedeira.
- 6 Após a migração das proteínas do capsídeo para o núcleo celular, ocorre a maturação; o DNA viral e as proteínas do capsídeo se montam para formar os vírus completos.

- 7 Os vírus completos são, então, liberados da célula hospedeira.

Alguns vírus que possuem genoma de DNA são descritos a seguir.

Adenoviridae. Nomeados com referência às adenoides, local de onde foram isolados pela primeira vez, os adenovírus causam doenças respiratórias agudas – o resfriado comum (Figura 13.16a).

Poxviridae. Todas as doenças causadas pelos poxvírus, entre elas a varíola humana e a varíola bovina (*Cowpox*), apresentam lesões cutâneas (veja a Figura 21.10, página 595). A palavra *Pox* se refere a lesões pustulares. A multiplicação viral é iniciada pela transcriptase viral; os componentes virais são sintetizados e montados no citoplasma da célula hospedeira.

Herpesviridae. São conhecidos aproximadamente 100 tipos de herpesvírus (Figura 13.16b). São assim denominados por causa do aspecto disseminado (*herpético*) das úlceras do herpes labial. Entre as espécies dos herpesvírus humanos (HHV, de *human herpesvirus*) estão as que causam o herpes labial (HHV-1 e HHV-2, ambos pertencentes ao gênero *Simplexvirus*); o HHV-3, gênero *Varicellovirus*, que causa a catapora; o HHV-4, ou vírus Epstein-Barr (gênero *Lymphocryptovirus*), que causa a mononucleose infecciosa; o HHV-5 (gênero *Cytomegalovirus*); o HHV-6, gênero *Roseolovirus*, que causa a roséola; o HHV-7, que infecta principalmente crianças, causando um exantema semelhante ao sarampo; e o HHV-8, que é associado ao sarcoma de Kaposi, principalmente em pacientes com Aids.

Papovaviridae. Os papovavírus têm seu nome derivado de *papilomas* ou verrugas, *poliomas* (tumores) e *vacuolização* (vacúolos citoplasmáticos produzidos por alguns desses vírus). As verrugas são causadas por membros do gênero *Papillomavirus*. Algumas espécies do gênero *Papillomavirus* são capazes de transformar células e causar câncer.

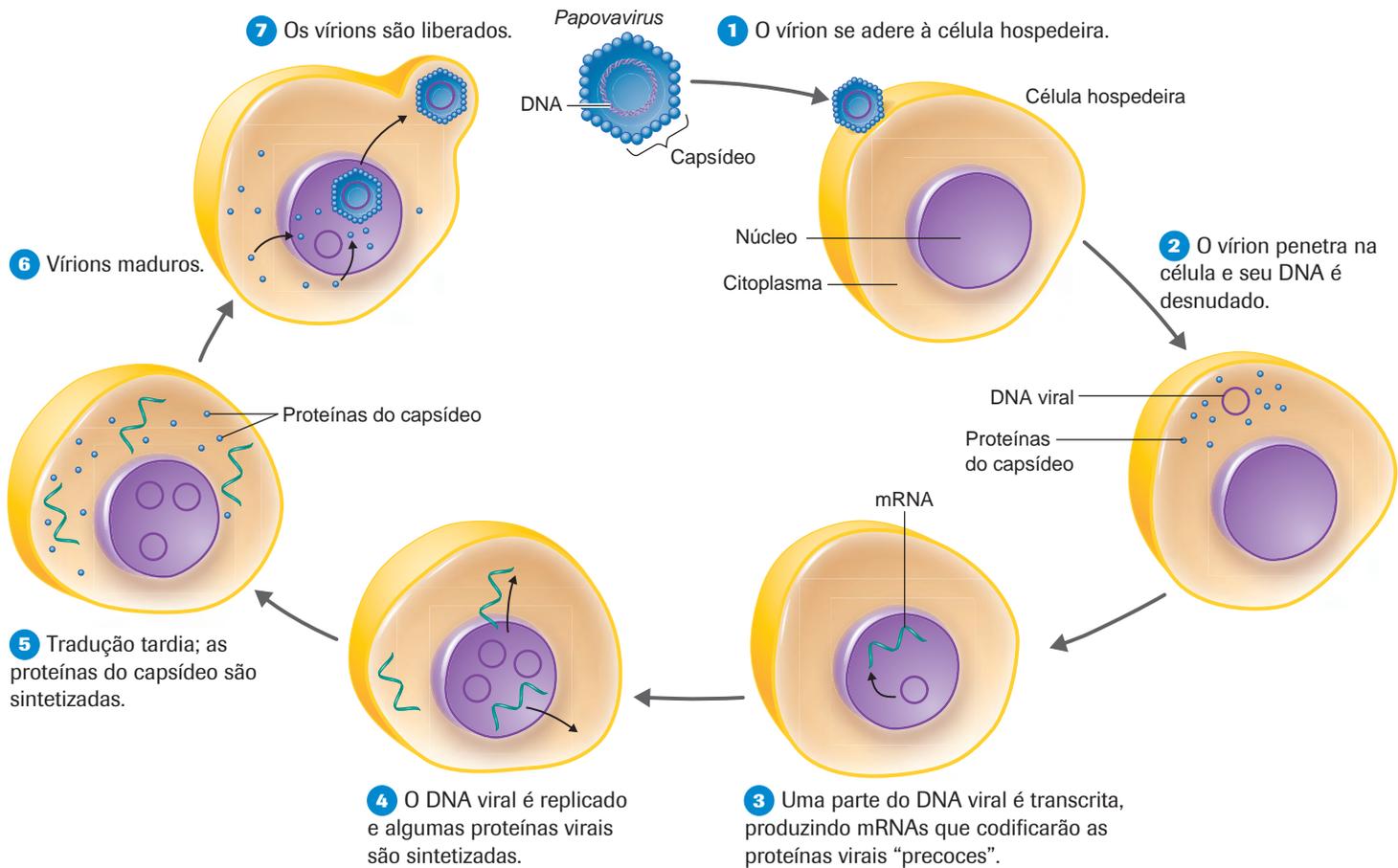
Tabela 13.4 Comparação entre a biossíntese dos vírus DNA e RNA

Ácido nucleico viral	Família viral	Características especiais da biossíntese
DNA, fita simples	<i>Parvoviridae</i>	Enzimas celulares transcrevem o DNA viral no núcleo.
DNA, fita dupla	<i>Herpesviridae</i> <i>Papovaviridae</i> <i>Poxviridae</i>	Enzimas celulares transcrevem o DNA viral no núcleo. Enzimas virais transcrevem o DNA viral no vírion, no citoplasma.
DNA, transcriptase reversa	<i>Hepadnaviridae</i>	Enzimas celulares transcrevem o DNA viral no núcleo; a transcriptase reversa copia o mRNA para sintetizar o DNA viral.
RNA, fita positiva	<i>Picornaviridae</i> <i>Togaviridae</i>	O RNA viral funciona como molde para a síntese da RNA-polimerase viral.
RNA, fita negativa	<i>Rhabdoviridae</i>	Enzimas virais sintetizam mRNA no citoplasma utilizando o RNA viral como molde.
RNA, fita dupla	<i>Reoviridae</i>	Enzimas virais sintetizam mRNA no citoplasma utilizando a fita negativa de RNA como molde.
RNA, transcriptase reversa	<i>Retroviridae</i>	A transcriptase reversa sintetiza DNA no citoplasma utilizando o RNA viral como molde; o RNA se desloca para o núcleo.

Figura 13.15

FIGURA FUNDAMENTAL Replicação de um vírus animal contendo DNA

Esta figura ilustra o ciclo de replicação dos vírus que contêm DNA, usando como exemplo um *papovavírus*. O conhecimento das fases da replicação viral é importante nas estratégias de desenvolvimento de drogas e na patologia da doença, discutidos em capítulos posteriores. O DNA viral é replicado no núcleo celular juntamente com os cromossomos da célula hospedeira. As células hospedeiras podem proliferar, resultando em um tumor.



Conceito-chave

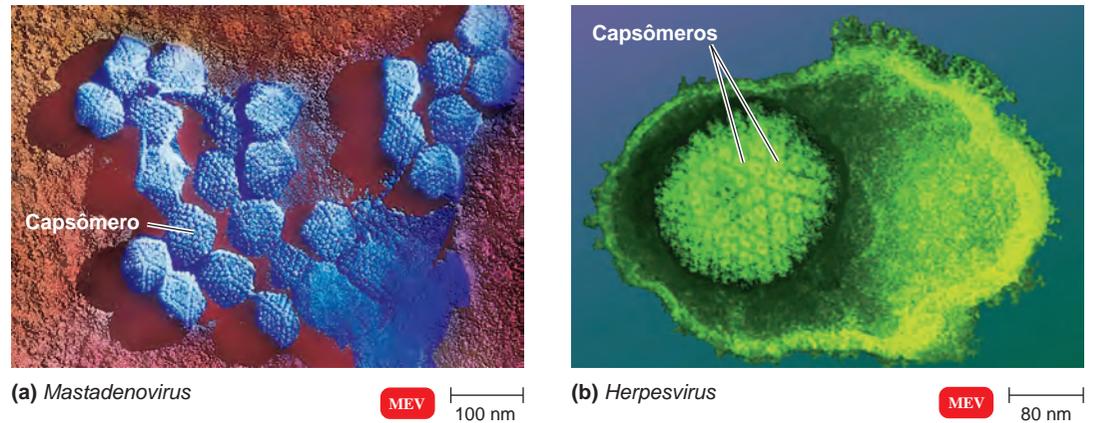
A replicação de todos os vírus animais compreende a seguinte sequência de eventos: adsorção, penetração, desnudamento, biossíntese de ácido nucleico e proteínas, maturação e liberação.

Hepadnaviridae. Os hepadnavírus são assim designados por serem capazes de causar *hepatite* e por conterem *DNA* (Figura 25.15, página 725). O único gênero dessa família causa a hepatite B. (Os vírus que causam as hepatites A, C, D, E, F e G, embora não sejam relacionados entre si, são vírus de RNA. A hepatite é

discutida no Capítulo 25.) Os hepadnavírus diferem de outros vírus de DNA pelo fato de sintetizarem o seu DNA a partir de RNA, usando a transcriptase reversa viral. Essa enzima é discutida mais adiante, juntamente com os retrovírus, outra família que possui a transcriptase reversa.

Figura 13.16 Vírus animais contendo DNA. (a) Coloração negativa de adenovírus concentrados por centrifugação em gradiente. Os capsômeros individuais são claramente visíveis. (b) O envelope circundando o capsídeo de um vírus herpes simples se rompeu, dando a aparência típica de “ovo frito”.

P Qual a morfologia desses vírus?



A biossíntese dos vírus de RNA

Os vírus de RNA multiplicam-se, essencialmente, da mesma forma que os vírus de DNA, exceto que os vários grupos de vírus de RNA utilizam diferentes mecanismos de síntese de mRNA (veja a Tabela 13.4). Embora os detalhes desses mecanismos estejam fora do objetivo deste texto, os ciclos de multiplicação de quatro tipos de vírus de RNA serão descritos com um propósito comparativo (três dos quais são apresentados na Figura 13.17). Os vírus de RNA se multiplicam no citoplasma da célula hospedeira. As principais diferenças entre os processos de multiplicação desses vírus residem na forma como o mRNA e o RNA viral são produzidos. Após a síntese do RNA e das proteínas virais, o processo de maturação ocorre de maneira similar a todos os outros vírus animais, como será discutido resumidamente.

Picornaviridae. Os picornavírus, como os poliovírus (veja o Capítulo 22, página 620), são vírus de RNA de fita simples. São os menores vírus conhecidos; o prefixo *pico-* (pequeno) mais RNA dá o nome a esses vírus. O RNA do vírion é identificado como **fita senso** (ou **fita positiva**), porque pode funcionar como mRNA. Após a adsorção, a penetração e o desnudamento, a fita simples do RNA viral (Figura 13.17a) é traduzida em duas proteínas principais, que inibem a síntese de RNA e das proteínas da célula hospedeira e sintetizam uma enzima chamada de *RNA-polimerase dependente de RNA*. Essa enzima catalisa a síntese de outra fita de RNA, que é complementar à sequência de bases da fita infectiva original. Essa nova fita, denominada **fita antis-senso** (ou **fita negativa**), serve como molde para a produção de fitas positivas adicionais. As fitas positivas podem servir como mRNA para a tradução das proteínas do capsídeo, podem se incorporar a elas para formar novos vírus, ou podem servir como molde para a continuação da multiplicação do RNA viral. O processo de maturação ocorre após a síntese do RNA viral e das proteínas virais.

Togaviridae. Os togavírus, entre os quais se incluem os alfavírus e os arbovírus, que são vírus transmitidos por artrópodes (veja o Capítulo 22, página 624), também contêm RNA de fita simples positiva. Os togavírus são vírus envelopados, e seu nome deriva da

palavra latina *toga*, que significa cobertura. Lembre-se de que esses não são os únicos vírus envelopados. Após a síntese de uma fita de RNA negativa a partir de uma fita de RNA positiva, dois tipos de mRNA são sintetizados a partir da fita negativa. Um tipo de mRNA consiste de uma fita curta que codifica as proteínas do envelope; o outro tipo é uma fita mais longa que serve como mRNA para a tradução das proteínas do capsídeo e é incorporada ao capsídeo.

Rhabdoviridae. Os rhabdovírus, como o vírus da raiva (gênero *Lyssavirus*; veja o Capítulo 22, página 622), geralmente possuem a forma de um projétil (Figura 13.18a). *Rabdo* deriva do grego e significa bastão, o que, na verdade, não corresponde a uma descrição precisa da sua morfologia. Eles contêm uma fita simples negativa de RNA (Figura 13.17b). Eles também contêm uma RNA-polimerase dependente de RNA que usa a fita negativa como molde para a síntese de fitas positivas. As fitas positivas servirão como mRNA e como molde para a síntese de novas moléculas de RNA viral.

Reoviridae. Os reovírus foram assim denominados de acordo com os ambientes em que foram encontrados: os sistemas respiratório e entérico (digestório) dos seres humanos. Quando foram descobertos, não foram associados a nenhuma doença, sendo considerados vírus órfãos. Atualmente são conhecidos três sorotipos capazes de causar infecções nos tratos respiratório e intestinal.

O capsídeo contendo o RNA de fita dupla é digerido após a penetração na célula hospedeira. O mRNA viral é produzido no citoplasma, onde é utilizado para sintetizar novas proteínas virais (Figura 13.17c). Uma das proteínas virais recém-sintetizada atua como uma RNA-polimerase dependente de RNA para a produção de novas fitas negativas de RNA. As fitas positivas e negativas de mRNA formam uma fita dupla, que será então envolta pelo capsídeo.

Retroviridae. Muitos retrovírus infectam vertebrados (Figura 13.18b). Um gênero dos retrovírus, os *Lentivirus*, inclui as subespécies HIV-1 e HIV-2, que causam a Aids (veja o Capítulo 19, páginas 539 a 548). Os retrovírus que causam câncer serão discutidos mais adiante neste capítulo.

A formação do mRNA e do RNA de novos vírions é mostrada na Figura 13.19, página 390. Esses vírus contêm uma enzima, a

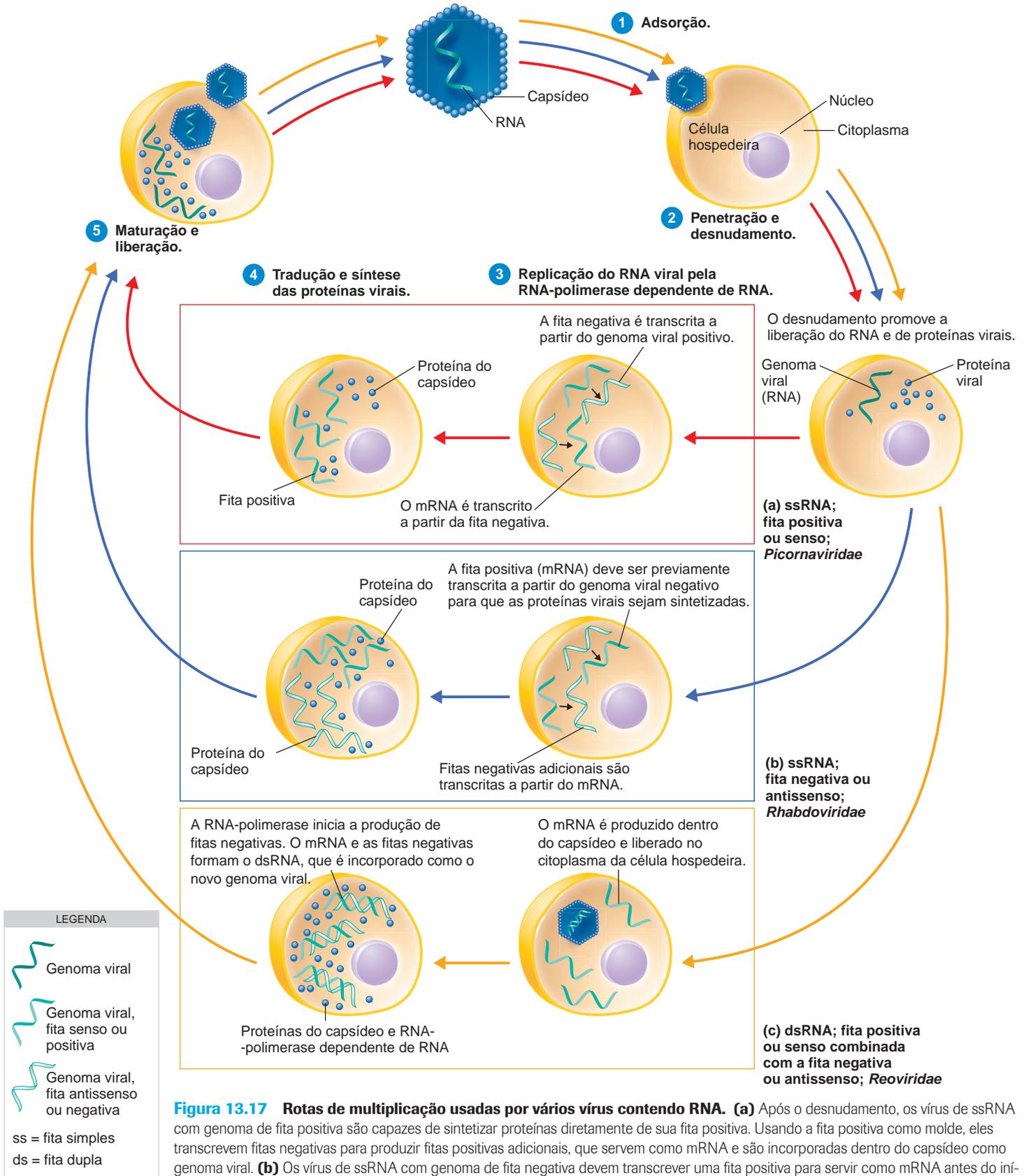


Figura 13.17 Rotas de multiplicação usadas por vários vírus contendo RNA. (a) Após o desnudamento, os vírus de ssRNA com genoma de fita positiva são capazes de sintetizar proteínas diretamente de sua fita positiva. Usando a fita positiva como molde, eles transcrevem fitas negativas para produzir fitas positivas adicionais, que servem como mRNA e são incorporadas dentro do capsídeo como genoma viral. (b) Os vírus de ssRNA com genoma de fita negativa devem transcrever uma fita positiva para servir como mRNA antes do início da síntese das proteínas virais. O mRNA transcreve fitas negativas adicionais para serem incorporadas ao capsídeo viral. Os vírus ssRNA, assim como (c) os vírus dsRNA, devem usar o mRNA (fita positiva) para codificar suas proteínas, inclusive as proteínas do capsídeo.

P Por que a fita negativa de RNA é sintetizada pelos picornavírus e pelos reovírus? E pelos rhabdovírus?

transcriptase reversa, que utiliza o RNA viral como molde para a síntese de um DNA de fita dupla complementar. Essa enzima também degrada o RNA viral original. O nome *retrovírus* deriva das letras iniciais de transcriptase reversa (*reverse transcriptase*). O DNA viral é então integrado ao cromossomo da célula hospedeira como um **provírus**. Diferente do profago, o provírus nunca é removido do cromossomo. Na forma de provírus, o HIV é protegido do sistema imune do hospedeiro e de drogas antivirais.

Algumas vezes o provírus simplesmente permanece em estado latente e se replica somente quando o DNA da célula hospedeira é replicado. Em outros casos, o provírus é expresso e produz novos vírus, que podem infectar células adjacentes. Agentes mutagênicos como a radiação gama podem induzir a expressão de um provírus. O provírus também pode, no caso dos retrovírus oncogênicos, converter a célula hospedeira em uma célula tumoral. Os possíveis mecanismos para esse fenômeno serão discutidos mais adiante.

Maturação e liberação

A montagem do capsídeo proteico constitui o primeiro passo no processo de maturação viral. Essa montagem em geral é um processo espontâneo. Os capsídeos de muitos vírus animais são envolvidos por um envelope formado de proteínas, lipídeos e carboidratos, conforme mencionado anteriormente. Exemplos incluem os ortomixovírus e os paramixovírus. As proteínas do envelope são codificadas por genes virais e são incorporadas à membrana plasmática da célula hospedeira. Os lipídeos e os carboidratos são sintetizados pelas células e estão presentes na membrana plasmática. Quando o vírus deixa a célula por um processo denominado **brotamento**, o capsídeo viral adquire o envelope (**Figura 13.20**).

Após a sequência de adsorção, penetração, desnudamento e biossíntese do ácido nucleico e das proteínas virais, o capsídeo montado brota, empurrando a membrana plasmática. Como resultado, uma parte da membrana, que agora é o envelope, se adere ao vírus. Essa extrusão do vírus de uma célula hospedeira é um dos métodos de liberação. O brotamento não mata a célula hospedeira imediatamente e, em alguns casos, a célula sobrevive.

Os vírus não envelopados são liberados por meio de rupturas na membrana plasmática. Ao contrário do brotamento, esse tipo de liberação geralmente resulta na morte da célula hospedeira.

TESTE SEU CONHECIMENTO

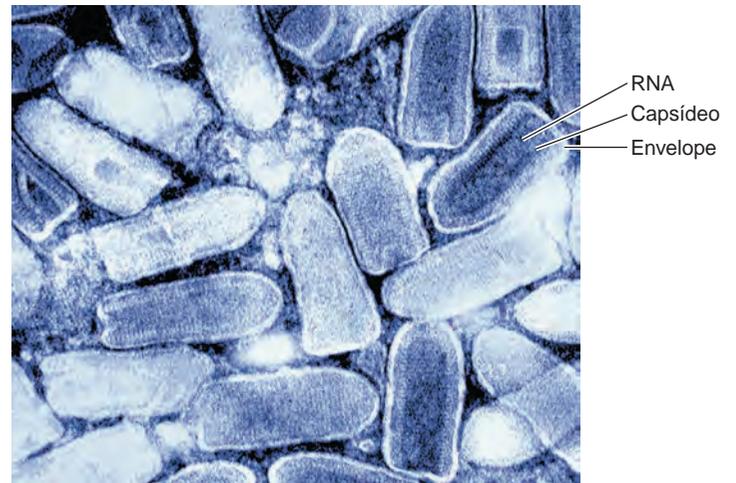
- ✓ Descreva os principais eventos dos processos de adsorção, penetração, desnudamento, biossíntese, maturação e liberação de um vírus de DNA envelopado. **13-10**

Vírus e câncer

OBJETIVOS DO APRENDIZADO

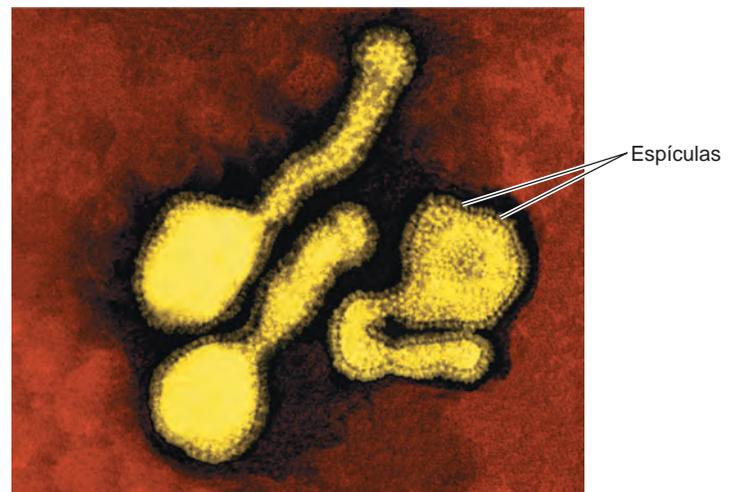
- 13-11** Definir oncogene e célula transformada.
- 13-12** Discutir a relação entre os vírus contendo DNA e RNA e câncer.

Sabe-se hoje que muitos tipos de câncer são causados por vírus. As pesquisas em Biologia Molecular mostram que os mecanismos da doença são semelhantes, mesmo quando um vírus não causa o câncer.



(a) Um rabdovírus

MET 75 nm



(b) Um retrovírus

MET 25 nm

Figura 13.18 Vírus animais contendo RNA. (a) Partículas do vírus da estomatite vesicular, um membro da família *Rhabdoviridae*. (b) Vírus do tumor de mama de camundongos, um membro da família *Retroviridae* que causa tumor em camundongos.

P Por que os vírus com RNA de fita positiva sintetizam um RNA de fita negativa?

A relação entre câncer e vírus foi inicialmente demonstrada em 1908, quando os virologistas Wilhelm Ellerman e Olaf Bang, trabalhando na Dinamarca, tentaram isolar o vírus causador da leucemia aviária. Eles descobriram que a leucemia podia ser transmitida para aves saudáveis por meio de filtrados livres de células que continham vírus. Três anos depois, F. Peyton Rous, trabalhando no Instituto Rockefeller em Nova York, descobriu que um **sarcoma** de galinhas (câncer do tecido conjuntivo) podia ser transmitido de maneira similar. Os **adenocarcinomas** induzidos por vírus (câncer do tecido epitelial glandular) foram descobertos em 1936, em camundongos. Nessa época, foi claramente demonstrado que tumores de glândula mamária de camundongos eram transmitidos das mães para as

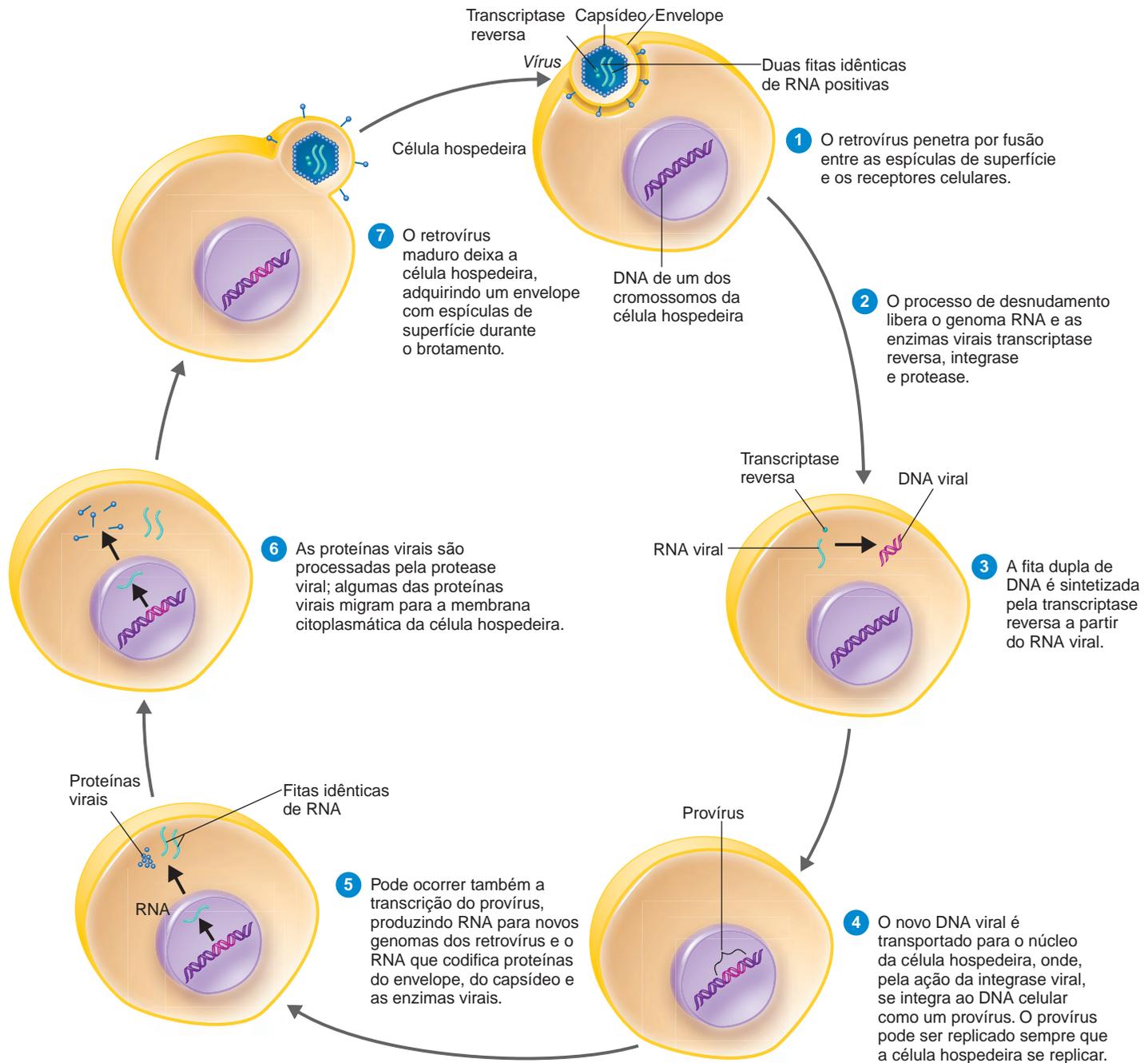


Figura 13.19 Processos de multiplicação e manutenção dos retrovírus. Um retrovírus pode se tornar um provírus que replica em estado latente, podendo também produzir novos retrovírus.

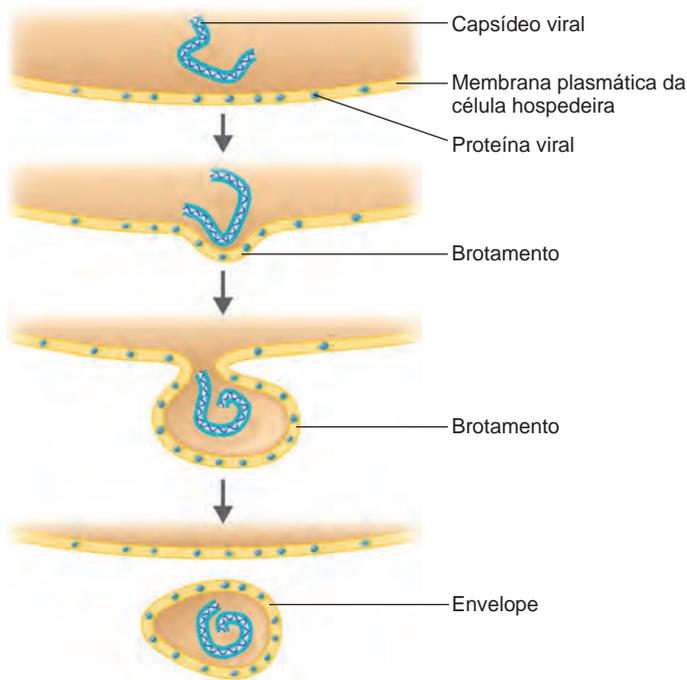
P Quais as diferenças entre a biossíntese de um retrovírus e a de outros vírus de RNA?

crias, através do leite materno. Um vírus capaz de causar câncer em seres humanos foi descoberto e isolado em 1972 pela bacteriologista norte-americana Sarah Stewart.

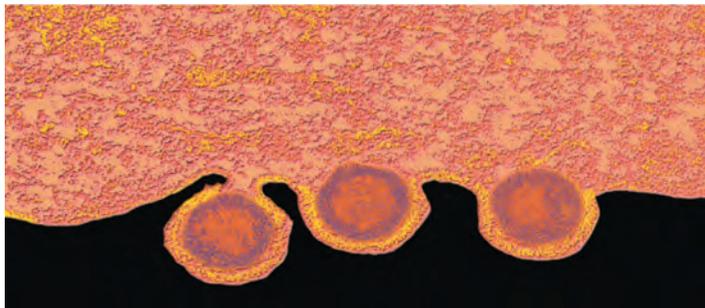
A origem viral do câncer pode muitas vezes não ser reconhecida por várias razões. Primeiro, a maioria das partículas de alguns vírus é infectiva, mas não causa câncer. Segundo, o câncer pode se desenvolver somente muito tempo após a infecção viral. Terceiro, o câncer não parece ser contagioso, como ocorre em muitas doenças virais.

Transformação de células normais em células tumorais

Quase tudo o que pode alterar o material genético de uma célula eucariótica tem o potencial de transformar uma célula normal em uma célula cancerosa. Essas alterações que causam câncer afetam partes do genoma chamadas de **oncogenes**. Os oncogenes foram identificados pela primeira vez em vírus causadores de câncer e



(a) Liberação por brotamento

(b) *Alphavirus*

MEV 100 nm

Figura 13.20 Brotamento de um vírus envelopado. (a) Ilustração esquemática do processo de brotamento. (b) Um vírus de anfíbios brotando das células hospedeiras. O CDC relatou que esse vírus tem sido responsável pela mortalidade mundial em massa de anfíbios.

P Qual a composição de um envelope viral?

foram considerados parte do genoma viral normal. No entanto, os microbiologistas norte-americanos J. Michael Bishop e Harold E. Varmus receberam o Prêmio Nobel de Medicina, em 1989, por terem provado que os genes indutores de câncer transmitidos pelos vírus são, na verdade, derivados de células animais. Bishop e Varmus mostraram que o gene *src* causador de câncer, encontrado no vírus do sarcoma aviário, é derivado de uma parte normal do genoma das galinhas.

Os oncogenes podem ser ativados para um funcionamento anormal por uma variedade de agentes, incluindo químicos mutagênicos, radiação de alta energia e vírus. Os vírus capazes de induzir tumores em animais são chamados de **vírus oncogênicos**, ou

oncovírus. Sabe-se que aproximadamente 10% dos casos de câncer são causados por vírus. Uma característica marcante de todos os vírus oncogênicos é que seu material genético se integra ao DNA da célula hospedeira, replicando juntamente com os cromossomos celulares. Esse mecanismo é semelhante ao fenômeno da lisogenia nas bactérias, podendo alterar da mesma maneira as características da célula hospedeira.

As células tumorais sofrem **transformação**, isto é, adquirem propriedades que são distintas daquelas das células não infectadas ou daquelas infectadas, mas que não formam tumores. Após serem transformadas pelos vírus, algumas células tumorais passam a expressar um antígeno vírus-específico chamado de **antígeno de transplante tumor-específico (TSTA, de tumor-specific transplantation antigen)** em sua superfície e também no núcleo, chamado de **antígeno T**. As células transformadas tendem a ser menos arredondadas do que as células normais e tendem a exibir determinadas anormalidades cromossômicas, como um número anormal de cromossomos e cromossomos fragmentados.

Vírus de DNA oncogênicos

Os vírus oncogênicos fazem parte de inúmeras famílias de vírus com genoma DNA. Essas famílias incluem *Adenoviridae*, *Herpesviridae*, *Poxviridae*, *Papovaviridae* e *Hepadnaviridae*. Entre os papovavírus, o papilomavírus causa câncer uterino (cervical).

Quase todos os casos de câncer cervical são causados pelo papilomavírus humano (HPV, de *human papillomavirus*); o HPV16 é responsável por cerca de metade de todos os casos de câncer cervical. Uma vacina contra quatro HPVs, incluindo o HPV16, é recomendada para crianças de 11 e 12 anos de idade.

O vírus Epstein-Barr (EB) foi isolado, em 1964, por Michael Epstein e Yvonne Barr a partir de células de linfoma de Burkitt. O potencial cancerígeno desse vírus foi observado acidentalmente em 1985, quando um garoto chamado David recebeu um transplante de medula óssea. Alguns meses depois do transplante, David morreu de câncer. Uma autópsia revelou que o vírus havia sido inadvertidamente introduzido no garoto junto com o material do transplante da medula.

Um outro vírus de genoma DNA que causa câncer é o vírus da hepatite B (HBV, de *Hepatitis B virus*). Muitos estudos realizados em animais claramente indicam a participação desse vírus no câncer de fígado. Um estudo com seres humanos demonstrou que quase todas as pessoas que desenvolveram câncer de fígado tiveram infecções prévias por HBV.

Vírus de RNA oncogênicos

Entre os vírus de RNA, somente os oncovírus da família *Retroviridae* causam câncer. Os vírus da leucemia de células T humanas (HTLV-1 e HTLV-2, de *human T-cell leukemia*) são retrovírus que causam linfoma e leucemia de células T em seres humanos adultos. (As células T são um tipo de células brancas do sangue envolvidas na resposta imunológica.)

Os vírus do sarcoma felino, aviário e murino, bem como os vírus de tumor de mama em camundongos, também são retrovírus. Um outro retrovírus, o vírus da leucemia felina (FeLV, de *feline leukemia virus*), causa leucemia em gatos e é transmissível entre eles. Não existe nenhum teste para a detecção do vírus no soro dos gatos.

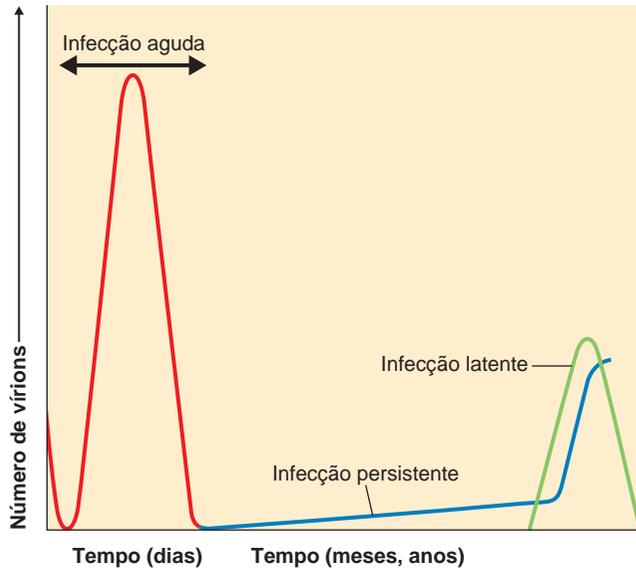


Figura 13.21 Infecções virais latentes e persistentes.

P Como as infecções latentes e persistentes se diferem?

P&R A capacidade dos retrovírus em induzir tumores está relacionada com a produção da transcriptase reversa pelo mecanismo descrito anteriormente (veja a Figura 13.19). O provírus, que é uma molécula de DNA de fita dupla sintetizada a partir do RNA viral, se torna integrado ao DNA da célula hospedeira. Com isso, o novo material genético é introduzido no genoma do hospedeiro, e esta é a razão principal pela qual os retrovírus contribuem para o câncer. Alguns retrovírus possuem oncogenes; outros possuem promotores que ativam os oncogenes ou outros fatores causadores do câncer.

TESTE SEU CONHECIMENTO

- ✓ O que é um provírus? **13-11**
- ✓ Como um vírus de RNA pode causar câncer se não possui um DNA para ser inserido no genoma da célula hospedeira? **13-12**

Infecções virais latentes

OBJETIVO DO APRENDIZADO

13-13 Apresentar um exemplo de uma infecção viral latente.

Um vírus pode permanecer em equilíbrio com o hospedeiro por um longo período, geralmente anos, sem causar doença. Os vírus oncogênicos são exemplos de tais infecções latentes. Todos os herpesvírus humanos podem permanecer nas células hospedeiras por toda a vida do indivíduo. Quando os herpesvírus são reativados por imunossupressão (p. ex., a Aids), a infecção resultante pode ser fatal. Um exemplo clássico de **infecção latente** é a infecção de pele causada pelo herpes labial. Esse vírus habita as células nervosas do hospedeiro, mas só causa danos quando for ativado por um estímulo

como febre ou queimaduras de sol – daí o termo em inglês *fever blister* (úlceras febris).

Em alguns indivíduos, os vírus são produzidos, mas os sintomas nunca aparecem. Embora uma grande proporção da população humana possua o vírus que causa o herpes labial, somente 10 a 15% dessa população apresentam a doença. Os vírus causadores de algumas infecções latentes existem em estado lisogênico dentro das células hospedeiras.

O vírus da catapora (do gênero *Varicellovirus*) também pode existir em estado latente. A catapora (varicela) é uma doença de pele, geralmente contraída na infância. Os vírus chegam à pele através do sangue. A partir do sangue, podem atingir os nervos onde permanecem latentes. Mudanças na resposta imune (células T) podem, mais tarde, ativar os vírus latentes, levando ao desenvolvimento do herpes zoster. Os exantemas causados pelo herpes zoster aparecem na pele ao longo do nervo em que o vírus estava latente. O herpes zoster ocorre em 10 a 20% das pessoas que tiveram varicela.

Infecções virais persistentes

OBJETIVO DO APRENDIZADO

13-14 Diferenciar infecção viral persistente de infecção viral latente.

Uma **infecção viral persistente** ou **crônica** ocorre gradualmente em um longo período. Tipicamente, as infecções virais persistentes são fatais. Demonstrou-se, na verdade, que algumas infecções virais persistentes são causadas por vírus convencionais. Por exemplo, o vírus do sarampo é responsável por uma forma rara de panencefalite subaguda esclerosante (SSPE, de *subacute sclerosing panencephalitis*), vários anos após causar o sarampo. Uma infecção viral persistente é aparentemente distinta de uma infecção viral latente, porque, na maior parte dos casos, os vírus infecciosos são detectados gradualmente por um longo período, em vez de aparecerem repentinamente (Figura 13.21).

Vários exemplos de infecções virais persistentes e latentes são listados na Tabela 13.5.

TESTE SEU CONHECIMENTO

- ✓ O herpes zoster é uma infecção latente ou persistente? **13-13, 13-14**

Prions

OBJETIVO DO APRENDIZADO

13-15 Discutir como uma proteína pode ser infecciosa.

Um número pequeno de doenças infecciosas é causado por prions. Em 1982, o neurobiologista norte-americano Stanley Prusiner sugeriu que proteínas infecciosas teriam sido a causa de uma doença neurológica em ovelhas, denominada *scrapie*. A infectividade do tecido cerebral contaminado por *scrapie* é reduzida após o tratamento com proteases, mas não por tratamento com radiação, sugerindo que o agente infeccioso seja puramente uma proteína. Pru-

siner cunhou o nome **prion** da expressão *proteinaceous infectious particle* (proteína proteica infecciosa).

Atualmente existem nove doenças animais incluídas nessa categoria, entre elas a doença da “vaca louca”, que surgiu nos rebanhos da Grã-Bretanha em 1987. Todas são doenças neurológicas denominadas encefalopatias espongiformes devido ao desenvolvimento de grandes vacúolos no cérebro (Figura 22.18a, página 630). As doenças humanas são kuru, doença de Creutzfeldt-Jakob (CJD), síndrome de Gerstmann-Sträussler-Scheinker e insônia familiar fatal. (As doenças neurológicas são discutidas no Capítulo 22.) Essas doenças se manifestam em membros da mesma família, o que indica uma possível causa genética. Entretanto, não podem ser puramente herdadas, já que a doença da vaca louca surgiu em gado alimentado com ração feita com carne de ovelhas contaminadas com *scrapie*, e a nova variante (bovina) foi transmitida aos seres humanos pela ingestão de carne bovina mal cozida (veja o Capítulo 1, página 20). Além disso, a CJD foi transmitida por tecido nervoso transplantado e por instrumentos cirúrgicos contaminados.

Essas doenças são causadas por uma glicoproteína normal do hospedeiro denominada PrP^c, de proteína prion celular, que é convertida em uma forma infecciosa denominada PrP^{Sc}, de proteína *scrapie*. O gene que codifica para a proteína PrP^c se localiza no cromossomo 20 em seres humanos. Evidências recentes sugerem que a proteína PrP^c esteja envolvida na regulação da morte celular. (Veja a discussão sobre apoptose na página 489.) Uma hipótese para explicar como um agente infeccioso que não possui ácido nucleico pode se replicar é apresentada na **Figura 13.22**.

A causa real do dano celular não é conhecida. Os fragmentos das moléculas de PrP^{Sc} se acumulam no cérebro, formando placas; essas placas são usadas para diagnóstico *postmortem*, mas não parecem ser a causa do dano celular.

Vírus de plantas e viroides

OBJETIVOS DO APRENDIZADO

13-16 Diferenciar vírus, viroide, prion.

13-17 Descrever o ciclo lítico de um vírus de planta.

Os vírus de plantas se parecem, em muitos aspectos, com os vírus animais: os vírus de plantas são morfologicamente similares aos vírus animais e possuem ácidos nucleicos semelhantes (**Tabela 13.6**). De fato, alguns vírus de plantas podem se multiplicar dentro de células de insetos. Esses vírus causam muitas doenças em culturas de grãos economicamente importantes como feijão (vírus do mosaico do feijão), milho e cana-de-açúcar (*Wound tumor virus*) e na batata (vírus do nanismo amarelo da batata). Os vírus podem causar mudança de coloração, crescimento deformado, definhamento e interrupção do crescimento das plantas hospedeiras. Alguns hospedeiros, no entanto, permanecem sem sintomas e atuam somente como reservatórios da infecção.

As células vegetais normalmente são protegidas das doenças pela parede celular impermeável. Os vírus devem entrar através de abrasões ou ser introduzidos juntamente com parasitas de

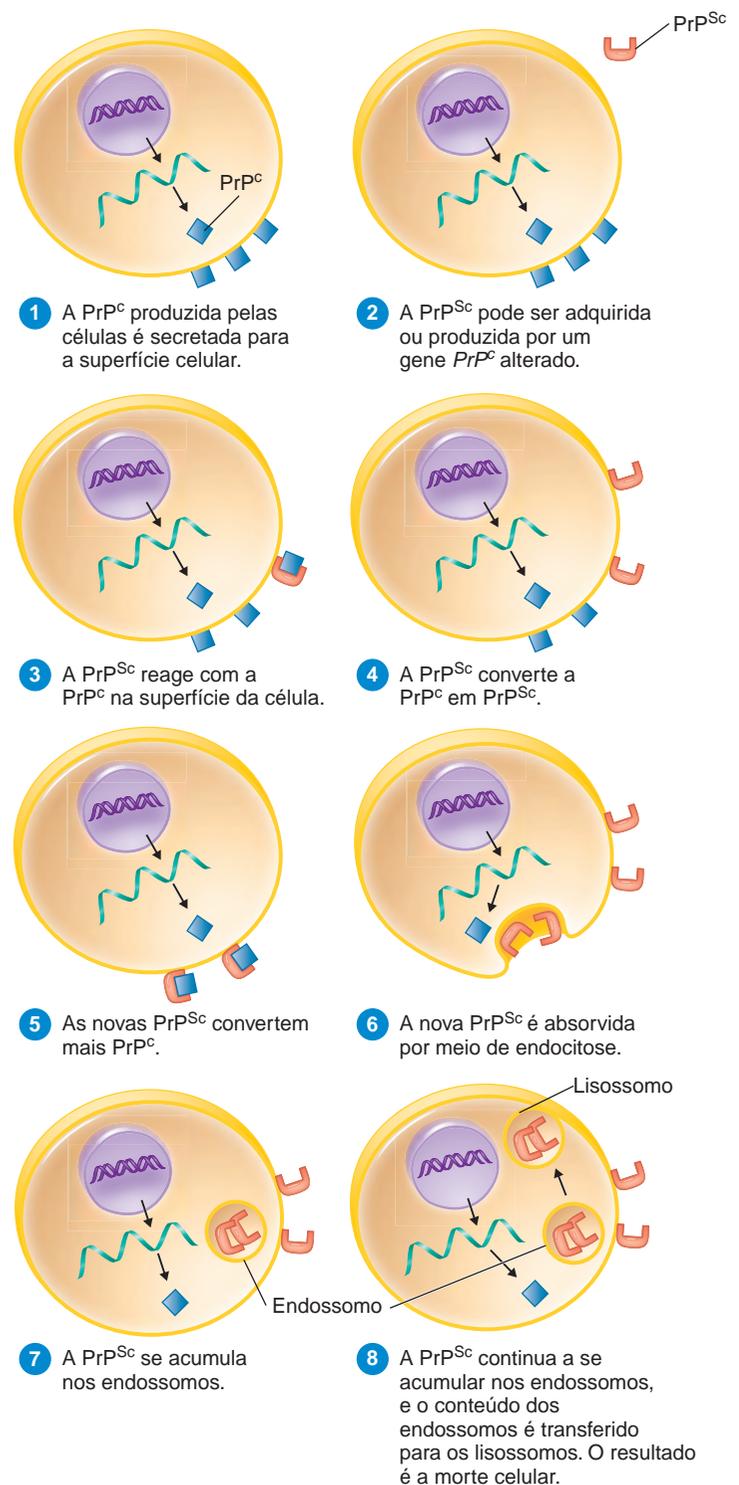


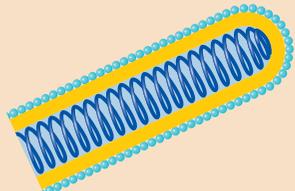
Figura 13.22 Como uma proteína pode ser infecciosa. Se uma proteína prion anormal (PrP^{Sc}) penetra na célula, altera a proteína prion normal para uma proteína PrP^{Sc}, que agora pode modificar outra PrP^c normal, resultando em um acúmulo de proteína anormal PrP^{Sc}.

P Como os prions diferem dos vírus?

Tabela 13.5 Exemplos de infecções virais latentes e persistentes em seres humanos

Doença	Efeito primário	Vírus causador
Latente	Ausência de sintomas durante a latência; os vírus em geral não são liberados.	
Herpes labial	Lesões na membrana mucosa e na pele; lesões genitais	HHV-1 e HHV-2
Leucemia	Aumento do número das células brancas do sangue	HTLV-1 e HTLV-2
Herpes zoster	Lesões na pele	<i>Varicellovirus</i> (herpesvírus)
Persistente	Os vírus são liberados continuamente.	
Câncer cervical	Crescimento celular aumentado	Papilomavírus humano
HIV/Aids	Diminuição de linfócitos T CD ₄ ⁺	HIV-1 e HIV-2 (<i>Lentivirus</i>)
Câncer de fígado	Crescimento celular aumentado	Vírus da hepatite B
Infecção persistente por enterovírus	Deterioração mental associada com Aids	Ecovírus
Encefalite progressiva	Rápida deterioração mental	Vírus da rubéola
Panencefalite esclerosante subaguda	Deterioração mental	Vírus do sarampo

Tabela 13.6 Classificação de alguns dos principais vírus vegetais

Característica	Família viral	Gênero viral ou membros não classificados	Morfologia	Método de transmissão
DNA de fita dupla, não envelopado	<i>Papovaviridae</i>	Vírus do mosaico da couve-flor		Pulgões
RNA de fita simples, polaridade positiva, não envelopado	<i>Potyviridae</i>	Vírus do mosaico da melancia		Moscas brancas
	<i>Tetraviridae</i>	<i>Tobamovirus</i>		Lesões
RNA de fita simples, polaridade negativa, envelopado	<i>Rhabdoviridae</i>	Vírus do nanismo amarelo da batata		Cigarras e afídios
RNA de fita dupla, não envelopado	<i>Reovirus</i>	<i>Wound tumor virus</i>		Cigarras

plantas, como os nematódeos, os fungos e, mais frequentemente, os insetos que sugam a seiva da planta. O pólen ou as sementes de uma planta infectada podem disseminar a infecção para outras plantas.

Em laboratórios, os vírus de plantas são cultivados em protoplastos (células vegetais cuja parede celular foi removida) e em culturas de células de insetos.

Algumas doenças de plantas são causadas por **viroides**, pedaços pequenos de RNA, com cerca de 300 a 400 nucleotídeos

somente e sem qualquer envoltório proteico. Os nucleotídeos em geral são pareados internamente, de forma que a molécula possui uma estrutura tridimensional fechada e dobrada, o que provavelmente protege do ataque de enzimas celulares. Esse RNA não codifica para nenhuma proteína. Até agora, os viroides têm sido identificados como patógenos exclusivos de plantas. Infecções por viroides, como o viroide do tubérculo afilado da batata, resultam em perdas anuais de milhões de dólares em danos causados às lavouras (**Figura 13.23**).