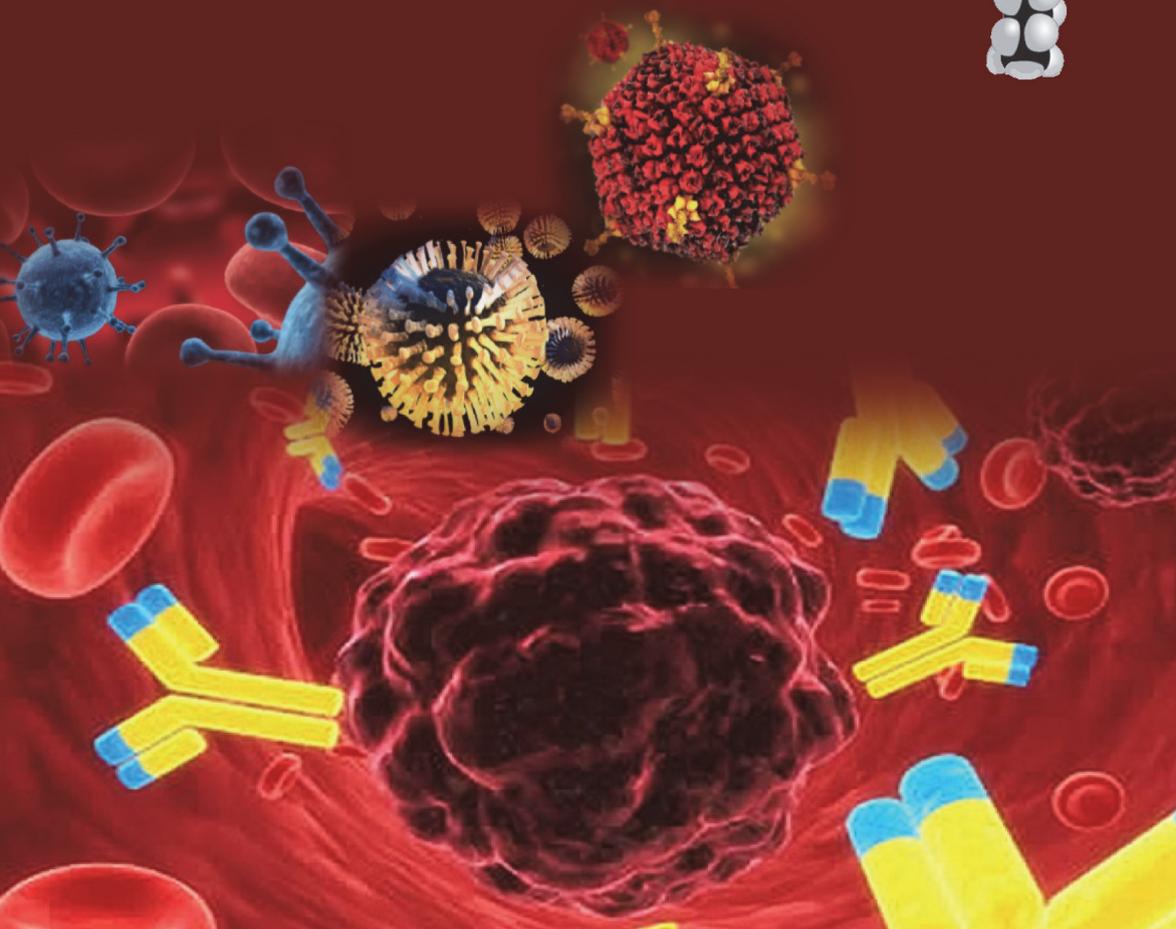
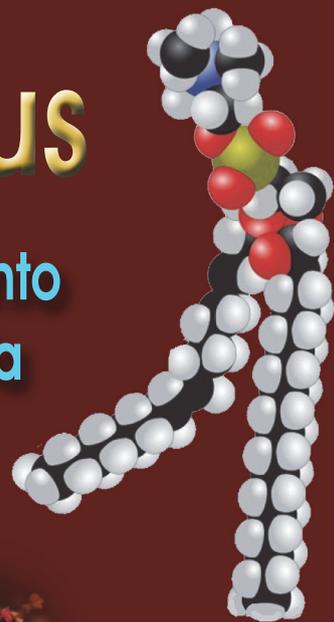


# Lípidos y virus

Un camino al entendimiento  
de la inmunofisiopatología  
de la infección viral



Nereida Valero, Teresa Veliz, Javier Reyes, Karina Merchán  
Marcela Pincay, Jazmín Castro, Anyelo Durán



*Nereida  
Josefina Valero  
Cedeño*

Licenciada en Bioanálisis. Magíster en Biología mención Inmunología Básica. PhD. en Inmunología en la Universidad de Alcalá, España. Docente Contratada de la Universidad Estatal del Sur de Manabí (UNESUM), Ecuador.  
Número de ORCID:  
<https://orcid.org/0000-0003-3496-8848>.



*Teresa Isabel  
Véliz Castro*

Licenciada en Ciencias de la Salud Especialidad Laboratorio Clínico. Magíster en Microbiología. Docente Titular Agregado I de la Universidad Estatal del Sur de Manabí (UNESUM), Ecuador.  
Número de ORCID:  
<https://orcid.org/0000-00002-3434-0439>.



*Karina Merchán  
Villafuerte*

Bioquímica Farmacéutica. Magíster en Bioquímica Clínica. Docente Titular Agregado III de la Universidad Estatal del Sur de Manabí (UNESUM), Ecuador.  
Número de ORCID:  
<https://orcid.org/0000-00003-1500-7304>.



*Lcdo. Javier Martin  
Reyes Baque*

Licenciado en la Especialización de Laboratorio Clínico. Magíster en Investigación Clínica y Epidemiológica. Docente Titular Agregado I de la Universidad Estatal del Sur de Manabí (UNESUM), Ecuador.  
Nº de ORCID: <https://0000-0003-3670-0036>.



*Ing. Marcela Pincay  
Pilay*

Ingeniera Comercial. Magíster en Comunicación y Marketing. Número de ORCID:  
<https://orcid.org/0000-00001-9730-5481>.



*Lcda. Jazmín  
Elena Castro Jalca*

Licenciada en Laboratorio Clínico. Magíster en Epidemiología. Docente Titular Principal de la Universidad Estatal del Sur de Manabí (UNESUM), Ecuador. Número de ORCID:  
<https://orcid.org/0000-0001-7593-8552>.



*Lcdo. Ányelo  
Alberto Durán  
Mojica*

Licenciado en Bioanálisis. Magíster en Biología mención Inmunología Básica. PhD. en Ciencias de la Salud. Santiago de Chile, Chile.  
Número de ORCID:  
<https://orcid.org/0000-0003-4422-2783>.

# **Lípidos y virus: un camino al entendimiento de la inmunofisiopatología de la infección viral**



**Lípidos y virus:  
un camino al entendimiento  
de la inmunofisiopatología  
de la infección viral**

***Nereida Valero***  
***Editora***

---

Nereida Valero, Teresa Veliz,  
Javier Reyes, Karina Merchán, Marcela Pincay,  
Jazmín Castro y Anyelo Durán

**Lípidos y virus: un camino al entendimiento de la inmunofisiopatología de la infección viral** / Nereida Valero\*, Teresa Veliz\*, Javier Reyes\*, Karina Merchán\*, Marcela Pincay\*, Jazmín Castro\*, Anyelo Durán\*\*.

\*Carrera de Laboratorio Clínico, Universidad Estatal del Sur de Manabí, Jipijapa, Provincia de Manabí, Ecuador.

\*\*Doctorado en Ciencias e Innovación en Medicina, Universidad del Desarrollo, Chile.

Esta obra ha sido publicada tras un proceso de evaluación de rigor científico y no puede ser reproducida, íntegra o parcialmente, por ningún sistema de recuperación, sea electrónico, mecánico, por fotocopia o por cualquier otro medio sin la autorización expresa de los editores de la misma.

LÍPIDOS Y VIRUS: UN CAMINO AL ENTENDIMIENTO  
DE LA INMUNOFISIOPATOLOGÍA DE LA INFECCIÓN VIRAL

Editora: Nereida Valero

Versión digital: ISBN 978-980-0504-5

Depósito legal ZU2019000049

Versión impresa: ISBN 978-980-18-0503-8

Depósito legal ZU2019000048

Este libro fue impreso en papel alcalino.

*This publication was printed on acid-free paper*

*that meets the minimum requirements*

*of the American National Standard for Information  
Sciences-Permanence for Paper for Printed Library*

*Materials, ANSI Z39.48-1984*

*Diagramación del libro y diseño de la portada:*

Ediciones Astro Data S.A.

Maracaibo, Venezuela

edicionesastrodata@gmail.com

# Dedicatoria

*A Dios todopoderoso*

*A nuestras familias que superan  
su paciencia en la espera y con su apoyo  
y comprensión logramos alcanzar nuestras  
metas*

*A todo aquel que desee incursionar  
en la investigación como base fundamental  
de la generación de nuevos conocimientos*



# Contenido

Prólogo a la Primera Edición .....	11
<b>CAPÍTULO I</b>	
<b>Generalidades de lípidos .....</b>	<b>15</b>
Generalidades.....	15
Concepto de lípidos.....	15
Ácidos grasos .....	15
Estructura .....	16
Clasificación .....	17
Propiedades .....	19
Lípidos saponificables.....	20
Lípidos de membrana .....	22
Glicerolípidos .....	22
Esfingolípidos.....	25
Esteroides .....	26
Función biológica de las grasas.....	27
Funciones biológicas de los lípidos.....	28
<b>CAPÍTULO II</b>	
<b>Fisiología de los lípidos .....</b>	<b>31</b>
Lípidos como sustrato energético .....	32
Metabolismo de los lípidos .....	36
Metabolismo de ácidos grasos .....	37
$\beta$ -Oxidación de ácidos grasos .....	39
$\beta$ -Oxidación de ácidos grasos insaturados .....	41
$\beta$ -Oxidación peroxisomal de ácidos grasos de cadena muy largas.....	43
$\alpha$ -Oxidación de ácidos grasos .....	44

α-Hidroxilasa o fitanoil α-hidroxilasa o fitanoil dioxigenasa	44
Ω-Oxidación	44
Síntesis de cuerpos cetónicos o cetogénesis	45
Activación de cuerpos cetónicos	45
Síntesis de ácidos grasos	46
Insaturación de ácidos grasos	46
Lipoproteínas	48
Definición y características de las lipoproteínas plasmáticas	49
Síntesis y degradación de quilomicrones	51
Síntesis y degradación de las VLDL	53
Síntesis y degradación de laS IDL	54
Síntesis y degradación de LDL	54
Síntesis y degradación de la HDL	56
Lipoproteína A o Lp(a)	58
<b>CAPÍTULO III</b>	
<b>Virus, infección y respuesta inmunitaria</b>	67
Consideraciones generales de los virus	67
Concepto ampliado	68
Estructura de los virus	69
Tipos de ADN virales	72
Tipos de ARN virales	73
Nomenclatura	74
Replicación del ácido nucleico viral	77
Adsorción	77
Penetración	78
Desnudamiento	79
Biosíntesis de macromoléculas virales	80
Mecanismos de replicación: ciclo vital de los virus	82
Mecanismos de transmisión viral	85
Consecuencias de la infección viral	88

Efecto citopático .....	88
Persistencia intracelular .....	89
Integración y transformación de la célula huésped.....	89
Infecciones abortivas .....	90
Conclusiones.....	90
<b>CAPÍTULO IV</b>	
<b>Infección viral y respuesta inmune .....</b>	<b>95</b>
Los virus en la medicina .....	95
Respuesta celular antiviral y características anatomopatológicas de infección viral .....	95
Infección viral y el sistema inmunitario .....	99
Respuesta inmunitaria antiviral.....	102
Fisiología de la respuesta inmunitaria durante las infecciones virales .....	104
Activación de los receptores tipo Toll en la respuesta innata.....	108
Desarrollo de las subpoblaciones de linfocitos Th y polarización de la respuesta inmunitaria .....	119
Estrategias virales para evadir la respuesta inmunitaria....	126
Conclusiones.....	129
<b>CAPÍTULO V</b>	
<b>Los lípidos en la infección viral .....</b>	<b>135</b>
Lípidos y virus Dengue .....	136
Lípidos y virus de Hepatitis.....	142
Gotas de lípidos y Flavivirus .....	149
Rotavirus y colesterol .....	154
Conclusión y perspectiva futura .....	155



# Prólogo a la Primera Edición

Este trabajo, cuya primera edición propongo al público, es el fruto de una experiencia acumulada en el área de la virología y que, junto a la bioquímica, hoy confluyen en el surgimiento de inquietantes ideas e investigaciones que hoy día no hemos podido consolidar, pero que a mediano o corto plazo con perseverancia veremos la continuación de trabajos previamente publicados como: Association of lipid profile alterations with severe forms of dengue in humans. Arch Virol. 2015; 160(7):1687-1692. doi: 10.1007/s00705-015-2433-z; Increased c-reactive protein and decreased interleukin-2 content in serum from obese individuals with or without insulin resistance: associations with leukocyte count and insulin and adiponectin content. Diabetes Metab Syndr. 2015. pii: S1871-4021(15)30035-7. doi: 10.1016/j.dsx.2015.09.007. 96; Role of the myeloid differentiation primary response (MYD88) and tir-domain-containing adapter-inducing interferon- $\beta$  (TRIF) pathways in dengue. Life Sci 2016 Oct 26; 162:33-40. y Papel de los receptores tipo toll y receptores para dominios de oligomerización para la unión a nucleótidos (NLRs) en las infecciones virales. Invest Clin 55(1):61-81. 2014.

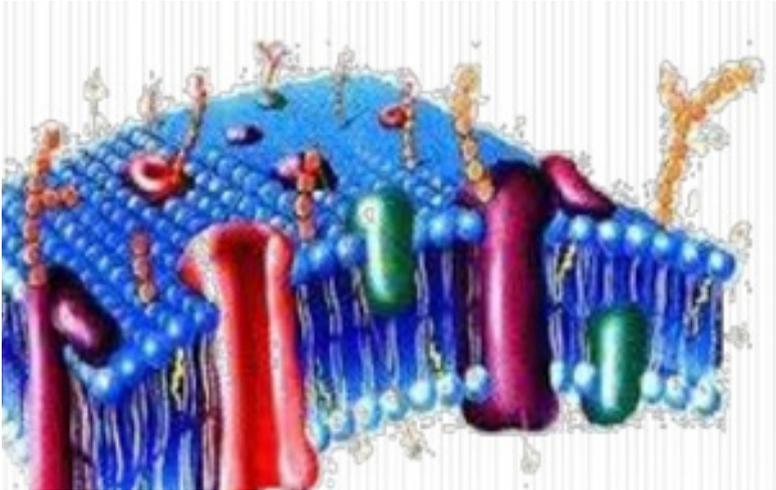
Éstas nos dieron la pauta para el inicio de este importante tema que nos permitió comprender un poco más sobre la fisiopatología de las infecciones virales, pero ya no basados en los mecanismos virales per se, sino en las puertas de entrada y la interacción con las células permisivas del hospedador, todo confluyendo en una asociación de eventos que constituyen el metabolismo de los lípidos y que cada día toman mayor relevancia, no solo por las implicaciones de riesgo cardiovascular o enfermedades como el síndrome metabólico o la obesidad, sino porque constituyen el punto clave de entrada y virulencia en muchas de las infecciones virales que hoy nos afectan.

La contribución que pretendemos ofrecer con este libro es precisamente ese deseo de involucrarnos más allá de lo que creemos y aportar al entendimiento, en este caso, a la inmunopatogénesis de las infec-

*ciones virales todo con un basamento único: los lípidos. El contenido de este libro esta resumido en cinco capítulos de este tomo que ofrecemos y esperamos cumpla con las expectativas de los lectores. Y al hacerlo así, no se ha atendido sólo a conseguir que sean más coherentes y completas las ideas, sino que se ha mejorado la exposición. En la medida en que la materia lo ha permitido, se han desarrollado aquí puntos que antes apenas se esbozaron, mientras que otros, ampliamente desarrollados, aquí simplemente se enuncian. El principio siempre es duro; esto vale para todas las ciencias. Por eso, la máxima dificultad la constituirá la comprensión de cada uno de los capítulos, pero su entendimiento estoy segura será una firme invitación a continuar investigando en esta importante puerta hacia la generación de nuevos conocimientos.*

*Dra. Nereida Valero*

# CAPÍTULO I





# GENERALIDADES DE LÍPIDOS

## GENERALIDADES

Los lípidos son la fuente más importante de energía, pero además forman parte de membranas celulares y vainas nerviosas, imprescindibles para la síntesis de hormonas, proveen protección térmica y mecánica. En este capítulo se abordan los distintos tipos de lípidos, desde las grasas saturadas hasta los ácidos grasos isoméricos. Se describen aquellos importantes en la alimentación, así como sus fuentes y requerimientos.

## CONCEPTO DE LÍPIDOS

Los lípidos son biomoléculas orgánicas, compuestas por carbono, hidrógeno y oxígeno, presenta en ciertas ocasiones, otros elementos como nitrógeno, fósforo y azufre. Son insolubles en agua y solubles en solventes orgánicos (no polares), como el alcohol, benceno, acetona, éter, cloroformo, entre otros. Incluyen los triglicéridos (comúnmente llamados grasas), fosfolípidos y esteroides (Tabla I).

## ÁCIDOS GRASOS

Constituyen el grupo de lípidos más sencillos. Participan en la constitución de otros lípidos y son una importante fuente de energía química. Generalmente no aparecen libres en la naturaleza sino forman parte de lípidos saponificables.

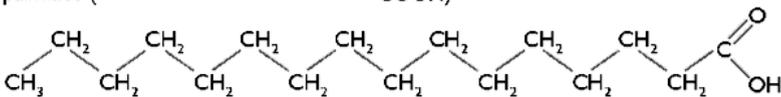
**Tabla I. Clasificación de los lípidos**

Clasificación de los lípidos			
<b>Ácidos grasos</b>	Saturados		
	Insaturados		Aceites
<b>Lípidos saponificables</b>	Acilglicéridos	Triglicéridos	Mantecas
	Ceras		Sebos
	Lípidos complejos o de membrana	Fosfolípidos Esfingolípidos	
<b>Lípidos insaponificables</b>	Terpenos		
	Esteroides		

## ESTRUCTURA

Los ácidos grasos son moléculas que poseen una larga cadena lineal hidrocarbonada, por regla general de un número par de átomos de carbono, que oscila entre 10 y 22, (aunque los más abundantes tienen 16 ó 18) y con un grupo carboxílico (-COOH) en el primer carbono de la molécula.

Ácido palmítico (  COOH)



Ácido esteárico (  COOH)

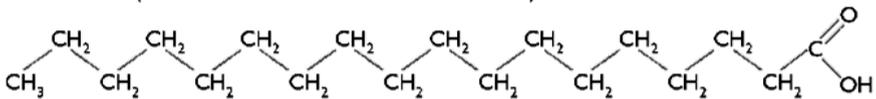


Figura 1. Estructura de los ácidos grasos

## CLASIFICACIÓN

Existen dos tipos de ácidos grasos:

- **Saturados**, posee únicamente enlaces simples
- **Insaturados**, además de enlaces simples posee uno o varios dobles enlaces.



**Ácidos grasos saturados (AGS).** Se los denominan así cuando no tienen dobles enlaces. Sólo tienen enlaces sencillos entre átomos de carbono adyacentes; no contienen dobles enlaces, lo que les confiere una gran estabilidad y la característica de ser sólidos a temperatura ambiente. Estos son más difíciles de utilizar que los insaturados, ya que es difícil romper esta molécula para atravesar las paredes de los capilares sanguíneos y tienden a acumularse contribuyendo a la formación de la placa ateromatosa. Los AGS predominan en los alimentos de origen animal, aunque también se encuentran en grandes cantidades en algunos alimentos de origen vegetal como los aceites de coco, palma y palmiste, también llamados aceites tropicales. El ácido esteárico (C18:0) es un ejemplo de AGS.

**Ácidos grasos insaturados (AGI).** Que pueden ser:

**Ácidos grasos poliinsaturados (AGP)** con dos o más dobles enlaces que pueden reaccionar con el oxígeno del aire aumentando la posibilidad de enranciamiento de la grasa. Los pescados y algunos alimentos de origen vegetal, como los aceites vegetales, líquidos a

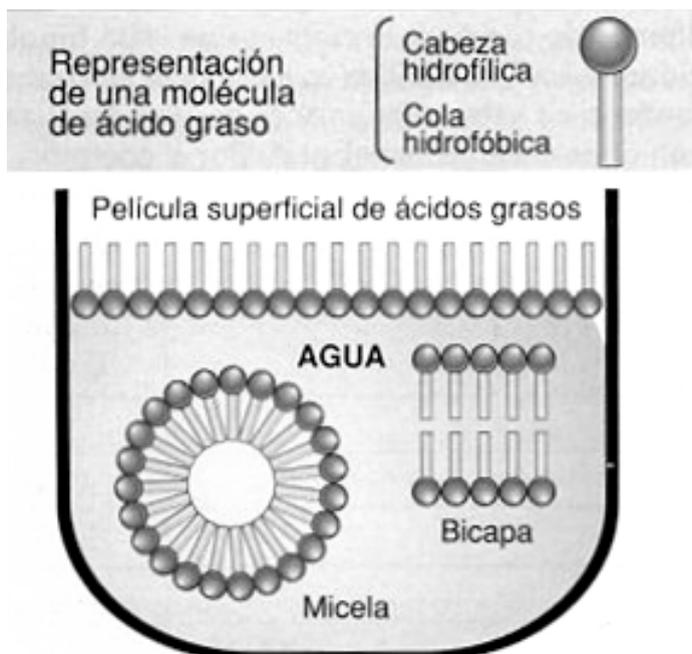
temperatura ambiente, son especialmente ricos en AGP. El ácido linoleico (C18:2) se encuentra en cantidades apreciables en el aceite de girasol. Desde el punto de vista nutricional son importantes los AGP de las familias omega-3 y omega-6, en los que el primer doble enlace está situado junto al tercer átomo de carbono (ácidos grasos omega-3) o junto al sexto átomo de carbono (ácidos grasos omega-6) contando desde el metilo terminal de la cadena. Los componentes de cada una de estas familias pueden tener diferente número de átomos de carbono y diferente número de dobles enlaces, pero el primer doble enlace siempre está en el carbono 3 o en el 6, respectivamente. Algunos son esenciales para el hombre: ácido linoleico (C18:2 n-6) y alfa-linolénico (C18:3 n-3). Los ácidos grasos de la familia omega-3 (principalmente en los pescados) tienen también un papel destacado en la prevención de algunas enfermedades degenerativas.

Ácidos grasos monoinsaturados (AGM) con un doble enlace en la molécula. Por ejemplo, el ácido oleico (C18:1) principal componente del aceite de oliva. Aunque en todos los alimentos hay mezclas de las tres familias, en los de origen vegetal predominan las grasas insaturadas y en los de origen animal las saturadas y unas y otras, según su grado de saturación, se han relacionado -positiva y negativamente- con las enfermedades cardiovasculares, algunos tipos de cáncer y otras enfermedades crónicas. Los principales alimentos suministradores de lípidos son los aceites y grasas culinarias, mantequilla, margarina, tocino, carnes grasas, embutidos y frutos secos. Aunque todos los alimentos tienen ácidos grasos de distinto grado de saturación, es mayoritaria la composición de grasa saturada en las carnes y derivados y en la mayoría de los lácteos. Tienen mayor proporción de ácidos grasos poliinsaturados: los pescados, los frutos secos y la mayoría de los aceites vegetales (maíz, soja, girasol y otros), mientras que el aceite de oliva y el aguacate contienen principalmente ácidos grasos monoinsaturados.

## PROPIEDADES

Son moléculas anfipáticas (del griego *amphi*, doble). La cabeza de la molécula (-COOH) es hidrófila. La cadena (grupos -CH<sub>2</sub>-CH<sub>3</sub> terminal) es hidrófoba.

- En un medio acuoso, los grupos hidrófilos se orientan hacia las moléculas de agua mientras que los hidrófobos se alejan de éstas. Este hecho explica la formación de películas superficiales, bicapas y micelas.
- El punto de fusión de los ácidos grasos insaturados es menor que el de los saturados. Este hecho explica el que entre los animales homeotermos (entre los que la temperatura del cuerpo es constante), predominen los compuestos que derivan de los ácidos grasos saturados, mientras que en aquellos en los que la temperatura es variable, abundan los ácidos grasos insaturados.



## LÍPIDOS SAPONIFICABLES

### Acilglicéridos

Las grasas son los lípidos más abundantes en la naturaleza. Forman parte de los llamados lípidos saponificables, los cuales poseen enlaces de tipo éster y forman jabones por medio de hidrólisis alcalina.

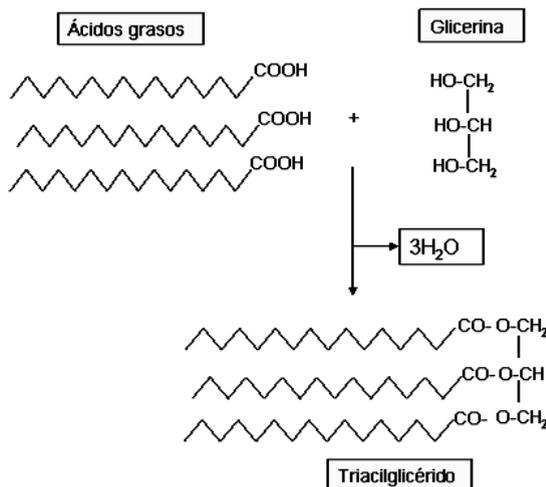
### Estructura

Los acilglicéridos son ésteres de la glicerina en los que uno, dos o los tres grupos alcohol de la misma han sido sustituidos por ácidos grasos. De esta forma dan lugar, respectivamente, a los monoacilglicéridos, diacilglicéridos y triacilglicéridos (también llamados triglicéridos o grasas).

### Esterificación

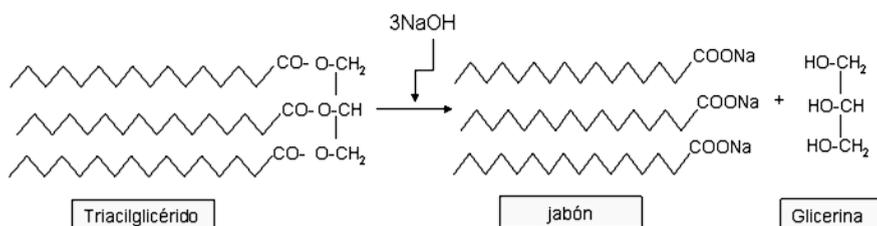
Es una reacción entre un ácido carboxílico (-COOH) y un alcohol en la que se obtiene un éster y agua.

Al reaccionar tres moléculas de ácidos grasos (Por ejemplo, ácido palmítico) con una molécula de glicerina, dan lugar a una molécula de grasa más tres de agua. Esta reacción recibe el nombre de *esterificación*, y al producto de la misma es un éster.



## Saponificación

Los ésteres se descomponen hirviéndolos con soluciones diluidas de hidróxido de sodio (NaOH) o potásico (KOH). A esta reacción inversa se la conoce como *saponificación*, obteniéndose, como producto resultante glicerol y sales sódicas o potásicas de los ácidos grasos, que reciben el nombre de *jabones*.



## Propiedades

- No poseen carga eléctrica, de ahí que también se las denomine grasas neutras.
- Son insolubles en agua.
- Se disuelven en disolventes orgánicos y son malas conductoras del calor.

Los ácidos grasos se clasifican atendiendo al estado que presentan a temperatura ambiente. Los líquidos se llaman aceites, y están formados por ácidos grasos insaturados. Las grasas semisólidas (grasa de cerdo) se llaman mantecas y están formados por ácidos grasos *saturados e insaturados* son. Los sólidos se denominan sebos, y están formados por ácidos grasos saturados

## Ceras

Son ésteres de monoalcoholes de cadena larga con ácidos grasos también de cadena larga; por ello, los dos extremos de la molécula son de naturaleza hidrófoba. Son insolubles en agua, lo que explica su función impermeabilizante, se localizan en la epidermis de las hojas, frutos, así como en la piel de muchos animales, en el pelo o las plumas.

## LÍPIDOS DE MEMBRANA

Son moléculas anfipáticas con una zona hidrófoba, en la que los ácidos grasos están unidos mediante enlaces éster a un alcohol (glicerina o esfingosina), y una zona hidrófila, originada por los restantes componentes no lipídicos que también están unidos al alcohol. En la Tabla II se representan los diferentes tipos:

**Tabla II. Tipos de lípidos**

---

Glicerolípidos	a) Gliceroglucolípidos b) Glicerofosfolípidos, fosfoglicéridos (fosfolípidos)
Esfingolípidos	a) Esfingoglucolípidos b) Esfingofosfolípidos

---

## GLICEROLÍPIDOS

Poseen dos moléculas de ácidos grasos unidas mediante enlaces éster a dos grupos alcohol de la glicerina (posiciones  $\alpha$  y  $\beta$ ). Según sea el sustituyente unido al tercer grupo alcohol de la glicerina se forman los:

### a. Gliceroglucolípidos

Si se une un glúcido. Lípidos que se encuentran en membranas de bacterias y células vegetales.

### b. Fosfolípidos

Se une el ácido fosfórico. Los fosfolípidos son lípidos saponificables que también se denominan fosfoglicéridos o glicerofosfolípidos. Constituyen la mayor parte de los lípidos que podemos encontrar en las membranas celulares. Poseen una glicerina esterificada por dos ácidos grasos, en el  $C_1$  es saturado, mientras que el del  $C_2$  es insaturado y en el carbono 3 por un grupo fosfato. El grupo fosfato está unido mediante enlace éster a un aminoalcohol o a un polialcohol.

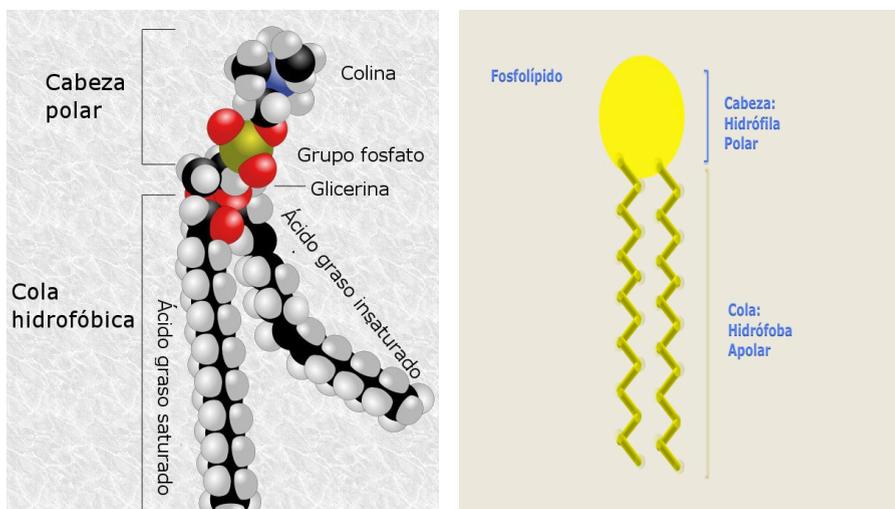


Figura 2. Estructura de los fosfolípidos

Los fosfolípidos, cuando se encuentran en un medio acuoso, los grupos hidrófilos se orientan hacia las moléculas de agua y los hidrófobos se alejan, ocultándose dentro de la estructura, formando:

- a. **Micelas.** Tienen forma más o menos esféricas. La superficie está formada por las cabezas hidrófilas que están en contacto con el medio acuoso, mientras que hacia el interior se disponen las cadenas hidrófobas.
- b. **Bicapas.** Las cabezas hidrófilas están en contacto con el medio acuoso existente a ambos lados de la bicapa y las cadenas hidrófobas se orientan hacia el interior (Figura 3).

## ESFINGOLÍPIDOS

Los esfingolípidos están formados por una molécula denominada ceramida. La ceramida está constituida por un ácido graso y una esfingosina. Dependiendo de la molécula que enlace con la ceramida, podemos encontrar fosfoesfingolípidos o glucoesfingolípidos. Los esfingolípidos son, por tanto, lípidos complejos que derivan del aminoalcohol insaturado de 18 carbonos esfingosina. Los hay con o sin fosfato: fosfoesfingolí-

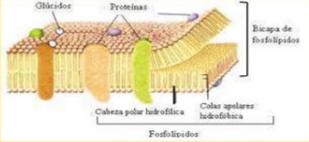
## LÍPIDOS: LÍPIDOS SAPONIFICABLES

**Lípidos complejos**

- Son ésteres de ácidos grasos, un alcohol y otras moléculas.
- Tienen carácter anfipático y en contacto con el agua forman dobles membranas.
- Forman la estructura básica de las membranas biológicas.

➤ **Fosfolípidos: Fosfoglicéridos y esfingolípidos.**

➤ **Glucolípidos**



El diagrama muestra una bicapa de fosfolípidos con proteínas y glucolípidos. Las etiquetas incluyen: Glucóidos, Proteínas, Bicapa de fosfolípidos, Cabeza polar hidrofílica, Colas apolares hidrofóbicas, Fosfolípidos. Fuente: membranascelulares.blogspot.com

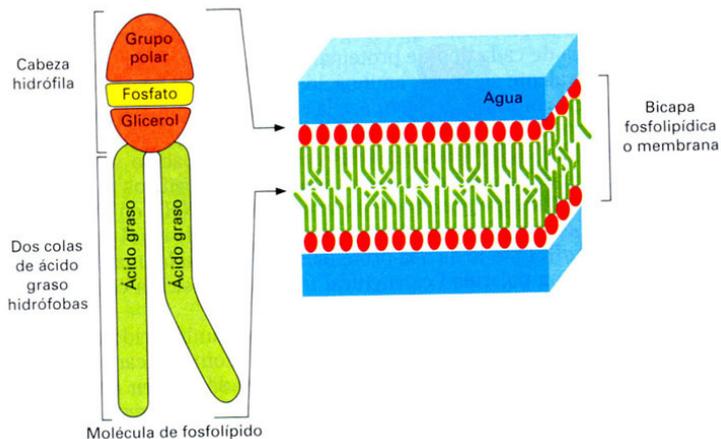
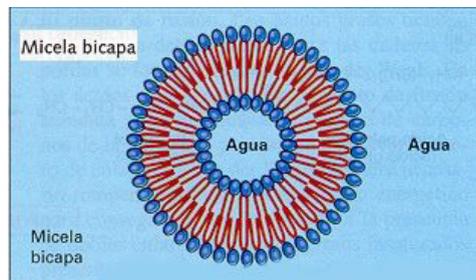
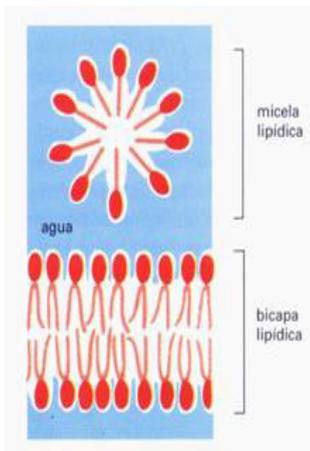


Figura 3. Lípidos saponificables

pidos y glucoesfingolípidos (con hidratos de carbono); la esfingosina se halla unida a un ácido graso de cadena larga mediante un enlace amida formando la ceramida. Aparte de su papel estructural como componentes de las membranas, los esfingolípidos regulan la dinámica de éstas y forman parte de los microdominios de membrana denominados balsas de membrana que tienen propiedades y funcionalidad propias.

## LÍPIDOS SAPONIFICABLES: Esfingomielinas (fosfoesfingolípidos)

### □ **Función**

- Membranas celulares ( Vainas de mielina )

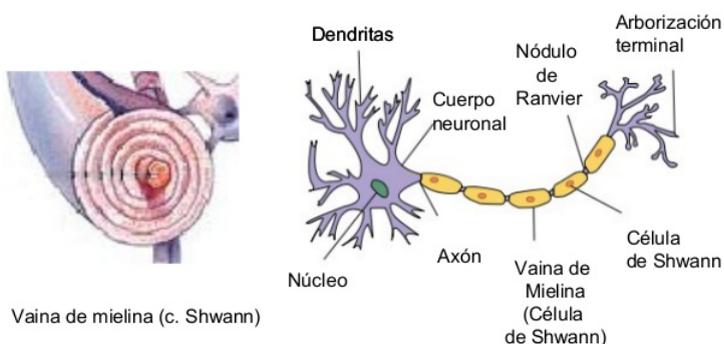
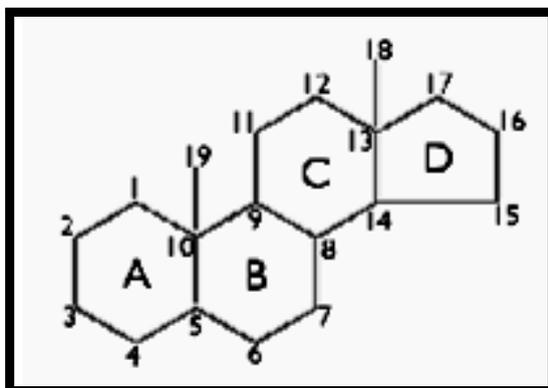


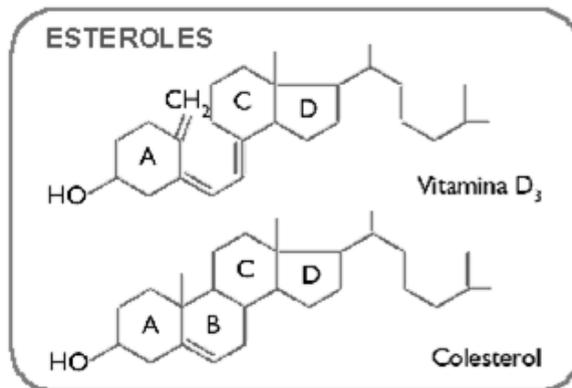
Figura 4. Lípidos de membrana



Lípidos insaponificables

## ESTEROIDES

Son lípidos complejos, derivados del hidrocarburo policíclico ciclopentanoperhidrofenantreno. Dentro de este grupo, los más importantes son los esteroides, que poseen en el tercer carbono una función alcohol (-OH). Un esteroide muy abundante en los vertebrados es el colesterol, que es un componente muy importante de las membranas celulares a las que confiere fluidez. En estados patológicos, se presentan problemas con el colesterol, al depositarse éste en las paredes de los vasos sanguíneos, causando así la enfermedad conocida como arteriosclerosis.



El colesterol es también precursor de otros esteroides, como son:

- Vitamina D, su ausencia provoca el raquitismo.
- Hormonas sexuales andrógenas, como la testosterona.
- Hormonas de la corteza suprarrenales, como la aldosterona.
- TERPENOS (o isoprenoides)

Son derivados del isopreno, formados por la unión de muchas unidades del mismo. Son muy abundantes entre los vegetales, formando parte de los aceites esenciales de las plantas, a las que dan su olor característico, como el *geraniol* del geranio, el *limoneno* del limón, o el *mentol* de la menta.

Los carotenoides están formados por ocho unidades de isopreno; son, por tanto, tetraterpenos. Tienen una gran importancia biológica y están ampliamente difundidos en la naturaleza. Dentro de este grupo se encuentran muchos pigmentos vegetales, como *xantofila*, responsable del color amarillo de la mayoría de las plantas, el  $\beta$ -caroteno, pigmento de color rojo anaranjado, queda su color característico a la zanahoria, entre otros.

## FUNCIÓN BIOLÓGICA DE LAS GRASAS

**Combustible energético.** Son moléculas que liberan mucha energía (9 Kcal/g).

- **Reserva energética.** Acumulan mucha energía en poco peso. Se acumulan en las células adiposas de los animales y en las vacuolas de las células vegetales.
- **Aislantes térmicos.** Conducen mal el calor. Los animales de zonas frías presentan, a veces, una gran capa de tejido adiposo.
- **Protección** a distintas zonas del cuerpo del efecto de golpes o contusiones.
- **Impermeabilizante** de las plumas y los pelos.

Para recordar:



## FUNCIONES BIOLÓGICAS DE LOS LÍPIDOS

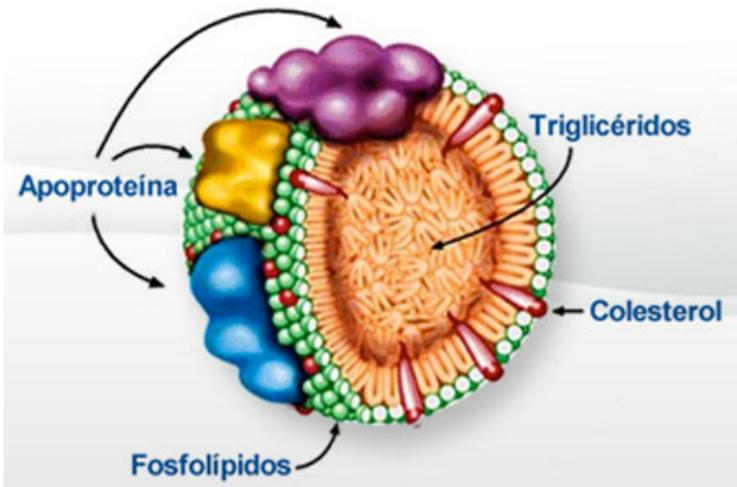
**Energéticas.** Almacenan gran cantidad de energía por unidad de masa, por lo que constituyen un excelente material de reserva energético que, al no almacenarse con agua, resulta relativamente ligero.

**Estructurales.** La naturaleza anfipática (bipolar) de algunos lípidos (ácidos grasos, fosfolípidos y glicolípidos) les permite organizarse en bicapas en medios acuosos, por ello, constituyen el material ideal para formar los sistemas de membranas de las células animales y vegetales. La particular estructura del colesterol es utilizada para conferir “fluidez” a estas membranas.

**Protectoras.** La insolubilidad en agua de grasas y ceras les permite desempeñar funciones de aislante de la humedad. Asimismo, la escasa conductividad térmica de las grasas del panículo adiposo (capa de grasa bajo la piel) de aves y mamíferos posibilita su uso como aislante térmico. También, el tejido adiposo que rodea algunas vísceras actúa como protección y amortiguador de golpes.

**Reguladoras.** Ciertas hormonas como las sexuales (andrógenos, estrógenos y progesterona) y las hormonas de la corteza suprarrenal son derivados del colesterol, lo que les permite atravesar la membrana celular con facilidad ya que ejercen su acción desde el interior de la célula (a diferencia de otras hormonas como la adrenalina que lo hacen sin atravesarla). Algunas vitaminas como la A, E, K y D también tienen naturaleza lipídica.

# CAPÍTULO II





# FISIOLOGÍA DE LOS LÍPIDOS

Los lípidos son sustancias orgánicas de bajo peso molecular, no poliméricas. Entre varios tipos encontramos a la grasa neutra o triglicéridos, que son ésteres resultantes de la reacción de ácidos grasos con la glicerina. Se caracterizan por ser insolubles o poco solubles en agua y solubles en solventes orgánicos, están formados por C, H, O. A veces también participan de la estructura de los lípidos el N, S o P, como en los fosfolípidos, que contienen fósforo y nitrógeno, los glucolípidos que contienen hidratos de carbono y nitrógeno, y las lipoproteínas, cuya importancia es la de ser el medio de transporte de los lípidos en la sangre. Dentro de sus funciones se encuentran la de proteger la integridad de la piel, constituir entre un 50 y un 60% de la masa cerebral, amortiguar a los órganos vitales de traumatismos, actuar como excelentes aislantes térmicos y ser la mayor fuente de aporte energético.

Resultan imprescindibles para la síntesis de hormonas esteroideas, forman parte de membranas celulares y vainas que envuelven a los nervios. Aquellos lípidos que se encuentran de manera líquida a temperatura ambiente los podemos clasificar como aceites cuando funden a menos de 30°C, como grasas cuando funden por debajo de 42°C y como ceros cuando están muy sólidos a temperatura ambiente, con un punto de fusión mayor. Los ácidos grasos simples son estructuras carbonadas de diferentes longitudes, pero con un grupo funcional ácido en común. Pueden ser de cadena corta (4 a 6 carbonos), de cadena media (6 a 12 carbonos) o de cadena larga (más de 12 carbonos). Según si hay dobles enlaces entre los carbonos y la cantidad de éstos, se los llama saturados (sin doble enlace), monoinsaturados (un doble enlace) o poliinsaturados (más de un doble enlace). Los dobles enlaces están en configuración *cis*, pero pueden cambiar a configuración *trans*, por isomerización geométrica, o des-



carbohidratos. Según la intensidad del ejercicio, uno de estos combustibles puede pasar a ser el principal proveedor de energía. Por ejemplo, durante el reposo, prácticamente la totalidad de la energía que se necesita para el metabolismo basal se deriva de las grasas, con excepción de la requerida por el sistema nervioso central y los glóbulos rojos, que dependen de la glucosa sanguínea. La relación de suministro de energía en esta situación puede ser del 90% grasa y 10% carbohidratos.

En la actividad intensa, el organismo movilizará glucosa desde la reserva de glucógeno del músculo para conseguir energía. La movilización de ácidos grasos dependerá del tiempo y duración del ejercicio. A mayores intensidades, el organismo comenzará a utilizar cada vez más carbohidratos. Esto significa que, durante las actividades deportivas de alta intensidad, los carbohidratos, pasan a ser el combustible más importante. La relación entre grasa y carbohidratos puede alcanzar el 30 y 70% respectivamente. La energía que se requiere para realizar ejercicios de baja intensidad proviene principalmente del metabolismo de las grasas, ya que, durante el mismo, se oxida la mayor proporción de ácidos grasos libres. Las fibras de contracción lenta poseen mayor concentración de triglicéridos, debido a su naturaleza aeróbica que las de contracción rápida.

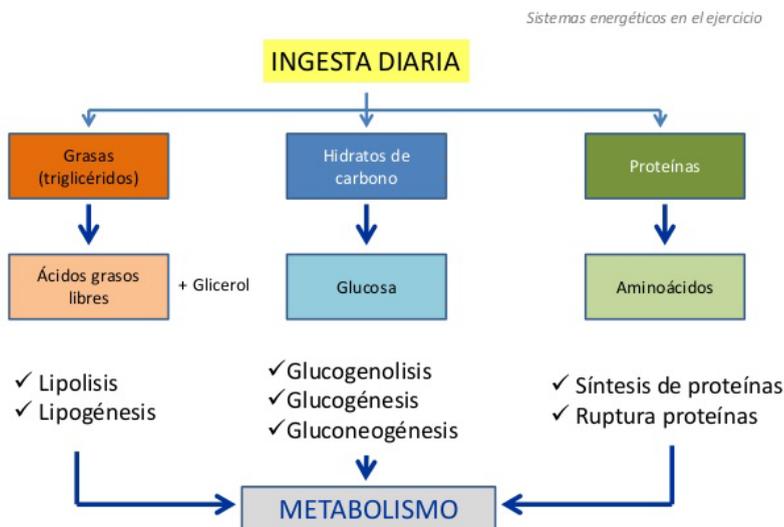
En el ejercicio intenso se activarán principalmente las fibras de contracción rápida donde el sustrato predominante es el glucógeno. El nivel óptimo de oxidación de las grasas, deriva del equilibrio entre la máxima oxidación de grasas (baja intensidad del ejercicio) y el máximo consumo, encontrándose el nivel aconsejado en 60% del  $O_2$  máximo y a una frecuencia cardiaca entre el 70-75% de la máxima. Los ácidos grasos saturados son más difíciles de utilizar que los insaturados, ya que es difícil romper esta molécula para atravesar las paredes de los capilares sanguíneos. Ejemplo de ello, encontramos el palmítico (16 carbonos;  $CH_3(CH_2)_{14}COOH$ ), siendo el más abundante de los saturados y el esteárico (18 carbonos), presente en las grasas comestibles.

Los lípidos pueden estar en el músculo como ácidos grasos libres pero la mayor parte de los lípidos son triglicéridos. Se denomina así a la unión de una molécula de glicerol con tres ácidos grasos que pueden tener diferentes largos de cadena. El hígado sintetiza los triglicéridos, pero también pueden incorporarse con los alimentos. La glucosa es el sustrato primario en la lipogénesis. El organismo fabrica ácidos grasos a partir del acetil-CoA. Los ácidos grasos como el palmitato, pueden unirse al glicerol formando los triglicéridos y depositarse en el tejido adiposo. Al producirse la degradación en glicerol y ácidos grasos libres, éstos podrán ser utilizados como energía. Es interesante destacar que el complejo enzimático del ácido graso sintasa contiene siete enzimas activas en una única estructura, lo que le confiere una gran eficacia y le permite estar libre de interferencias. Es por eso que es tan fácil en el eunutruido (bien nutrido) producir grasa.

La digestión y el transporte de los lípidos, representa un problema único para el organismo debido a que son insolubles en agua, mientras que las enzimas del metabolismo de lípidos son solubles o están unidas a la membrana plasmática, en contacto con el agua. Además, los lípidos, y sus productos de degradación deben transportarse a través de compartimientos acuosos dentro de la célula o en la sangre. Durante la digestión, el problema se resuelve empleando los ácidos y sales biliares; estos compuestos son derivados anfipáticos del colesterol, que se forman en el hígado y se acumulan en la vesícula biliar. Durante la digestión se excretan al intestino donde emulsifican la grasa, aumentando el área de la interfase lípido-agua, que es donde pueden actuar las enzimas que hidrolizan los lípidos. También mantienen en suspensión los productos de degradación, como los mono y diacilglicéridos.

La secreción de colesterol, junto con los ácidos y sales biliares es la única forma de eliminación de colesterol. La mayor parte del colesterol y sus derivados son reabsorbidos en el intestino delgado, y devueltos al hígado por la vena porta, desde donde pueden ser secretados nuevamente. Esta es la llamada circulación entero –hepáti-

ca, o ciclo entero –hepático del colesterol. Algunos agentes que interrumpen la circulación entero –hepática se utilizan en el tratamiento de hipercolesterolemia. Entre ellos se incluyen resinas sintéticas y fibras solubles como la pectina de la fruta y la fibra de la avena. Estos compuestos unen el colesterol y sus derivados, evitando así que se reabsorban. La Ezetimibina es un fármaco que inhibe la absorción intestinal de colesterol. La degradación de los triacilglicéridos depende de la actividad de la lipasa pancreática (LP) (Triacilglicérido Hidrolasa, EC:3.1.1.3) enzima que se libera al intestino y cataliza la hidrólisis de triacilglicéridos en las posiciones 1 y 3, formando 2- monoácilglicéridos y ácidos grasos libres. La enzima, necesita de otra proteína, llamada Colipasa, que le facilita la unión en la interfase lípido-agua. Los ácidos grasos y monoacilglicéridos producidos por la lipasa, y el colesterol, son absorbidos por las células del epitelio intestinal, donde se utilizan para volver a formar los triacilglicéridos. Los inhibidores de la LP, como el Orlistat (Xenical) se utilizan para el control de peso debido a que evitan la degradación de triacilglicéridos y con ello disminuyen la absorción de grasas provenientes de alimentos.



El páncreas también secreta otra enzima para la digestión de Lípidos, la Fosfolipasa A<sub>2</sub>, que hidroliza el enlace éster del carbono 2 del glicerol, liberando un ácido graso y lisofosfolípidos, poseen acción detergente y también participan en la emulsificación de las grasas. Junto con el colesterol y los ácidos y sales biliares, en la bilis también se secretan algunos fosfolípidos como la lecitina, que sirven como sustrato de la Fosfolipasa A<sub>2</sub>, y ayudan en la emulsificación de las grasas. El veneno de la Cobra y el de abeja, contienen Fosfolipasa A<sub>2</sub>, y cuando se inyectan en la sangre, producen lisofosfolípidos que destruyen las membranas celulares y producen hemólisis. Dentro de las células del epitelio intestinal, y de otras más, el colesterol se esterifica con ácidos grasos para formar Esteres de Colesterol, por acción de la enzima Acil-CoA: Colesterol Acil Transferasa (ACAT). Los ésteres de colesterol se almacenan en diversos tipos de células, y son empleados en el Hígado para formar lipoproteínas. La inhibición de la ACAT se considera como una estrategia novedosa para el tratamiento y prevención de la hipercolesterolemia.

En el interior de las células intestinales, los ácidos grasos libres, que son poco solubles y tienen propiedades detergentes, se mantienen unidos a una proteína citoplásmica, la I-FABP (Intestinal Fatty Acid Binding Protein ó proteína intestinal de unión a ácidos grasos). La estructura de esta proteína se caracteriza por la presencia de una “pinza beta”, que es una cavidad formada por dos placas  $\beta$ , casi ortogonales, cada una con 5 segmentos de cadena  $\beta$  antiparalelas. En la sangre, los ácidos grasos se transportan unidos a la albúmina sérica que es secretada por el hígado. Casi todos los lípidos restantes se transportan en la sangre en los complejos supramoleculares llamados lipoproteínas.

## **METABOLISMO DE LOS LÍPIDOS**

El intestino absorbe los lípidos y son digeridos y metabolizados antes de ser utilizados por el cuerpo. La mayor parte de los lípidos son grasas y moléculas complejas que el cuerpo tiene que descomponer antes de que las pueda utilizar y se pueda obtener energía de ellas.

## METABOLISMO DE ÁCIDOS GRASOS

Los ácidos grasos son los lípidos más importantes como fuentes y almacén de energía.

### Activación de Ácidos Grasos.

Para participar en el metabolismo, los ácidos grasos deben unirse a la coenzima-A, en una reacción que requiere energía. La acil-CoA sintetasa cataliza la reacción de formación de un enlace tioéster entre el carboxilo del ácido graso y el grupo mercapto de la Coenzima A, acoplada a la hidrólisis del ATP hasta AMP y pirofosfato.

La reacción está casi en equilibrio, pero se hace irreversible por la hidrólisis del pirofosfato que a su vez es catalizada por enzimas pirofosfatasa.  $PPi \rightarrow 2 P_i$ , hay 3 isoenzimas de la acil-CoA sintetasa en la membrana mitocondrial externa:

1. Acetil-CoA Sintetasa (C<sub>2</sub>-C<sub>4</sub>)
2. Octanoil-CoA Sintetasa (C<sub>6</sub>-C<sub>12</sub>)
3. Dodecanoil-CoA Sintetasa (C<sub>10</sub>)

Además, de los ácidos grasos normales, las isoenzimas 1 y 3 también pueden usar ácidos grasos sustituidos. Todas funcionan con el mismo mecanismo. Primero, se forma un enlace anhidro mixto entre el carboxilo del ácido graso y el fosfato  $\alpha$  del ATP, promovido por la eliminación de los fosfatos  $\beta$  y  $\gamma$  en forma de pirofosfato.

Los ácidos grasos con menos de 12 átomos de carbono en su cadena, pueden entrar a la mitocondria por difusión pasiva y ser activados en su interior. En la matriz mitocondrial también hay una enzima específica de ácidos grasos de cadena larga, que usa GTP como fuente de energía. Parece importante para activar ácidos muy grandes, que en ocasiones pueden llegar libres hasta la matriz mitocondrial. Se han descrito otras formas de Activación entre las cuales se encuentran las siguientes:

### 3-Cetoacil-CoA Transferasa (Tioforasa)

Su función es la activación extrahepática de los cuerpos cetónicos mediante la transferencia de la coenzima A de la succinil-CoA, interme-

diario del ciclo de Krebs al carboxilo del acetoacetato, sin embargo, también puede usar ácidos grasos de cadena corta como aceptores.

### Acil Cinasa

Esta enzima participa principalmente en la activación de Acetato y Butirato, formando un enlace anhídrido carboxilo-fosfato, de alta energía de hidrólisis.

### Fosfoacil Transferasa

La activación tiene dos consecuencias:

1) Se forma un enlace tioéster de alta energía; 2) Los ácidos pierden su carácter anfipático y son más solubles. Los ácidos grasos libres de cadena larga, pueden cruzar la membrana interna y ser activados en la matriz mitocondrial. Los acil-CoA formados deben entrar a la matriz mitocondrial para ser metabolizados, pero la Coenzima A no puede atravesar la membrana mitocondrial interna. Por lo tanto, para que puedan entrar a la mitocondria se necesita la participación del aminoácido no proteínico Carnitina (L-3-Hidroxi-4-Trimetilaminobutirato). Completa la activación iniciada por la enzima anterior, transfiriendo el grupo acilo a la Coenzima A.

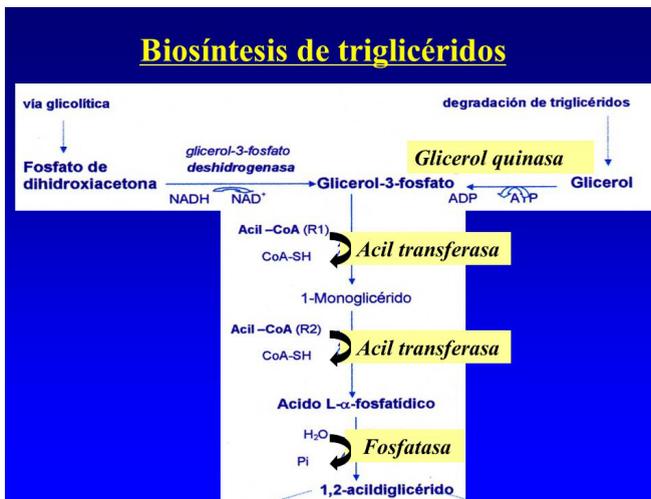


Figura 6.- Síntesis de Triacilglicéridos

### Carnitina Aciltransferasa ó Acil-CoA Carnitina Aciltransferasa

Existen dos:

1. Acil-CoA: Carnitina Transferasa I (CAT-I) en la cara externa de la membrana mitocondrial interna. Esta enzima es inhibida por malonil-CoA.
2. Acil-CoA:Carnitina Transferasa II (CAT-II) en la cara interna de la membrana mitocondrial interna. Ambas catalizan la transferencia reversible del grupo acilo entre carnitina y Coenzima A.

La reacción de la CAT-I transfiere el acilo de la CoA a la carnitina, en el lado citoplásmico de la membrana interna y la CAT-II cataliza la reacción en sentido contrario, generando Acil-CoA en la matriz mitocondrial. Esta secuencia de reacciones, mantiene separados los depósitos mitocondrial y citoplásmico de la coenzima A. La deficiencia de CAT provoca fallas en el metabolismo energético del músculo en condiciones de ayuno, ejercicio moderado o dieta rica en ácidos grasos, que no mejoran por la administración de carnitina. La falta genética de las enzimas que sintetizan carnitina tiene los mismos síntomas, pero estos se alivian con la administración en la dieta del aminoácido.

### **Carnitin:Acilcarnitina Translocasa**

Esta enzima introduce la acilcarnitina, del citoplasma a la matriz mitocondrial, intercambiándola por carnitina libre. La carencia de esta enzima produce un desorden sumamente raro que se manifiesta con neuropatía neonatal, alteración del ritmo cardíaco e hipoglucemia hipocetónica con amonioemia.

## **$\beta$ -OXIDACIÓN DE ÁCIDOS GRASOS**

En la matriz mitocondrial se realiza el ciclo de  $\beta$ -oxidación, principal vía de oxidación de los ácidos grasos, que consiste en la secuencia repetitiva de las reacciones que se resumen en la figura 7.

En cada paso por las reacciones de la  $\beta$ -oxidación, el ácido graso sustrato pierde dos átomos de carbono. El Acil-CoA<sub>(n-2)</sub> producto, con dos carbonos menos que el inicial, puede tomar el lugar del acil-CoA

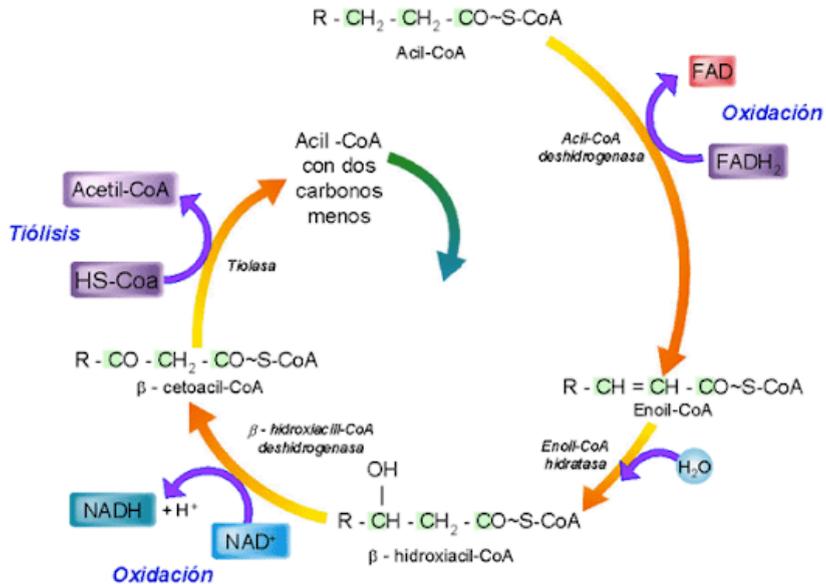


Figura 7. Beta oxidación de ácidos Grasos

original como sustrato, de manera que cuando se degrada completamente un ácido graso con número par de átomos de carbono inicial igual a  $n$ , produce un número de moléculas de acetil-CoA igual al número de átomos de carbono entre dos ( $n/2$ ) y para ello necesita  $(n/2-1)$  ciclos de  $\beta$ -oxidación, porque en el último paso, se produce 2 moléculas de Acetil-CoA. Además, en cada ciclo de  $\beta$ -oxidación se producen una molécula de  $FADH_2$  y una de  $NADH+H$ . Por ejemplo, el ácido Esteárico con 18 átomos de carbono, produce 9 moléculas ( $18/2$ ) de acetil-CoA, en 8 ciclos de  $\beta$ -Oxidación ( $9-1$ ) y por lo tanto, también produce 8 moléculas de  $NADH+H$  y 8 de  $FADH_2$ .

### Acil-CoA Deshidrogenasa

Existen 3 isoenzimas:

1. Butiril-CoA Deshidrogenasa (C4-C8) ó “Flavoproteína Verde”
2. Octanoil-CoA Deshidrogenasa (C8-C12) ó “Flavoproteína Amarilla-1”
3. Palmitoil-CoA Deshidrogenasa (C10-C18) ó “Flavoproteína Amarilla-2”

Todas tienen 2 moles de FAD por mol de proteína. Son estereoespecíficas y forman únicamente el isómero *trans*. Durante la reacción, forman complejos estables con el sustrato, pero recambian con facilidad. Las enzimas son inhibidas por su producto. El  $\text{FADH}_2$  que se forma resiste la oxidación con  $\text{O}_2$  libre.

La enzima se reoxida por acción de una flavoproteína de transferencia de electrones (FTE ó ETF) que tiene FMN. La FTE transfiere los electrones a la coenzima Q (CoQ), pero NO forma parte de ningún complejo de la cadena respiratoria. Este fue el primer caso conocido de una enzima de óxido reducción que requería de otra proteína para reoxidarse. Cuando se determinó el mecanismo de la cadena respiratoria, se vio que este es un fenómeno común. Vale la pena hacer notar que el *trans*-enoil formado es equivalente al ácido fumárico del ciclo de Krebs, y que los dos pasos siguientes también son equivalentes a los del ciclo.

## **$\beta$ -OXIDACIÓN DE ÁCIDOS GRASOS INSATURADOS**

La actividad de las enzimas de  $\beta$ -oxidación, descritas hasta aquí, permite a la célula oxidar ácidos grasos saturados de cadena lineal y con casi cualquier número par de carbonos. Sin embargo, la mayoría de los ácidos grasos naturales tiene enlaces dobles. La oxidación de los ácidos grasos insaturados presenta variantes respecto de la  $\beta$ -Oxidación de ácidos grasos saturados debido a la posición y la configuración de los enlaces dobles, que hacen necesaria la participación de otras enzimas, cuyas actividades se describen a continuación.

### **Enoil-CoA Isomerasa**

Cuando se degradan ácidos con enlaces dobles que se inician en carbonos nones, eventualmente se llega a formar un  $\Delta^{3c}$ -Enoil-CoA, que no es sustrato para la Enoil-CoA hidratasa, debido a la posición del doble enlace. Para que puedan continuar la  $\beta$ -Oxidación, se necesita la enzima Enoil-CoA isomerasa, que los convierte en el intermediario adecuado, el  $\Delta^{2t}$ -Enoil-CoA. La enzima cataliza la transposición y la isomerización simultánea del enlace doble 3-4 *cis* a 2-3 *trans*, pero

también puede transponer enlaces 3-4 *trans*, por lo tanto, intervendrá en la  $\beta$ -oxidación de ácidos grasos insaturados, cada vez que se encuentre un enlace doble en carbonos nones. La reacción está casi en equilibrio, pero en condiciones de alta demanda energética, el producto se elimina rápidamente evitando así que sea reversible.

### **2,4-Dienoil-CoA Reductasa**

Los ácidos grasos con enlaces dobles que se inician en carbono par, por acción de Acil-CoA Deshidrogenasa llegan a formar un ácido dienoico, el  $\Delta^{2t},4c$ -Dienoil-CoA. En los mamíferos, antes de que se hidrate, el  $\Delta^{2t},4c$ -Dienoil-CoA es sustrato de la 2,4-Dienoil-CoA reductasa, enzima dependiente de NADPH, que lo convierte en  $\Delta^{3c}$ -Enoil-CoA.

### **3-Hidroxiacil-CoA Epimerasa o Racemasa**

En microorganismos, la oxidación de los ácidos con enlaces dobles que se inician en carbono par, procede hasta formar un  $\Delta^{2c}$ -Enoil-CoA, que al ser hidratado forma D(-)-3-Hidroxiacil-CoA, que no es sustrato de la Hidroxiacil-CoA Deshidrogenasa, lo cual detendría la  $\beta$ -oxidación. La Hidroxiacil-CoA Epimerasa, convierte el isómero D a la forma L.

La actividad de esta enzima se encuentra en los peroxisomas de las células eucarióticas, incluidos los seres humanos. También en algunos microorganismos, se facilita la oxidación de ácidos grasos insaturados, reduciéndolos a saturados. Es interesante recordar aquí que la Enoil-CoA Hidratasa (Crotonasa), tiene actividad de Isomerasa *cis*trans y racemasa D-L. Con las enzimas estudiadas hasta aquí, es posible oxidar casi la totalidad de los ácidos grasos naturales. Sin embargo, una pequeña fracción de ácidos grasos, sobre todo de origen microbiano, tiene estructuras que no se pueden degradar totalmente por  $\beta$ -oxidación y su metabolismo requiere de rutas metabólicas adicionales.

## **$\beta$ -OXIDACIÓN PEROXISOMAL DE ÁCIDOS GRASOS DE CADENA MUY LARGAS**

En los peroxisomas de células eucarióticas existe una vía análoga a la  $\beta$ -oxidación mitocondrial, que generalmente se usa para degradar parcialmente los ácidos grasos con cadenas de más de 20 carbonos, no está claro por qué se requiere de esta vía pero existe una enfermedad genética, sumamente rara, el síndrome de Zellweger, en el cual se presentan defectos en la formación de peroxisomas, que se caracteriza por la acumulación de ácidos grasos de cadena muy larga como cerótico (C26) montánico (C28) y derivados monoinsaturados, principalmente en hígado y cerebro. Algunos de los síntomas incluyen ataxia cerebelar, neuropatía crónica y retinitis pigmentosa. La  $\beta$ -oxidación peroxisomal, lo mismo que la mitocondrial, produce acetil-CoA y coenzimas reducidas. La mayor diferencia está en la Acil-CoA Oxidasa, que cataliza la primera oxidación en el peroxisoma.

### **Acil-CoA Oxidasa**

Esta enzima cataliza la oxidación del Acil-CoA, dependiente de FAD, pero en lugar de que los electrones pasen a la CoQ como en la mitocondria, la enzima re-oxida el  $\text{FADH}_2$  pasando los equivalentes reductores al  $\text{O}_2$  para formar peróxido de hidrógeno. De esta forma, el  $\text{FADH}_2$  producido en el peroxisoma no se usa para producir energía.

El resto de la vía procede en la misma forma que en la mitocondria. La Acetil-CoA formada sale del peroxisoma y puede usarse en el citoplasma para sintetizar ácidos grasos o entrar a la mitocondria para oxidarse en el ciclo de Krebs. La  $\beta$ -Oxidación peroxisomal se detiene cuando los ácidos grasos tienen entre 12 y 16 átomos de carbono y entonces pueden pasar a la mitocondria para continuar la  $\beta$ -oxidación hasta su degradación completa.

### **Metabolismo de Ácidos Grasos con Número Non de átomos de Carbono o con Ramificación en Carbono Par**

Un ácido graso de cadena lineal pero con número non de átomos de carbono, en la última reacción de tiolisis de la  $\beta$ -Oxidación, produce una molécula de acetil-CoA ( $C_2$ ) y una de propionil-CoA ( $C_3$ ), en lugar de dos moléculas de acetil-CoA. Los ácidos ramificados con un metilo ( $CH_3$ -) en carbono par, al degradarse en la  $\beta$ -Oxidación, también producen propionil-CoA. El metabolismo de propionil-CoA es compartido por estos ácidos grasos, los aminoácidos ramificados y la timina. Las células del hígado parecen ser las mejor adaptadas, si no es que las únicas capacitadas para metabolizar, este compuesto.

### **$\alpha$ -OXIDACIÓN DE ÁCIDOS GRASOS**

La  $\alpha$ -oxidación de ácidos grasos la llevan a cabo un conjunto de enzimas de los peroxisomas que actúan sobre ácidos grasos libres en el citoplasma y los peroxisomas, por lo tanto, para ser oxidados por esta vía, los ácidos grasos deben salir de la mitocondria para lo cual se usa el sistema de la carnitina acil transferasas.

### **$\alpha$ -HIDROXILASA O FITANOIL $\alpha$ -HIDROXILASA O FITANOIL DIOXIGENASA**

Es una oxidasa mixta, utiliza  $O_2$  para oxidar simultáneamente el carbono 2 del ácido graso metilado y del  $\alpha$ -cetoglutarato, que se descarboxila, formando succinato. La carencia de esta enzima provoca la Enfermedad de Refsum, por acumulación de ácido fitánico, proveniente de los vegetales, que no se puede degradar por ninguna otra vía (Figura 8).

### **$\Omega$ -OXIDACIÓN**

Depende de enzimas Oxidasas de función mixta del retículo endoplásmico liso, que en varios pasos sucesivos oxidan el carbono  $\omega$  hasta carboxilo, produciendo ácidos dicarboxílicos, que, si no se pueden metabolizar, se eliminan en orina. La presencia en orina de

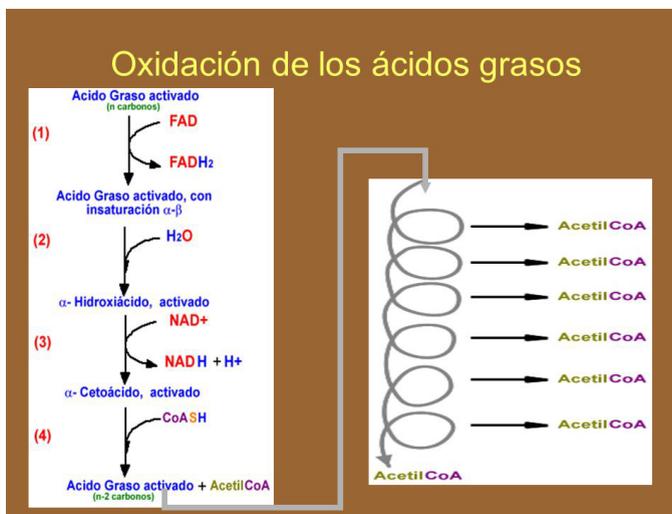


Figura 8.- Oxidación de los ácidos grasos

ácidos dicarboxílicos en exceso, puede ser una indicación de desórdenes en la oxidación normal de ácidos grasos.

## SÍNTESIS DE CUERPOS CETÓNICOS O CETOGÉNESIS

La Acetil-CoA que se forma en la degradación de ácidos grasos, no siempre se usa para producir energía. En condiciones de ayuno, el Hígado utiliza la Acetil-CoA para sintetizar cuerpos cetónicos, que son fuentes de energía para otros tejidos. Se conocen como cuerpos cetónicos al acetoacetato, el 3-hidroxiubutirato y la acetona.

## ACTIVACIÓN DE CUERPOS CETÓNICOS

La mayoría de los tejidos pueden utilizar el acetoacetato como fuente de energía; incluso el cerebro puede satisfacer hasta un 15% de sus requerimientos de energía mediante cuerpos cetónicos. El hígado no utiliza los cuerpos cetónicos porque carece de la enzima necesaria para su activación. Si a los tejidos periféricos los cuerpos cetónicos llegan como D-hidroxiubutirato, primero lo deben oxidar a acetoacetato, por la D-hidroxiubutirato Deshidrogenasa de la matriz

mitocondrial descrita antes, produciendo un NADH+H que se puede usar como fuente de energía. En cambio, si llega acetoacetato, este no necesita oxidarse y no produce ninguna coenzima reducida.

## SÍNTESIS DE ÁCIDOS GRASOS

Cuando las condiciones fisiológicas no permiten su oxidación y el organismo no requiere el aporte de energía de los cuerpos cetónicos, la acetil-CoA se almacena en forma de ácidos grasos. Para sintetizar ácidos grasos se puede usar Acetil-CoA proveniente de oxidación de ácidos grasos o del metabolismo de glúcidos y aminoácidos. Los átomos de carbono para la síntesis de ácidos grasos no pueden salir de la mitocondria en forma de Acetil-CoA, porque la membrana mitocondrial interna es impermeable a la CoA-SH. Para sortear esta inconveniente primero, la Acetil-CoA debe condensarse con oxalacetato para formar ácido cítrico, mediante la actividad de citrato sintasa. Cuando el nivel de energía es elevado, como cuando se pueden sintetizar los ácidos grasos, el ciclo de Krebs se inhibe y el citrato formado se acumula en la matriz mitocondrial y puede salir, intercambiándose con piruvato. Invirtiendo la reacción de la citrato sintasa, en el citoplasma se rompe el citrato, regenerando la acetil-CoA. Los productos del rompimiento, también sirven como fuente de equivalentes reductores, mediante la secuencia de reacciones que se resume y se describe en la figura 9.

## INSATURACIÓN DE ÁCIDOS GRASOS

Para la síntesis de ácidos grasos insaturados, se usa un sistema microsomal de transporte de electrones que depende de NADPH y  $O_2$ . El sistema de insaturación de mamíferos sólo introduce dobles enlaces cis entre los carbonos 9-10; el de vegetales los introduce en varias posiciones.

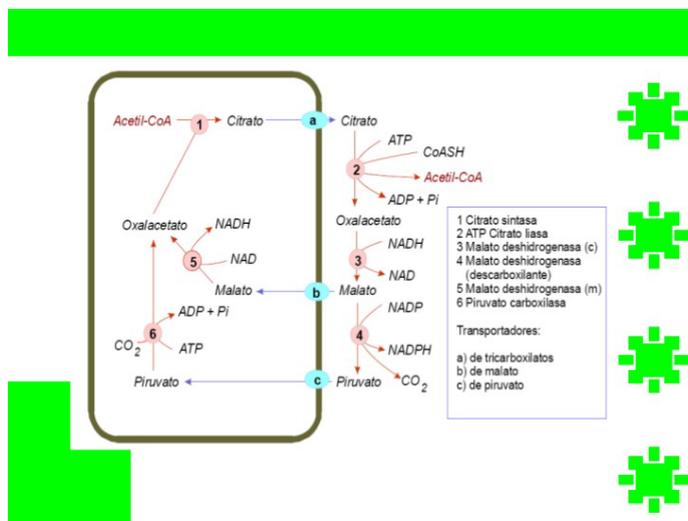


Figura 9.- Síntesis de ácidos Grasos

## Síntesis de Colesterol

El último destino de la acetil-CoA que estudiamos en este curso, es la síntesis de Colesterol. Este es un proceso complejo que se lleva a cabo en tres etapas que se ubican en tres compartimentos celulares diferentes.

- 1. Síntesis de Ácido Mevalónico.** Al inicio, sigue la misma vía que estudiamos para la cetogénesis hasta HMG-CoA, pero a partir de ahí la ruta es diferente.
- 2. Síntesis de Escualeno.** Se efectúa en el citoplasma y consiste en la polimerización de Isoprenoides, derivados del Mevalonato.
- 3. Síntesis de Colesterol.** Inicialmente, las actividades de la escualeno monooxigenasa y epoxiesqualeno ciclasa, se aislaron juntas y se consideraban como una enzima que se denominaba la escualeno oxici-clasa, nombre que aún aparece en algunos textos. los pasos finales que convierten el lanolesterol en colesterol, incluyen insaturaciones, reducciones y descarboxilaciones que se efectúan todas en el retículo endoplásmico.

# Colesterol

- ◆ 1. Síntesis de Mevalonato
- ◆ 2. Conversión de unidades isoprenoides activadas
- ◆ 3. Formación del escualeno

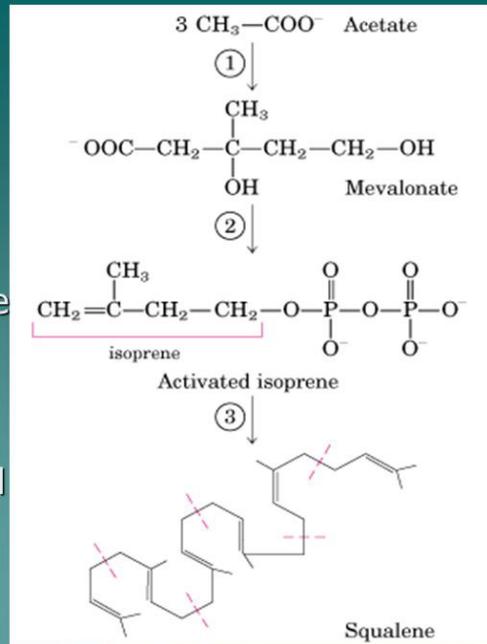


Figura 10. Síntesis de Colesterol

## LIPOPROTEÍNAS

Los lípidos exógenos y endógenos deben ser transportados a los diferentes tejidos u órganos, ya sea para almacenarlos, utilizarlos como fuente de energía o convertirlos en productos especializados (ácidos biliares, hormonas esteroideas, etc.), pero debido a que son insolubles en agua su transporte por el plasma resulta dificultoso ya que éste es un medio acuoso. Las lipoproteínas son macromoléculas cuya función es empaquetar los lípidos insolubles en el medio acuoso del plasma y transportarlos desde el intestino y el hígado a los tejidos periféricos y, desde éstos, devolver el colesterol al hígado para su eliminación del organismo en forma de ácidos biliares fundamentalmente.

## DEFINICIÓN Y CARACTERÍSTICAS DE LAS LIPOPROTEÍNAS PLASMÁTICAS

Las lipoproteínas plasmáticas constituyen un sistema polidisperso y heterogéneo de partículas de morfología casi esférica, que tienen un núcleo o core hidrófobo formado por lípidos no polares, es decir, colesterol esterificado y triglicéridos (TG), y por una capa superficial hidrófila que contiene colesterol no esterificado, fosfolípidos (FL) y unas proteínas específicas denominadas apoproteínas (Apo). Las Apo no solamente cumplen un papel estructural en las partículas lipoproteicas, además intervienen en el metabolismo de las mismas, en el que ejercen distintas funciones, actuando como activadoras e inhibidoras de enzimas e interaccionan con receptores celulares específicos. Actualmente son conocidas las Apo: A, B, C, D, E, F y G. Algunas de estas presentan isoformas (que se indican con números romanos) y se diferencian por su contenido glucídico. También podemos mencionar que la ApoB48 presente en los quilomicrones (Q) que se sintetizan en el intestino, representa el 48% del ARN mensajero de la Apo-B presente en las VLDL, IDL y LDL conocida como Apo-B100. Esto se produce por un mecanismo postranscripcional de corte y empalme. Las partículas lipoproteicas se diferencian entre sí por la distinta proporción de colesterol, TAG y FL que contienen, así como por las distintas apoproteínas integradas en su estructura. La nomenclatura de las diferentes lipoproteínas presentes en el plasma humano se basa en el hecho de que estas están encuadradas dentro de rangos de densidades. Cada clase posee determinada movilidad electroforética, lo que ha permitido clasificarlas de acuerdo a su posición en el soporte. Aunque el espectro de las lipoproteínas plasmáticas es amplio, en la actualidad, las lipoproteínas plasmáticas se clasifican en:

- Quilomicrones (Q): que sólo se encuentran en el plasma normal después de una comida grasa.
- Lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL, del inglés very low density lipoproteins).

- Lipoproteínas de densidad intermedia (IDL, intermediate density lipoproteins).
- Lipoproteínas de baja densidad (LDL, low density lipoproteins).
- Lipoproteína (a) o Lp(a) o “sinking pre-beta”
- Lipoproteínas de alta densidad (HDL, high density lipoproteins).

Para comprender los mecanismos metabólicos de las lipoproteínas debemos tener en claro algunos conceptos. En general los receptores se hallan localizados en la membrana celular a los cuales se unen efectores que desencadenan una secuencia de reacciones enzimáticas intracelulares. Las lipoproteínas se unen a receptores, como consecuencia de esta unión las partículas se internalizan en la célula y dentro de ella se degradan. Existen receptores que se unen a las lipoproteínas enteras o parcialmente degradadas, en los hepatocitos y en células de tejidos extrahepáticos, habiendo sido estudiados en fibroblastos, monocitos y células musculares lisas. Las lipasas son enzimas que actúan en el metabolismo lipídico, estas hidrolizan los TG liberando de ellos sus constituyentes: AG y glicerol. La lipoprotein-lipasa-1 (LPL1) ejerce su efecto sobre las lipoproteínas ricas en TG (Q y VLDL) no degradados, está unida por cadenas de glicosaminoglicanos al endotelio vascular. Es necesaria para su actividad la Apo-CII, la heparina y la insulina que conforman la “triada de activación”. Esta enzima libera ácidos grasos (AGs) de los carbonos 1 y 3 de los TG y monoacilgliceridos.

Se encuentra en varios tejidos como el adiposo, pulmonar, cardiaco, intestinal, renal, muscular y glándula mamaria en lactancia. Una lipólisis completa y eficaz es necesaria para que se exprese la Apo-E en la superficie de los remanentes de las proteínas ricas en TAG (PRTG), lo que permite a éstos ser reconocidos por los receptores hepáticos específicos responsables de su depuración plasmática. La lipoprotein-lipasa-2 (LPL2) o Lipasa Hepática (LH) actúa sobre lipoproteínas parcialmente degradadas (remanentes), sobre sus TG. No es estimulada por la Apo-CII e insulina, si lo es por heparina. En ocasiones tiene acción inespecífica de fosfolipasa. La enzima es producida por las células endoteliales de los sinusoides hepáticos.

La enzima lecitin colesterol acil transferasa (LCAT), de origen hepático, esterifica el colesterol libre. Su cofactor es la Apo-AI. La esterificación tiene lugar dentro de las HDL en complejos esterificantes, formados por colesterol libre, lecitina, Apo-AI y Apo-D. El colesterol esterificado formado por esta enzima pasa al centro de la molécula o es transferido a otras lipoproteínas.

## **SÍNTESIS Y DEGRADACIÓN DE QUILOMICRONES**

En el individuo sano, una perfecta sincronización metabólica permite mantener un nivel adecuado de lipoproteínas en el plasma a pesar de ingestas lipídicas tan variables que pueden ir desde 20gr/día (regímenes vegetarianos) a 100gr/día (dieta occidental) y a pesar de intervalos interingestas, también muy variables. Esta sincronización depende fundamentalmente de la correcta síntesis, secreción y acción lipolítica de la LPL, que se encuentra bajo control hormonal y que en períodos postprandial es sobre todo estimulada por la insulina. La mayor parte de las grasas que ingerimos en la dieta se hallan en forma de TG. En la luz intestinal son emulsionados por las sales biliares e hidrolizados por la lipasa pancreática a AG y MAG, los que ingresan al interior del enterocito.

Los AG de cadena corta, de hasta 12 carbonos pasan directamente a la circulación portal uniéndose a la albúmina, es decir que su transporte es independiente del metabolismo lipoproteico. Los AG de cadena larga son reesterificados con el glicerol formándose TAG, proceso que tiene lugar en el retículo endoplásmico liso (REL). Simultáneamente en el retículo endoplásmico rugoso (RER) del enterocito se están sintetizando proteínas, como la Apo-B48 y las Apo-A las que serán incorporados al precursor lipoproteico en el REL, formándose una lipoproteína llamada quilomión (Q), que luego atraviesa el aparato de Golgi donde se le agregan más lípidos y también carbohidratos, formando vesículas que son secretadas fuera de la célula en forma de Quilomión naciente (Qn) (que tiene un tamaño 5 veces mayor a las VLDL y 10 veces mayor a las LDL). El Qn es transportado por el conducto torácico al torrente sanguíneo y distribuyéndose en

toda la economía. Ya en la circulación general el Qn va “madurando” por el aporte de Apo-C (principalmente CII) y de Apo-E provenientes de las HDL, convirtiéndose en Q maduro (Qm).

Los TG localizados en el núcleo de los Qm circulantes serán hidrolizados por la LPL1 que se localiza en las paredes del endotelio capilar unida por cadenas de heparánulfato. Para que esto suceda es necesaria la presencia de heparina que libera a la LPL1 de su anclaje al endotelio dejándola libre, para que pueda unirse luego al Qm a través de la Apo-CII que actúa como cofactor de la misma; finalmente la insulina entra en acción estimulando a la enzima. Por la hidrólisis de los TG se liberan AGs y Glicerol. Los AGs pueden tener 2 destinos:

1. Ser captados por los tejidos: para almacenarse o utilizarse como fuente de energía.
2. Recircular unidos a la albúmina. Como resultado de esta lipólisis los Qm disminuyen de tamaño, aumentando la proporción relativa de colesterol, produciéndose un intercambio intraplasmático de lípidos neutros, pero de mínima cuantía mediado por la proteína de transferencia de colesterol esterificado (CETP) y la proteína de transferencia de fosfolípidos (PLTP). La CETP lleva moléculas de TG de las partículas ricas en TG (PRTG), en este caso de la Q (las otras PRTG son VLDL e IDL) hacia las HDL (ricas en colesterol) y trayéndoles a cambio una molécula de colesterol esterificado. Por otro lado, se realiza transferencia de fosfolípidos por medio de la acción de PLTP desde el Q a las HDL. Además, el Q pierde Apo-C que regresa así a las HDL, formándose los Q remanentes (Qr). Este proceso tiene por objeto enriquecer levemente las HDL en TG permitiendo que por la acción de LPL2 se produzca un remodelado de las HDL. Estos Qr ricos ahora en ésteres de colesterol tienen Apo-B48 y Apo-E, siendo esta última ligando de un receptor específico localizado en la membrana de los hepatocitos que al unirse el Qr, éste es endocitado, produciéndose su depuración. Una vez dentro de la célula hepática el Qr es fagocitado por los lisosomas y por acción de sus enzimas sus componentes son disociados, los que pueden reutilizarse para:
  - Los aminoácidos para la formación de nuevas apoproteínas.

- El colesterol esterificado es hidrolizado dando colesterol libre que puede excretarse por la bilis o incorporarse a la estructura de nuevas lipoproteínas. Los Q intactos son el único tipo de lipoproteínas que no puede ser aterogénica ya que por su enorme tamaño no pueden infiltrar en el espacio subendotelial (sitio donde se inicia y progresa el ateroma).

## SÍNTESIS Y DEGRADACIÓN DE LAS VLDL

El hígado sintetiza continuamente TG, a partir de 2 fuentes: 1) Reesterificando los AGs tomados del plasma con glicerol. 2) A partir de Acetil-CoA provenientes principalmente de hidratos de carbono. Estos TG se secretan en forma de VLDL nacientes (VLDL<sub>n</sub>), impidiendo así la esteatosis hepática. También hoy se conoce la contribución intestinal de VLDL. Esta lipoproteína está constituida por la fracción Apo-B100, Apo-C y Apo-E. Las moléculas apoproteicas son sintetizadas por los ribosomas del RER de la célula. Mientras que en el REL se realiza el ensamble con los lípidos, incorporándose también fragmentos de membrana del retículo aportando fosfolípidos y colesterol a la estructura. Estas partículas son secretadas a la circulación luego de pasar por el aparato de Golgi.

En el plasma esta lipoproteína recibe más Apo-C (en especial Apo-CII) cedida por las HDL, aquellas entonces se convierten en VLDL maduras y de esta forma es un buen sustrato para interactuar con la LPL1 en la superficie del endotelio capilar. Esta enzima hidroliza los TAG (en presencia de la tríada de activación) produciendo los remanentes de VLDL (VLDL<sub>r</sub>) que se dirigen al hígado para su catabolismo. Como en el caso de los Q, a medida que va actuando la enzima se pierden algunos lípidos y apoproteínas que son transferidos a las HDL por medio de las CETP y PLTP. Al igual que en el metabolismo de los Q<sub>r</sub>, las VLDL<sub>r</sub> conservan la Apo-E. Las VLDL<sub>r</sub> pueden proseguir por 2 caminos:

1. Ser endocitados por las células hepáticas tras unirse a los receptores específicos por medio de la Apo-E, con la posterior degradación de sus componentes.

2. Permanecer en el plasma continuándose su catabolismo por acciones sucesivas de las LPL1, perdiendo más TG y todo su contenido de Apo-C, dando como resultado a las IDL.

## **SÍNTESIS Y DEGRADACIÓN DE LAS IDL**

Estas lipoproteínas se forman en el plasma por acción de la LPL1 sobre las VLDL como se explicó anteriormente, cuando se llega a perder toda la Apo-C. Sobre estas IDL actúa la LPL2 sobre el resto de los TG y también sobre algunos FL. La LPL2 o LH no precisa de Apo-CII como cofactor. El resultado de esta reacción enzimática es la formación de la LDL o  $\beta$ -lipoproteína, de menor tamaño que la VLDL, con alto contenido en colesterol y bajo en TG, y con un contenido apoproteico casi exclusivo en Apo-B100. Mientras la VLDL se cataboliza en pocas horas la LDL lo hace lentamente a lo largo de 1 o 2 días.

## **SÍNTESIS Y DEGRADACIÓN DE LDL**

La LDL se forma en el plasma como producto de la degradación de la VLDL por la acción de las LPL. A lo largo de este camino se producen muchas lipoproteínas de composición, tamaño y densidad intermedias, identificándose la IDL. Esta lipoproteína carece ya de Apo-C, por lo tanto, sobre ella va actuar la LPL2, cuya acción es independiente del cofactor Apo-CII. En estado post-prandial aumenta progresivamente la concentración de IDL en el plasma después de un ayuno de 12 a 14 horas. Una vez constituida la LDL, ésta se encarga de acarrear el colesterol a los tejidos periféricos donde es requerido, para ello es reconocida por diversas células del organismo por medio de receptores específicos que permiten regular el equilibrio intracelular del colesterol. Los estudios realizados por Goldstein y Brown en cultivos de fibroblastos humanos, nos permitieron conocer la degradación de la LDL y explicar el defecto de la hipercolesterolemia familiar. Estos investigadores comprobaron que el catabolismo de la LDL es mediado por receptores de membrana sensibles a la Apo-B. Estos receptores extrahepáticos se ligan a la LDL por intermedio de

las Apo-B pero también son aptos para unirse a la Apo-E; es por eso que se los denomina receptores B/E (receptores duales). Una prueba de ello es la capacidad de unión a estos receptores de la fracción de HDL rica en Apo-E.

Después de unirse al receptor, la LDL es internalizada, incorporándose a la célula por endocitosis. La vesícula endocítica es atacada por las enzimas hidrolíticas de los lisosomas. El componente proteico es degradado a aminoácidos y los ésteres de colesterol son hidrolizados por una lipasa ácida, la colesterol ester hidrolasa que actúa a pH 4, generando colesterol libre. Este colesterol libre es utilizado para la síntesis de membranas celulares, pero principalmente tiene tres funciones reguladoras: 1) Inhibe la enzima 3-hidroxi-3metil-glutaril-CoA-reductasa, que es la enzima clave en la síntesis del colesterol. 2) Activa a la enzima acil-CoA-aciltransferasa (ACAT) que reesterifica el colesterol para su almacenamiento en forma de ésteres de colesterol. 3) Inhibe la síntesis de más receptores para la LDL, frenando así la toma de más LDL.

## LIPOPROTEÍNAS

✓Cumplen función transportadora de lípidos (colesterol) desde el intestino hasta su lugar de destino, mediante su emulsión por los ácidos biliares.

Existen diversos tipos de lipoproteínas relacionadas con el transporte de lípidos:

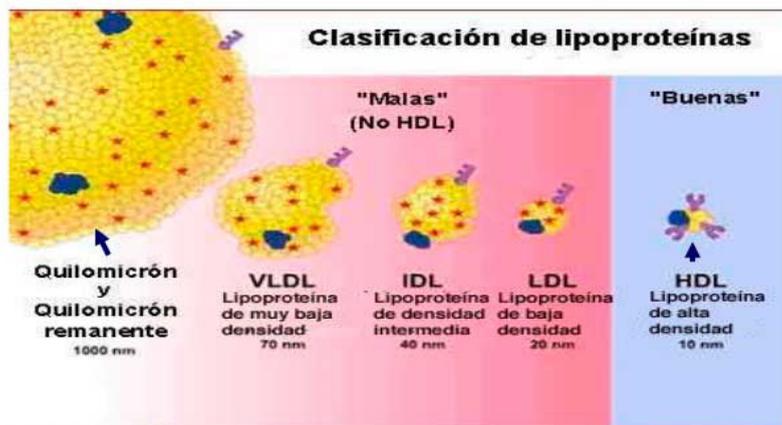


Figura 11. Lipoproteínas y su clasificación

Estas acciones reguladoras previenen la sobrecarga de colesterol en las células. Para ser liberado de la célula el colesterol esterificado es hidrolizado por una colesterol éster hidrolasa que actúa a pH 7. El hallazgo de procesos de degradación de la LDL, dependiente de receptores, fue la base para el estudio de la degradación de esta lipoproteína en la hipercolesterolemia familiar. Los cultivos de células provenientes de pacientes heterocigotos, demostraron tener la mitad del número de receptores normales, en cambio en las células de sujetos homocigotas no se detectaba ninguna actividad de receptores para la LDL. Los elevados niveles de LDL en estos casos llevan a una aterosclerosis precoz. En los últimos años cobró mucha importancia el camino “scavenger” o vía alternativa de degradación de LDL, por la cual la lipoproteína es tomada por los macrófagos por medio de receptores diferentes; no específicos B/E. Estos macrófagos toman la LDL, la digieren y aproximadamente la mitad del colesterol que contenían queda depositado en el espacio citoplasmático apreciándose en el microscopio electrónico como células espumosas. Este camino constituye el 15 % de la degradación de las LDL, siendo la vía predominante en el caso de la hipercolesterolemia familiar homocigota.

## SÍNTESIS Y DEGRADACIÓN DE LA HDL

Son sintetizadas y secretadas por el hígado y en una menor proporción por el intestino. La fracción de HDL representa un grupo heterogéneo de partículas, constituidas por las HDL<sub>2</sub> que son las de mayor tamaño y HDL<sub>3</sub> que son más pequeñas. También se conoce otra subfracción: la HDL<sub>1</sub> o HDLc o Apo-E HDLc, que por su tamaño y densidad es similar a la subfracción HDL<sub>2</sub> difiriendo con esta solo en la afinidad por los receptores de la LDL, debido a que las partículas de HDL carecen de Apo-E. La HDLc se encuentra tanto en animales con alto contenido en colesterol y grasas saturadas. Las HDL tienen como función:

1. Constituir el reservorio de Apo-C y Apo-E, necesarias en el metabolismo de las PRTG.

2. Transportar el colesterol de los tejidos periféricos al hígado, esto se conoce como “Transporte Reverso de Colesterol”. Estas lipoproteínas son secretadas en forma de HDL nacientes (HDLn) que son partículas discoidales compuestas por una bicapa de fosfolípidos y colesterol libre rodeada de Apo-A (en especial de AI), Apo-E y Apo-C. Cabe aclarar que las HDLn de origen intestinal no contienen Apo-C y Apo-E. La Apo-C es sintetizada en el hígado y transferida a las HDL intestinales cuando éstas entran al plasma.

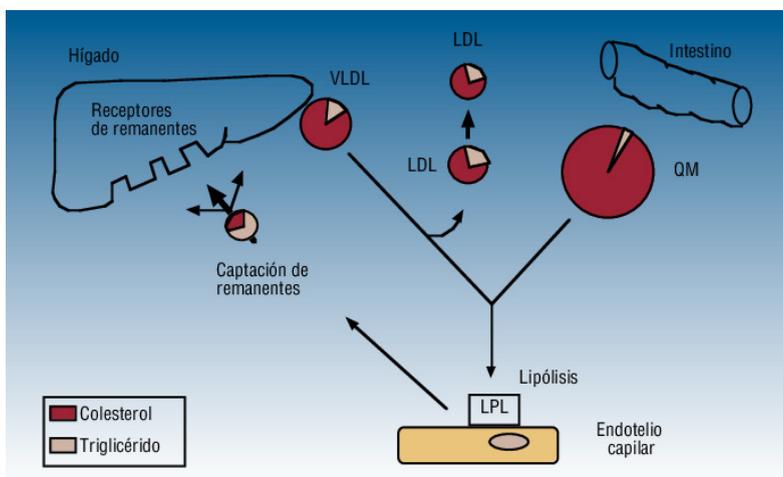


Figura 12. Metabolismo de las lipoproteínas

Una vez en el plasma, sobre las HDLn actúa la LCAT. Esta enzima para poder actuar, se incorpora a una fracción de las HDL y en presencia de Apo-AI como cofactor, esterifica el colesterol libre de la superficie de la lipoproteína y el proveniente de las células de los tejidos. Este colesterol esterificado se ubica en el centro de la partícula convirtiendo su forma discoidal o naciente en esférica o madura representado por las HDL2 (más grandes, menos densas y ricas en colesterol esterificado). El colesterol recién esterificado es distribuido hacia las PRTG y recibiendo a cambio TG, todo esto es mediado por la CETP, este proceso tiene por objeto enriquecer levemente a las HDL en TG permitiendo así la acción de la LH (que ataca los TG del interior de las HDL) se produce el remodelado de las HDL; las HDL2 se transforman en HDL3.

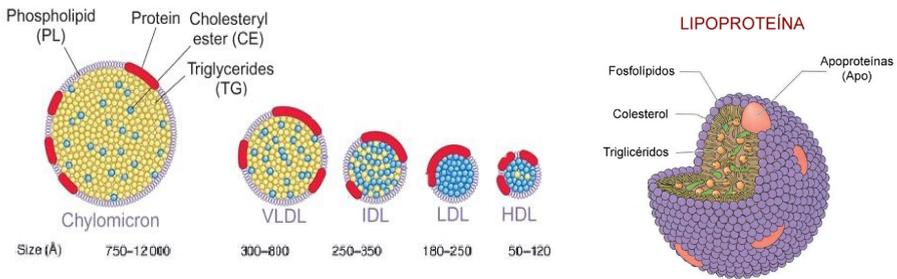


Figura 13. Composición de las lipoproteínas

Las HDL<sub>3</sub>, por su tamaño más pequeño, son más aptas para atravesar la pared de los capilares sanguíneos y recaptar el colesterol excedente desde los tejidos periféricos que nuevamente por acción de la LCAT se forma colesterol esterificado que se localizará en el centro de la partícula y formándose nuevamente la HDL<sub>2</sub>. De este proceso dinámico resulta un continuo intercambio de colesterol, desde las HDL a las PRTG, promoviendo el desplazamiento de ese colesterol al hígado para que pueda hidrolizarse y excretarse como ácidos biliares o incorporarse a otras lipoproteínas hepáticas. De esto se deduce el rol antiaterogénico de las HDL. Por último, no puede dejar de mencionar otra fracción de HDL solo contiene Apo-E o HDLc. Se origina inducida por dietas ricas en colesterol. Esta HDLc tiene como función redistribuir el colesterol a los tejidos periféricos que posean receptores B/E o llevar el colesterol directamente al hígado para su excreción.

## LIPOPROTEÍNA A O LP(A)

La Lp(a) fue identificada como una variante genética de las lipoproteínas de baja densidad (LDL). Mientras ambas lipoproteínas contienen Apo-B100. La Lp(a) presenta además una apoproteína de muy variado peso molecular denominada (a) [a pequeña], unida por un puente disulfuro a la apoB100 y cuya estructura incluye una serie de repeticiones de un fragmento proteico denominado kringle. La Apo-(a) es una glicoproteína y el gen que da origen a la misma está

en el brazo largo del cromosoma 6. La Lp(a) pese a tener Apo-B100 no es captada por los receptores específicos para LDL. La independencia metabólica de la LDL y la Lp(a) se pone de manifiesto en que los inhibidores de la enzima clave de la biosíntesis del colesterol la 3 hidroxil-3metil-glutaril-CoA-reductasa disminuye la concentración de LDL pero no actúa a nivel de la Lp(a). La Lp(a) tendría actividad aterogénica y trombogénica por su particular estructura similar a la LDL y por la glucoproteína de la familia del fibrinógeno. La Lp(a) al no ser captada por los receptores de LDL son metabolizados por los macrófagos es decir por la vía “scavenger” y se transforma en células espumosas, camino que lleva a la placa de ateroma. Otra posibilidad es que la Lp(a) atraviese el endotelio de los capilares concentrándose en la capa íntima, para formar complejos con algunos componentes de la matriz como proteoglicanos, glucasaminoglicanos, colágeno y también con la fibrina contribuyendo a la formación de la placa de ateroma.

Valores séricos normales o de referencia:

- Colesterol: < 200 mg/dl o 200 mg %
- Triglicéridos: < 150 mg%
- HDL: > 45 mg%
- LDL: < 100 mg%

El valor umbral de riesgo de Lp(a) ha sido establecido en 30 mg/dl sobre la base de la mayoría de los estudios de caso control. Los niveles de Lp(a) también están incrementados en condiciones clínicas típicamente asociadas con un aumento del riesgo aterosclerótico tales como la diabetes del adulto no insulino-dependiente e insuficiencia renal crónica. Los estudios metabólicos sugieren que los niveles de Lp(a) son predominantemente gobernados por su tasa de síntesis y secreción por el hígado, y que el tejido renal juega un papel importante en su catabolismo.

La alteración del transporte de lípidos en las lipoproteínas plasmáticas desempeña un papel importante y fundamental en el desarrollo de ciertas lesiones ateroscleróticas que representan la princi-

pal causa de mortalidad en los países occidentales. Con dietas ricas en grasas y colesterol las lesiones ateroscleróticas de la íntima de las arterias están representadas por células de músculo liso en proliferación y elementos del tejido conectivo como, colágeno, elastina y glucosaminoglicanos. Los esteroides de colesterol están depositados en las células espumosas junto con los elementos del tejido conectivo. La capa íntima arterial no contiene normalmente capilares sanguíneos por lo que las células capilares de la arteria constituyen la barrera para el ingreso de las lipoproteínas sanguíneas. Para que las lipoproteínas sean captadas es necesario la destrucción del endotelio y hay determinados factores tales como la hipertensión arterial, el tabaco y la hiperlipidemia que contribuyen a producir la lesión endotelial. Tales lesiones producen la adherencia de las plaquetas, a lo que sigue la agregación de las mismas y la liberación de gránulos plaquetarios, algunos de los cuales contienen factores que favorecen la proliferación de las células musculares lisas de la íntima. Las células musculares lisas estimuladas también sintetizan y secretan los elementos de tejido conectivo que se acumulan en la lesión. En la íntima, los macrófagos captan por endocitosis fundamentalmente a las LDL, favoreciendo la acumulación extracelular de colesterol. Resumiendo, los tres pasos principales de la formación de una placa en la pared del vaso son los siguientes:

1. Migración y proliferación de células musculares lisas.
2. Síntesis de nuevos elementos de tejido conectivo.
3. Acumulación intra y extracelular de lipoproteínas plasmáticas y otros elementos.

El perfil aterogénico se conoce como tríada lipídica (lipid triad) y actualmente está constituida por la asociación de: hipertrigliceridemia, disminución de HDLc, LDL densas y pequeñas.

De acuerdo a esto el nuevo factor que se incorpora es el aumento de los TG plasmáticos, que ahora se lo considera un factor más en la aterogénesis. La alteración más común que sufre la LDL es la oxidación, mecanismo que ocurre por los lipoperóxidos. La oxidación se produce en la pared arterial, estas LDL modificadas atraviesan con

mayor facilidad el endotelio siendo captadas por los macrófagos. Estas LDL son las que se conocen como LDL pequeñas y densas y se caracterizan porque tienen mayor aterogenicidad. Desde el punto de vista bioquímico se encuentran depletadas de colesterol y con mayor contenido relativo de Apo-B. Para producirse la depuración plasmática de las LDL, la Apo-E debe contener el genotipo E3 para que esté completa estructuralmente, y así ser reconocida por los receptores. Si tenemos expresado la homocigosis E2/E2, una forma alélica mal reconocida de las Apo-E por los receptores B/E, se va a producir una menor depuración plasmática de las LDL con la consiguiente predisposición a la aterogénesis.

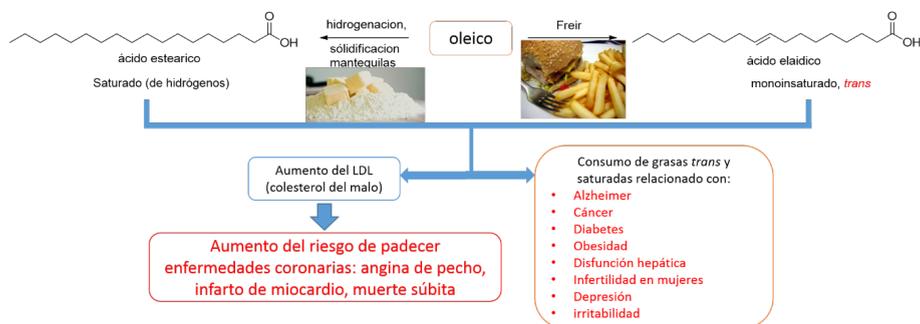


Figura 14. Riesgo cardiovascular por los lípidos

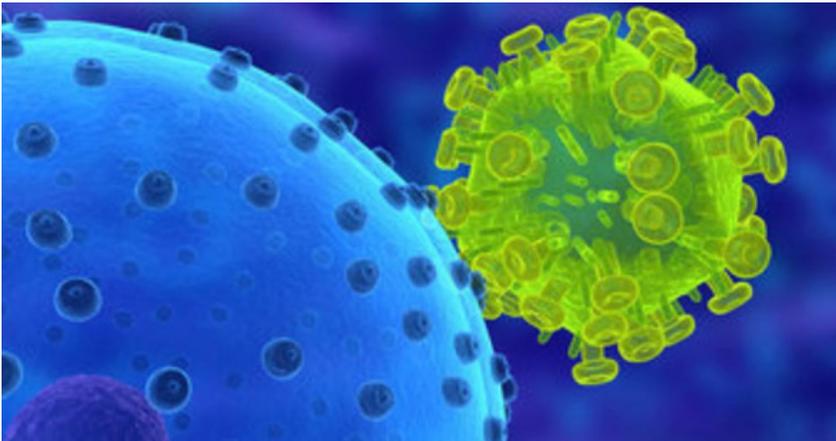
## BIBLIOGRAFÍA DE LOS CAPÍTULOS I Y II

- Velázquez Monroy M, Ordorica Vargas MA. Metabolismo de Lípidos. 2009. Pp 1-25. Disponible en: <http://www.bioquimica.dogsleep.net/Teoria/archivos/Unidad72.pdf>.
- Scherier L. Puestas al día de diagnóstico y tratamiento. Revista FUEDIN. 2002.
- Brandan N, Barrios B, Escalante Marassi A, Ruíz Dfáz D. Cátedra de Bioquímica. Facultad de Medicina. UNNE. Universidad Nacional del Nordeste. 2006. Pp 1-8. Disponible en: <https://med.unne.edu.ar/sitio/multi-media/imagenes/ckfinder/files/files/Carrera-Medicina/BIOQUIMICA/lipoproteinas.pdf>.
- Urina M. Guías colombianas para el diagnóstico y tratamiento de la hipertensión arterial. 2007. Revista Colombiana de Cardiología. Vol 13 (1): 25-36.
- Rodríguez - Pérez A, de la Cruz M. Biomoléculas. En McGraw-Hill. Química Orgánica Vivencial. México: McGraw-Hill. 2006. p. 341. ISBN 970105833X.
- Robert K. Murray, Peter A. Mayes, Daryl K. Granner, et al. Bioquímica de Harper. Decimocuarta edición. Editorial Manual Moderno. México D.F. 1997.
- Horton R, Moran L, Ochs R, Rawn D, Scrimgeour K. Bioquímica. Gray - México, D.F: Prentice-Hall Hispanoamericana, 1995.
- Pan J, Hu C, Yu JH. Lipid Biosynthesis as an Antifungal Target. J Fungi (Basel). 2018 Apr 20; 4(2). DOI: 10.1186/s12944-019-0977-8
- Hamer M, O'Donovan G, Stamatakis E. High-Density Lipoprotein Cholesterol and Mortality: Too Much of a Good Thing? Arterioscler Thromb Vasc Biol. 2018;38(3):669-672. doi: 10.1161/ATVBAHA.117.310587.
- Navarese EP, Robinson JG, Kowalewski M, Kolodziejczak M, Andreotti F, Bliden K, Tantry U, Kubica J, Raggi P, Gurbel PA. Association Between Baseline LDL-C Level and Total and Cardiovascular Mortality After LDL-C Lowering: A Systematic Review and Meta-analysis. JAMA. 2018; 319(15):1566-1579. doi: 10.1001/jama.2018.2525.
- Ivanova EA, Myasoedova VA, Melnichenko AA, Grechko AV, Orekhov AN. Small Dense Low-Density Lipoprotein as Biomarker for Athe-

- 
- rosclerotic Diseases. *Oxid Med Cell Longev*. 2017;1273042. doi: 10.1155/2017/1273042.
- Madsen CM, Varbo A, Nordestgaard BG. Extreme high high-density lipoprotein cholesterol is paradoxically associated with high mortality in men and women: two prospective cohort studies. *Eur Heart J*. 2017 Aug 21;38(32):2478-2486. doi: 10.1093/eurheartj/ehx163.
- Diffenderfer MR, Schaefer EJ. The composition and metabolism of large and small LDL. *Curr Opin Lipidol*. 2014;25(3):221-6. doi: 10.1097/MOL.000000000000067
- Hoogeveen RC, Gaubatz JW, Sun W, Dodge RC, Crosby JR, Jiang J, Couper D, Virani SS, Kathiresan S, Boerwinkle E, Ballantyne CM. Small dense low-density lipoprotein-cholesterol concentrations predict risk for coronary heart disease: the Atherosclerosis Risk In Communities (ARIC) study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2014;34(5):1069-77. doi: 10.1161/ATVBAHA.114.303284.



## CAPÍTULO III





# VIRUS, INFECCIÓN Y RESPUESTA INMUNITARIA

## CONSIDERACIONES GENERALES DE LOS VIRUS

Un virus es una partícula infecciosa que solo puede reproducirse cuando infecta una célula hospedera. La existencia de los virus se estableció en 1892, cuando el científico ruso Dimitri Ivanovsky, descubrió unas partículas microscópicas, conocidas más tarde como el virus del mosaico del tabaco. En 1898, el botánico holandés Martinus Beijerinck denominó virus a estas partículas infecciosas. Pocos años más tarde, se descubrieron virus que crecían en bacterias, a los que se denominó bacteriófagos. En 1935, el bioquímico estadounidense Wendell Meredith Stanley cristalizó el virus del mosaico del tabaco, demostrando que estaba compuesto sólo del material genético llamado ácido ribonucleico (ARN) y de una envoltura proteica. En la década de 1940 el desarrollo del microscopio electrónico posibilitó la visualización de los virus por primera vez. Años después, el desarrollo de centrifugas de alta velocidad permitió concentrarlos y purificarlos. El estudio de los virus animales alcanzó su culminación en la década de 1950, con el desarrollo de los métodos del cultivo de células, soporte de la replicación viral en el laboratorio. Después, se descubrieron numerosos virus, la mayoría de los cuales fueron analizados en las décadas de 1960 y 1970, con el fin de determinar sus características físicas y químicas.

Los virus infectan todos los tipos de organismos, desde animales, hongos, plantas, bacterias y arqueas. También infectan a otros virus; en ese caso reciben el nombre de virófagos. Los virus son demasiado pequeños para poder ser observados con la ayuda de un microscopio óptico, por lo que se dice que son submicroscópicos; aunque existen excepciones entre los virus nucleocitoplasmáticos

de ADN de gran tamaño, como el Megavirus chilensis, el cual se logra ver a través de microscopía óptica. Los virus “se apoderan” de la célula y utilizan sus recursos para replicarse, básicamente al reprogramarla para convertirla en una fábrica del virus. Debido a que no pueden reproducirse por sí mismos (sin un hospedero), los virus no tienen células: son muy pequeños, mucho más pequeños que las células de los seres vivos; básicamente son solo paquetes de ácido nucleico y proteínas. No obstante, los virus tienen algunas características importantes en común con la vida basada en células. Por ejemplo, tienen genomas de ácido nucleico con base en el mismo código genético que usan las células de todas las criaturas vivas. Además, igual que la vida basada en células, los virus tienen variación genética y pueden evolucionar.

## CONCEPTO AMPLIADO

Los virus son organismos dotados de extraordinaria simplicidad, pertenecen a un nivel de organización subcelular, y marcan la barrera entre lo vivo y lo inerte. No se nutren, no se relacionan, carecen de metabolismo propio y para reproducirse utilizan la maquinaria metabólica de la célula a la que parasitan. Su simplicidad estructural y funcional los convierte en parásitos intracelulares obligados, tanto de bacterias (bacteriófagos o fagos), como de las células animales y vegetales.

Las partículas víricas, llamadas también viriones, están constituidas por una molécula de ADN o ARN, nunca los dos en un mismo virus, contenida en el interior de una cápsula proteica y, en ocasiones, una envoltura membranosa. Los virus pueden considerarse como fragmentos independizados del genoma celular que han adquirido los genes necesarios para rodearse de una envoltura protectora y poseen la capacidad de desplazarse de una célula a otra; mientras que los transposones son genes que se desplazan de un sitio a otro del cromosoma de una célula, los virus representarían a otro grupo de genes similares, pero que por haber adquirido la cápsula protectora se aventuraron a dar “saltos” mayores.

## ESTRUCTURA DE LOS VIRUS

Los virus son parásitos intracelulares submicroscópicos, compuestos por ARN o por ácido desoxirribonucleico (ADN) -nunca ambos- y una capa protectora de proteína o de proteína combinada con componentes lipídicos o glúcidos. En general, el ácido nucleico es una molécula única de hélice simple o doble; sin embargo, ciertos virus tienen el material genético segmentado en dos o más partes. Los virus más pequeños y simples están constituidos únicamente por ácido nucleico y proteínas. El ácido nucleico es el genoma viral, ubicado en el interior de la partícula, asociado con un número pequeño de moléculas proteicas que pueden tener actividad enzimática o cumplir alguna función estabilizadora para el plegamiento del ácido nucleico y armado de la partícula viral. Este conjunto de genoma y proteínas íntimamente asociadas es llamado “core”, núcleo, nucleoproteína o nucleoide. Este núcleo central está rodeado por una cubierta proteica, la cápside, que junto con el genoma constituye la nucleocápside. Las cápsides virales están formadas por un gran número de subunidades polipeptídicas o capsómeros que se ensamblan adoptando una simetría de tipo helicoidal (nucleocápside en forma de bastón) o icosaédrica (partículas casi esféricas). En algunos virus más complejos, por fuera de la cápside se encuentra otra cubierta, la envoltura, que es una estructura membranosa constituida por lípidos y glicoproteínas. Dicha cubierta viral puede ser considerada una cubierta protectora adicional. La partícula viral completa se llama virión. Los virus son parásitos intracelulares obligados, es decir: sólo se replican en células con metabolismo activo, y fuera de ellas se reducen a macromoléculas inertes (Figura 15).

El tamaño y forma de los virus son muy variables. Hay dos grupos estructurales básicos: isométricos, con forma de varilla o alargados, y virus complejos, con cabeza y cola (como algunos bacteriófagos). Los virus más pequeños son icosaédricos (polígonos de 20 lados) que miden entre 18 y 20 nanómetros de ancho (1 nanómetro = 1 millonésima parte de 1 milímetro). Los de mayor tamaño son los alargados; algunos miden varios micrómetros de longitud, pero no

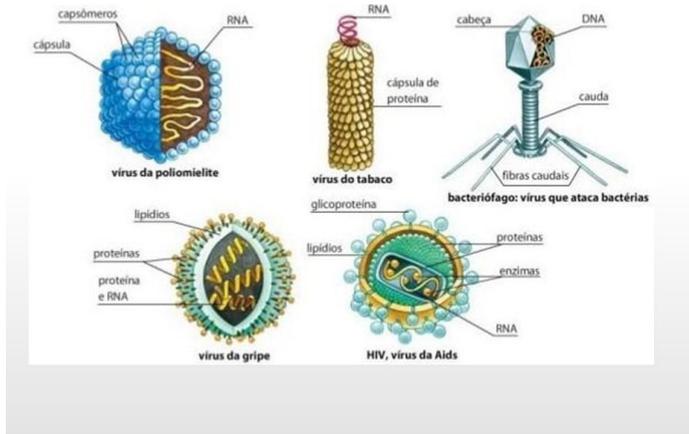


Figura 15.- Estructura y simetría de los virus

suelen medir más de 100 nanómetros de ancho. Así, los virus más largos tienen una anchura que está por debajo de los límites de resolución del microscopio óptico, utilizado para estudiar bacterias y otros microorganismos.

Muchos virus con estructura helicoidal interna presentan envueltas externas (también llamadas cubiertas) compuestas de lipoproteínas, glicoproteínas, o ambas. Estos virus se asemejan a esferas, aunque pueden presentar formas variadas, y su tamaño oscila entre 60 y más de 300 nanómetros de diámetro. Los virus complejos, como algunos bacteriófagos, tienen cabeza y una cola tubular que se une a la bacteria huésped. Los poxvirus tienen forma de ladrillo y una composición compleja de proteínas. Sin embargo, estos últimos tipos de virus son excepciones y la mayoría tienen una forma simple.

Los virus tienen algunas características en común como:

- Una cubierta protectora de proteína o cápside
- Un genoma de ácido nucleico, ADN o ARN, dentro de la cápside
- Una membrana llamada envoltura (solo en algunos virus)

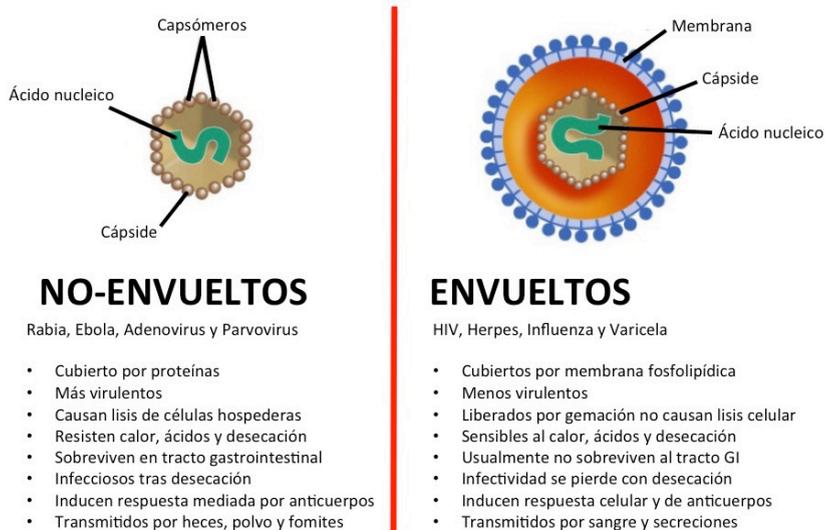


Figura 16. Estructura de los virus envueltos y no envueltos

Al carecer de las enzimas y precursores metabólicos necesarios para su propia replicación, los virus tienen que obtenerlos de la célula huésped que infectan. La replicación viral es un proceso que incluye síntesis separadas y el ensamblaje posterior de todos los componentes, para dar origen a nuevas partículas infecciosas. La replicación se inicia cuando el virus entra en la célula: las enzimas celulares eliminan la cubierta y el ADN o ARN viral se pone en contacto con los ribosomas, dirigiendo la síntesis de proteínas. El ácido nucleico del virus se autoduplica y, una vez que se sintetizan las subunidades proteicas que constituyen la cápsida, los componentes se ensamblan dando lugar a nuevos virus. Una única partícula viral puede originar una progenie de miles. Determinados virus se liberan destruyendo la célula infectada, y otros sin embargo salen de la célula sin destruirla por un proceso de exocitosis que aprovecha las propias membranas celulares. En algunos casos las infecciones son ‘silenciosas’, es decir, los virus se replican en el interior de la célula sin causar daño evidente.

Los virus que contienen ARN son sistemas replicativos únicos, ya que el ARN se autoduplica sin la intervención del ADN. En algunos

casos, el ARN viral funciona como ARN mensajero, y se replica de forma indirecta utilizando el sistema ribosomal y los precursores metabólicos de la célula huésped. En otros, los virus llevan en la cubierta una enzima dependiente de ARN que dirige el proceso de síntesis. Otros virus de ARN, los retrovirus, pueden producir una enzima que sintetiza ADN a partir de ARN. El ADN formado actúa entonces como material genético viral.

Durante la infección, los bacteriófagos y los virus animales difieren en su interacción con la superficie de la célula huésped. Por ejemplo, en el ciclo del bacteriófago T7, que infecta a la bacteria *Escherichia coli*, no se producen las fases de adsorción ni de descapsidación. El virus se fija primero a la célula y, después, inyecta su ADN dentro de ella. Sin embargo, una vez que el ácido nucleico entra en la célula, los eventos básicos de la replicación viral son los mismos.

## TIPOS DE ADN VIRALES

La mayoría de los virus ADN presentan un genoma bicatenario, con excepción de los parvovirus, constituidos por ADN monocatenario. Además, las moléculas de ADN viral pueden ser lineales o circulares.

La conformación circular que presentan los *Papoviridae* y *Hepadnaviridae*, confiere una serie de ventajas al ácido nucleico respecto de la estructura lineal, otorgándole protección frente al ataque de exonucleasas, facilitando la replicación completa de la molécula y su posible integración al ADN celular. En el caso de los papovavirus, el ADN puede presentar tres conformaciones: la forma I corresponde a la molécula circular covalentemente cerrada y superenrollada sobre sí misma. Si se produce una ruptura en una unión en una de las cadenas, la doble hélice se desenrolla y resulta una molécula circular relajada (forma II). Por último, la forma III es el resultado de una ruptura en la otra cadena que origina una molécula bicatenaria lineal.

El ADN circular de los hepadnavirus tiene una estructura muy peculiar y de características únicas dentro de los ADN virales: una de

las cadenas (S, corta) es incompleta, de manera que el 15-50% de la molécula es monocatenaria; la otra cadena (L, larga) presenta ruptura en un único punto de la molécula y además tiene una proteína unida covalentemente en el extremo 5`.

## TIPOS DE ARN VIRALES

Los ARN de los virus animales son en su gran mayoría de cadena simple, siendo *Reoviridae* y *Birnaviridae* las únicas familias que presentan como genoma ARN bicatenario. En algunos grupos de virus, el ARN genómico está segmentado en varios fragmentos, cuyo número es característico de cada familia.

Además de las características físicas y químicas mencionadas, la polaridad o sentido de la cadena de ARN es una propiedad fundamental utilizada para definir los distintos tipos de ARN viral. Se parte de definir como polaridad positiva la secuencia de bases correspondiente al ARNm y polaridad negativa a la secuencia complementaria a la del ARNm. Un virus es de cadena positiva cuando su ARN genómico tiene la polaridad que le permite actuar como ARNm, o sea ser traducido en proteínas, inmediatamente después de haber entrado a la célula.

Por el contrario, en los virus de polaridad negativa el ARN genómico tiene la secuencia complementaria al ARNm viral; por lo tanto, cuando se produce la infección y el ARN viral entra en la célula debe sintetizar la cadena complementaria que será el ARNm. Para ello, los virus de polaridad negativa llevan en el virión asociada a su genoma una ARN polimerasa dependiente de ARN, enzima denominada transcriptasa, que efectúa la transcripción del ARN mensajero a partir del ARN genómico.

Los virus se clasifican en base a su morfología, composición química y modo de replicación. Los virus que infectan a humanos frecuentemente se agrupan en 21 familias, reflejando sólo una pequeña parte del espectro de la multitud de diferentes virus cuyo rango de huéspedes van desde los vertebrados a los protozoos y desde las plantas y hongos a las bacterias.

## NOMENCLATURA

El nombre de los virus obedece a distintas consideraciones. Algunas veces se debe a la enfermedad que ellos producen, por ejemplo, el virus polio se llama así porque produce la poliomielitis. También puede deberse al nombre de los descubridores como el virus del Epstein-Barr, o a características estructurales de los mismos como los coronavirus. Algunos poseen un nombre derivado del lugar donde se los halló por primera vez, tal es el caso del virus Cocksackie o Norwalk.

El Comité Internacional de Taxonomía de virus (International Committee on taxonomy of viruses: ICTV, por sus siglas en inglés) ha propuesto un sistema universal de clasificación viral. El sistema utiliza una serie de taxones como se indica a continuación:

- Orden (-virales)
- Familia (-viridae)
- Subfamilia (-virinae)
- Género (-virus)
- Especie ( )

Ejemplo: Familia *Flaviviridae*, Género *Flavivirus*, Especies: Virus de la Fiebre Amarilla, Virus Dengue, Virus de la Encefalitis de San Luis.

30.000 virus se agrupan en 3600 especies, en 164 géneros y 71 familias (<http://life.bio2.columbia.edu/ICTVdB>)

Los virus animales han evolucionado de manera de adaptarse a las posibilidades que le brinda la célula para llevar a cabo la transcripción. La célula eucariota sintetiza sus ARNm en el núcleo, a partir de un molde de ADN y utilizando la enzima ARN polimerasa II, dependiente de ADN también de localización nuclear. Por lo tanto, sólo aquellos virus con un genoma de ADN y que llegan al núcleo de la célula pueden utilizar las enzimas celulares para transcribir sus mensajes. Si el virus debe sintetizar sus ARNm en otras condiciones (por ejemplo, a partir de un templado de ARN o a partir de ADN en citoplasma), debe necesariamente traer todas las enzimas correspon-

dientes (ARN polimerasa ARN dependiente o ARN polimerasa ADN dependiente, respectivamente) como proteínas constitutivas del virión o tener codificada en el genoma la información para sintetizarlas en la célula infectada.

Las características estructurales de los ARNm virales son similares a las de los ARNm celulares. Se pueden reconocer en la actualidad 7 grandes grupos de familias de virus animales:

- Grupo 1 (virus ARN de polaridad positiva): El ARN viral monocatenario es ARNm, por lo tanto, es inmediatamente traducido en proteína viral luego que el virus ha entrado en la célula.
- Grupo 2 (virus ARN de polaridad negativa): El ARN viral debe ser transcrito a su cadena complementaria para obtener el ARNm que sea traducido en proteínas. Esta transcripción es efectuada por una transcriptasa (ARN polimerasa ARN dependiente) presente en el virión.
- Grupo 3 (virus ARN de polaridad ambos sentidos): Los dos fragmentos de ARN en Arenaviridae y algunos fragmentos de Bunyaviridae son de polaridad mixta. La mitad de la secuencia de nucleótidos tiene la polaridad positiva del ARNm y la otra parte del genoma es de polaridad negativa. Por lo tanto, también traen como proteína constitutiva del virión una transcriptasa que permite transcribir ARNm subgenómico a partir de la secuencia genómica de polaridad negativa.
- Grupo 4 (virus ARN de doble cadena): El ARNm es transcrito a partir de la cadena negativa del genoma por una ARN polimerasa ARN dependiente asociada al virión.
- Grupo 5 (Retroviridae): Es una familia excepcional dentro de los virus ARN ya que el virión tiene asociada una enzima ADN polimerasa ARN dependiente (transcriptasa reversa: revierte el flujo de información genética de la célula eucariótica que es ADN-ARN). Esta enzima sintetiza a partir del ARN cadena simple de polaridad positiva viral una cadena complementaria de ADN negativo, que luego es convertido en ADN doble cadena. Este ADN bicatenario se integra al genoma celular y actúa como templado para la síntesis de los ARNm virales.
- Grupo 6 (virus ADN de doble cadena): el ADN viral es transcrito a ARNm por una ARN polimerasa ADN dependiente viral o celular, según la familia.

- Grupo 7 (virus ADN de cadena simple): El ADN viral monocatenario es convertido en bicatenario a partir del cual se transcriben luego los ARNm virales utilizando la ARN polimerasa celular.

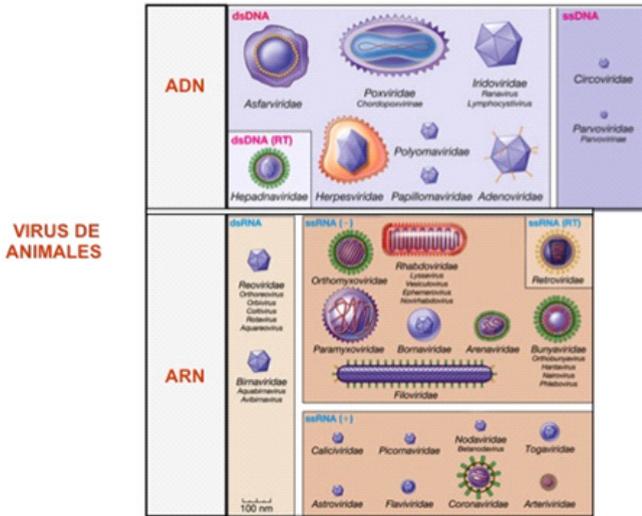


Figura 17. Clasificación de los virus por su material genético

Para traducir sus proteínas a partir de los ARNm, todos los virus utilizan el sistema provisto por la célula huésped, tanto ribosomas como factores de iniciación y demás elementos. Por lo que deben adaptar sus ARNm a los requerimientos de la maquinaria celular. En este aspecto la principal restricción que impone la célula es la necesidad de que los ARNm sean monocistrónicos, o sea con un único punto para iniciación de la traducción en el extremo 5' del ARNm, que es leído en forma completa por el sistema celular dando como resultado una única proteína. Esta necesidad resulta a partir del hecho de que los ribosomas eucarióticos son incapaces de iniciar la traducción en el interior de un transcritto policistrónico, o sea cortar la lectura de un ARNm en una señal de terminación y reiniciar la traducción en una señal de iniciación contigua para comenzar con la síntesis de otro polipéptido.

## REPLICACIÓN DEL ÁCIDO NUCLEICO VIRAL

El ciclo de multiplicación viral se define como la serie de etapas secuenciales que transcurren desde el contacto inicial de un virus con una célula huésped hasta la liberación a partir de la misma célula infectada, de la progenie de nuevos viriones. La replicación viral se diferencia del proceso de división celular usado por células procariotas y eucariotas (No se dividen ni aumentan de tamaño). La partícula viral se desintegra y se sintetizan “de novo” cada uno de sus componentes para luego ensamblarse dentro de la célula huésped.

**Virus con genoma de ADN:** Los virus llevan a cabo la duplicación de su ADN por medio de mecanismos y herramientas similares a los empleados por la célula para replicar su material genético. La replicación del ADN viral es generalmente semiconservativa, es decir cada cadena del ADN parental se conserva y por apareamiento con las bases complementarias se duplica, produciéndose como resultado final dos moléculas de ADN, cada una de las cuales está formada por una cadena de ADN parental y una cadena sintetizada “de novo”.

**Virus con genoma de ARN:** A diferencia de lo que sucede con el ADN, la replicación del ARN es un fenómeno único de los virus ya que la maquinaria genética de la célula se basa exclusivamente en el uso del ADN como templado (ADN-ADN o ADN-ARN). Por lo tanto, para la duplicación de su genoma, así como acontecía para la síntesis de sus ARNm, los virus ARN deben necesariamente aportar la enzima ARN polimerasa ARN dependiente.

## ADSORCIÓN

El evento inicial en el ciclo de vida de un virus es la unión del mismo con la célula huésped a través del proceso de adsorción. Esta unión específica se establece entre una molécula presente en la membrana celular (receptor) y una proteína externa del virión. Algunos receptores virales han sido identificados y son en general carbohidratos, lípidos o proteínas de la membrana plasmática. Así, la susceptibilidad o resistencia de una célula a la infección está deter-

minada por la presencia o ausencia de receptores específicos. La importancia de la carencia de receptores se demuestra indirectamente porque es posible infectar exitosamente células no susceptibles a algunos virus utilizando ácido nucleico desnudo (transfección).

La unión virus-célula ocurre en dos etapas: una primera unión reversible por atracción electrostática, facilitada por la presencia de cationes: la adsorción irreversible se produce cuando se establece la unión polivalente virus-célula, ya que suele haber muchas copias de los receptores en la célula y múltiples sitios de unión en el virión.

## **PENETRACIÓN**

Una vez establecida la adsorción, los virus pueden entrar en la célula a través de tres mecanismos diferentes: endocitosis mediada por receptor, fusión con la membrana plasmática y traslocación a través de la membrana plasmática. Se acepta en la actualidad que los virus desnudos pueden entrar en la célula por traslocación o por endocitosis mientras que los virus envueltos penetran por endocitosis o por fusión.

En la endocitosis mediada por receptor el virus utiliza la misma vía de entrada que emplean muchas macromoléculas fisiológicamente importantes como nutrientes hormonas y factores de crecimiento. El virus absorbido a su receptor va quedando encerrado dentro de invaginaciones de la membrana plasmática recubiertas de una proteína llamada clatrina, que forman primero un hueco recubierto y luego una vesícula. De este modo el virión intacto entra en el endosoma. El pH ácido del endosoma (5 a 5,5) produce cambios conformacionales en las proteínas del virión que permiten la fusión de la membrana del endosoma con la membrana externa del virus y expulsan el genoma viral al citoplasma celular para su libre expresión.

El mecanismo de fusión directa de la envoltura viral con la membrana plasmática celular es utilizado por ciertos virus envueltos como los Herpes y Paramixovirus. Estos virus poseen en su envoltura glicoproteínas con capacidad de fusión independiente del pH,

es decir, que a un pH neutro ocurre la fusión a nivel de la membrana celular liberando el genoma al citoplasma. A diferencia de la entrada por endocitosis, en este caso en ningún momento se ven viriones intactos dentro de la célula. Esta capacidad de fusión con membrana plasmática que tienen ciertos virus ha permitido su utilización como agentes fusogénicos para la obtención de híbridos celulares. Por último, algunos virus desnudos como los Adenovirus parecen entrar directamente a través de la membrana plasmática mediante un proceso de traslocación.

## **DESNUDAMIENTO**

El desnudamiento ocurre simultáneamente o después de la penetración y comprende la eliminación de todas o parte de las cubiertas proteicas que rodean al ácido nucleico viral, de manera de dejar expuesto dentro de la célula el genoma viral desnudo o asociado a alguna enzima para que pueda expresarse. En algunos casos sólo se remueve parte de la cápside viral y en esas condiciones el genoma expresa sus funciones. Para otros virus complejos, como por ejemplo los Poxvirus, el desnudamiento parece ocurrir en dos etapas: en la primera hay remoción de ciertas cubiertas proteicas por enzimas celulares, parte del genoma es transcrito en esas condiciones y luego, en una segunda etapa, y a través de una proteína codificada por el virus, se produce el desnudamiento total del genoma.

En general el desnudamiento es un proceso difícil de estudiar y establecer con precisión sus características por la rapidez con que ocurre y la dificultad en separarlo temporalmente de la penetración. Es por ello que se suele denominar internalización del virión al conjunto de ambos eventos, penetración y desnudamiento.

En las etapas tardías del ciclo de multiplicación viral las moléculas de ácido nucleico y proteínas virales sintetizadas en la célula infectada deben ensamblarse para formar los nuevos viriones y salir al espacio extracelular para estar en condiciones de infectar nuevas células. Este proceso de maduración y ensamble, también denomi-

nado morfogénesis, comprende el armado de la cápside a partir de las unidades estructurales y luego la formación del virión completo. El mecanismo va a diferir en base a dos propiedades del virión: la estructura de la cápside y la presencia o no de envoltura.

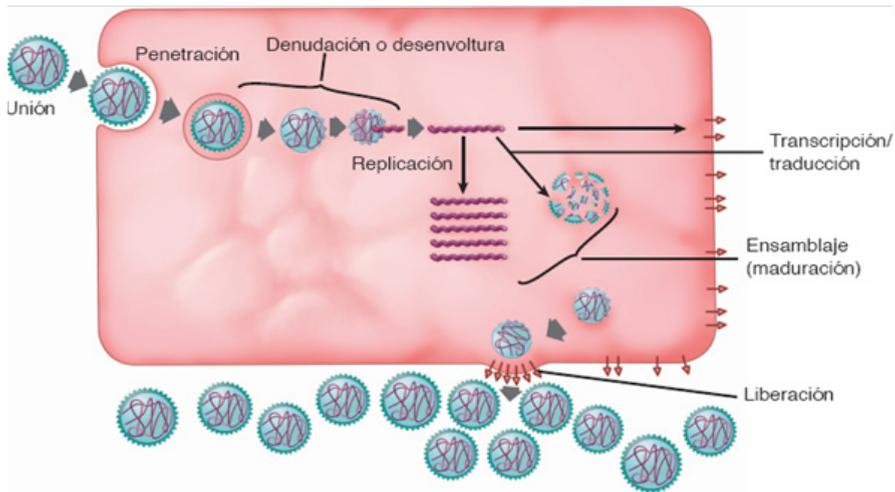


Figura 18. Fases de la replicación del ácido nucleico viral

## BIOSÍNTESIS DE MACROMOLÉCULAS VIRALES

Se basa en la expresión de la información contenida en el genoma que permitirá la biosíntesis de proteínas y ácidos nucleicos constituyentes de la nueva progenie. Comprende tres tipos de eventos:

- Transcripción: producción de ARNm virales.
- Traducción de los ARNm en proteínas estructurales (son todas aquellas proteínas constitutivas del virión) y no estructurales (que se sintetizan en la célula infectada a partir del genoma viral y cumplen distintas funciones durante el ciclo de vida del virus, pero no forman parte del virión; por ejemplo: polimerasas, proteasas, proteínas para el ensamble, entre otras)

- c. Replicación del genoma viral para obtener copias del mismo que junto con las proteínas estructurales formarán la progenie de viriones.

La diversidad de mecanismos por los que los virus se aseguran que estos tres procesos ocurran y se fabriquen los componentes del virión se refleja en la amplia variación de tipos estructurales de genomas virales. El punto clave para que pueda haber expresión del genoma viral en la célula huésped está representado por la síntesis de las proteínas codificadas en el mismo, para lo cual previamente se requiere la transcripción de los correspondientes ARNm. La replicación puede producirse en el núcleo o en el citoplasma de la célula, dependiendo del ácido nucleico que posean. Los virus que contienen ARN se replican en el citoplasma, los virus que contienen ADN se replican en el núcleo. Hay excepciones, por ejemplo: virus de la viruela (ADN) en el citoplasma, VIH (ARN) en el núcleo, entre otros. La síntesis proteica se realiza siempre en el citoplasma.

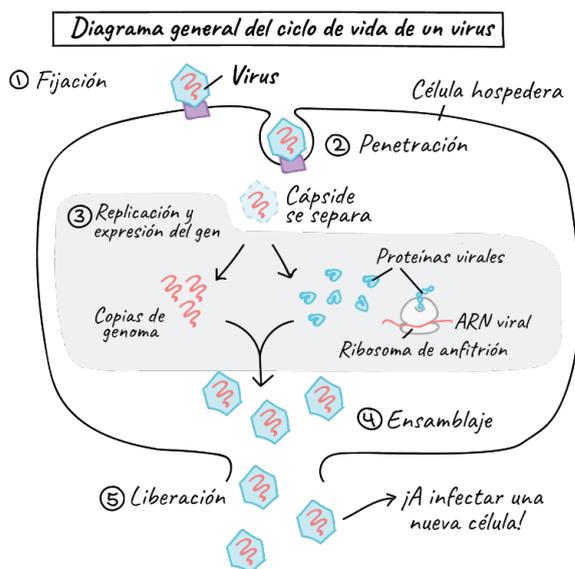


Figura 19. Fases del ciclo viral

## MECANISMOS DE REPLICACIÓN: CICLO VITAL DE LOS VIRUS

### Ciclo lítico

Se denomina así porque la célula infectada muere por rotura a liberarse las nuevas copias virales. Consta de las siguientes fases:

Fase de adsorción o fijación: El virus se une a la célula hospedadora de forma estable. La unión es específica ya que el virus reconoce complejos moleculares de tipo proteico, lipoproteico o glucoproteico, presentes en las membranas celulares.

Fase de penetración o inyección: el ácido nucleico viral entra en la célula mediante una perforación que el virus realiza en la pared bacteriana.

Fase de eclipse: en esta fase no se observan copias del virus en la célula, pero se está produciendo la síntesis de ARN, necesario para generar las copias de proteínas de la cápside. También se produce la continua formación de ácidos nucleicos virales y enzimas destructoras del ADN bacteriano.

Fase de ensamblaje: en esta fase se produce la unión de los capsómeros para formar la cápside y el empaquetamiento del ácido nucleico viral dentro de ella.

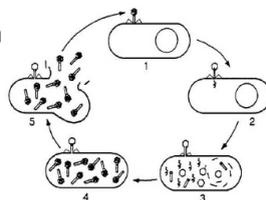
Fase de lisis o ruptura: conlleva la muerte celular. Los viriones salen de la célula, mediante la rotura enzimática de la pared bacteriana. Estos nuevos virus se encuentran en situación de infectar una nueva célula.



## CICLO DE LOS VIRUS

### Fases del Ciclo Lítico

- Fijación o adsorción
- Penetración
- Eclipse
- Ensamblaje
- Liberación

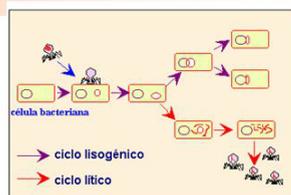


## Ciclo lisogénico

Las dos primeras fases de este ciclo son iguales a las descritas en el ciclo anterior. En la fase de eclipse el ácido nucleico viral en forma de ADN bicatenario recombina con el ADN bacteriano, introduciéndose en éste como un gen más. Esta forma viral se denomina profago, o virus atenuado, mientras que la célula infectada se denomina célula lisogénica.

En este estado el profago puede mantenerse durante un tiempo indeterminado, pudiendo incluso, reproducirse la célula, generando nuevas células hijas lisogénicas. El profago se mantendrá latente hasta producirse un cambio en el medio ambiente celular que provoque un cambio celular, por ejemplo, por variaciones bruscas de temperatura, o desecación, o disminución en la concentración de oxígeno. Este cambio induce a la liberación del profago, transformándose en un virus activo que continúa el ciclo de infección hasta producir la muerte celular y la liberación de nuevos virus.

## Ciclo Lisogénico



- El virus penetra la célula pero no la destruye.
- El ADN viral se integra al ADN de la célula formando parte de su patrimonio genético.
- Cuando la célula se reproduce, también duplica el ADN viral que trae integrado y que se mantienen en forma latente dentro de ella.
- La célula puede reproducirse varias veces dando lugar a muchas células que contienen al virus latente.

## Para recordar:

### Conceptos fundamentales en virología

- **Provirus:** es el genoma viral que se incorpora al de la célula hospedante. Un provirus es cuando el DNA viral se integra a un cromosoma de la célula hospedadora. En los retrovirus, como el virus de la inmunodeficiencia humana (HIV), el genoma viral es transportado al núcleo de la célula infectada, donde se integra a un cromosoma celular mediante la acción de la integrasa viral. Como provirus, el HIV está protegido del sistema inmune del hospedero y de los fármacos antivirales. A veces el provirus se replica cuando se replica el DNA de la célula hospedadora. En otros casos el provirus se expresa y produce nuevos virus, que pueden infectar las células adyacentes
- **Virión:** es la partícula viral completa, con capacidad infectante. es la partícula viral completa y con capacidad infectante. En la replicación viral, no todas las partículas virales maduran y se ensamblan correctamente y esto puede dar lugar a **virus defectivos**; estos últimos pueden provocar interferencias con otros virus, pueden unirse a receptores celulares o bien pueden multiplicarse solo en presencia de otro virus. Este es el caso del virus de la hepatitis D, que necesita la envoltura del virus de la hepatitis B para formar su propio viriÓN. Además, por ser defectivo carece de la capacidad de replicarse en forma autónoma y solo puede hacerlo en células infectadas por el virus de la hepatitis B.
- **Prión** o agente infeccioso no convencional: son hebras de proteínas autorreplicantes. No forman una cápside ni se les ha detectado, asociados con ellas, ácido nucleico alguno. Son proteínas anormalmente plegadas que pueden producir cambios en otras proteínas causando su agrupamiento. Los priones causan infecciones lentas del sistema nervioso central en el hombre y en el ganado (encefalitis espongiforme bovina o “mal de la vaca loca”; scrapie, “tembladera” o “prurito lumbar” de los ovinos, etc.). Las enfermedades humanas son el kuru, la enfermedad de Creutzfeldt-Jakob o demencia presenil, el síndrome de Gerstmann-Sträussler-Sheinker y el insomnio familiar fatal. El kuru o ataxia degenerativa, que produce agitación o temblores, se observó en algunas tribus de Nueva Guinea con hábitos canibalísticos. Los priones son muy resistentes a la acción de los desinfectantes y a algunos métodos de esterilización

## Ciclos de Replicación Viral

### Ciclo lítico

- Ocurre cuando el virus LISA o DESTROYE la célula hospedadora.

### Ciclo lisogénico

- Ocurre cuando el material genético viral se integra al de la célula hospedadora.
- Cada vez que se reproduce la célula hospedadora lleva el virus en su propio material genético, de generación en generación.
- No implica la lisis de la célula hospedadora.

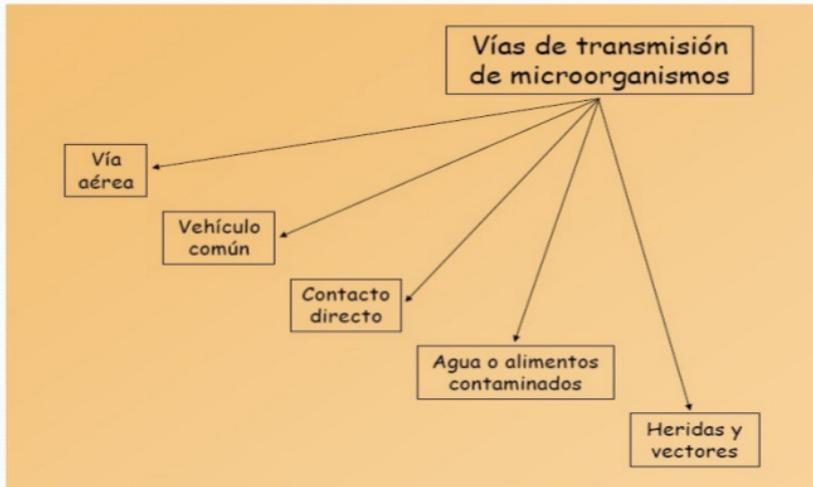
## MECANISMOS DE TRANSMISIÓN VIRAL

Los virus pueden transmitirse por distintos mecanismos, como el contacto directo de una persona a otra, indirecto a través de fómites (objetos inertes contaminados) o por gotitas que se eliminan al hablar, toser o estornudar. Otras formas de adquirir enfermedades virales son la transmisión vertical (de la madre al hijo), sexual (por contacto con lesiones o secreciones genitales infectadas), el trasplante de órganos, las picaduras de insectos y por la vía parenteral. En esta última, el ingreso viral se produce mediante transfusiones de sangre o sus derivados, agujas y jeringas contaminadas (adictos a drogas intravenosas que comparten agujas), hemodiálisis.

Las enfermedades virales o virosis tienen distintas puertas de entrada o formas de ingreso al organismo, a continuación, se mencionan algunos ejemplos de cada una:

- Respiratoria o inhalatoria: por esta vía, que es muy frecuente, ingresan los virus que producen gripe, resfrío, sarampión, rubéola, paperas, varicela.

## Mecanismos de contagio.



- Digestiva o vía fecal-oral: los virus de la hepatitis A y E, de la poliomielitis, el rotavirus, el virus Coxsackie A (agente etiológico de la herpangina y de la enfermedad mano-pie-boca).
- Piel: los poxvirus (virus de la viruela y virus del molusco contagioso), los virus herpes simple tipos 1 y 2 y los distintos tipos de virus del papiloma humano (HPV). Transcutánea: por picaduras de insectos –como los virus dengue y de la fiebre amarilla– o por mordeduras de animales infectados por el virus de la rabia.
- Transplacentaria: algunos virus que atraviesan la placenta producen malformaciones congénitas en el feto, como el de la rubéola y el citomegalovirus (CMV).
- Genital: los virus herpes simple tipos 1 y 2, citomegalovirus (CMV), virus papiloma humano (HPV), virus de inmunodeficiencia humana (HIV), virus de hepatitis B y D, zika.
- Parenteral: por esta vía ingresan el virus de inmunodeficiencia humana (HIV) y los virus de la hepatitis B, C y D.

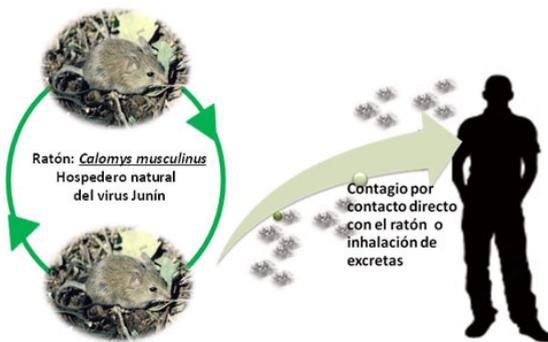
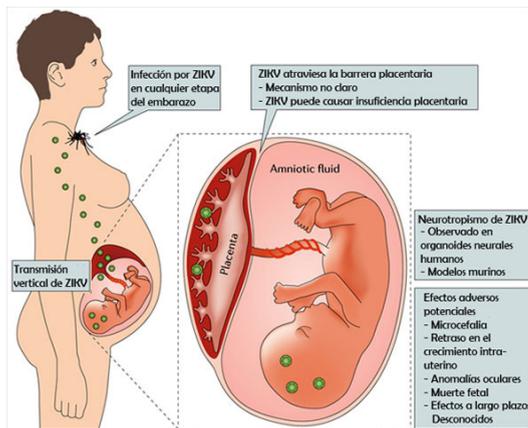
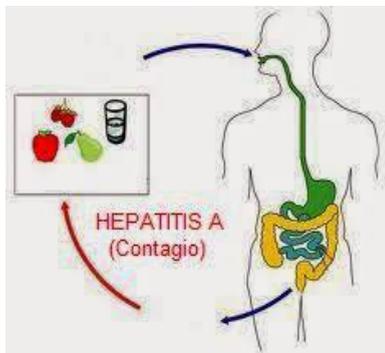


Figura 20. Mecanismos de transmisión viral

## CONSECUENCIAS DE LA INFECCIÓN VIRAL

Los efectos de los virus sobre las células que infectan pueden ser:

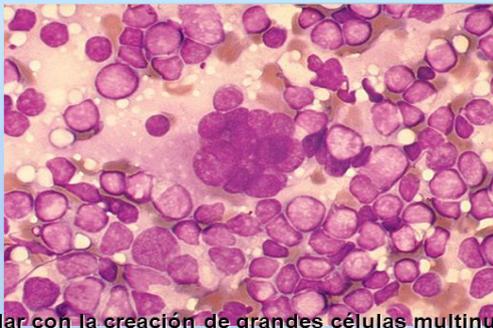
### EFECTO CITOPÁTICO

Consiste en que la infección vírica puede causar la muerte de la célula. Su lisis tiene lugar al liberarse los nuevos virus o en etapas anteriores debido a la alteración en la síntesis de proteínas estructurales (bien por la competencia con el RNA viral con el celular o por liberación de enzimas lisosomales).

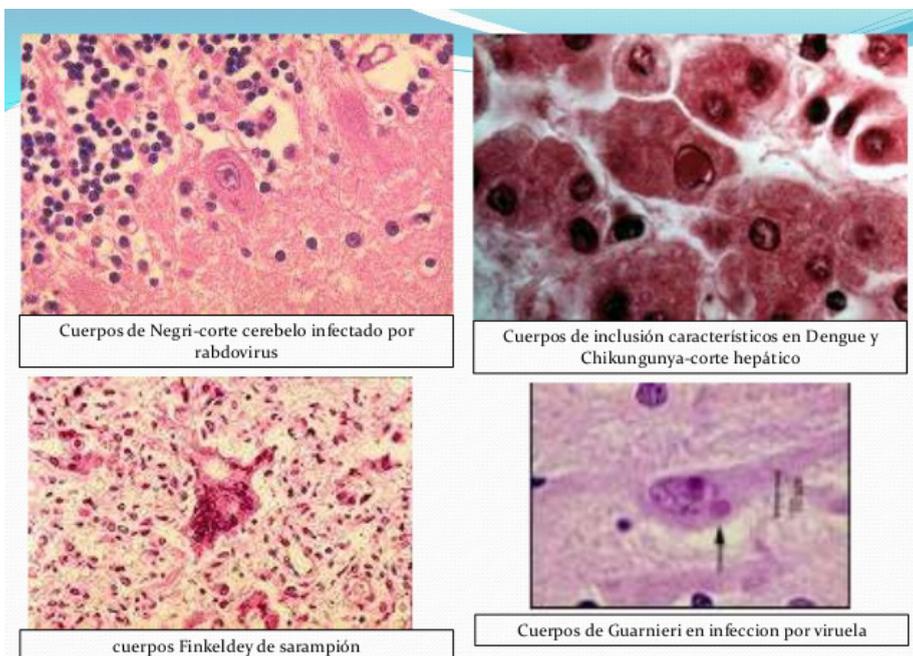
Pueden alterar componentes del citoesqueleto, utilizar sustratos y enzimas de la célula para su reproducción o inducir a ribosomas y aparato de Golgi a producir sus proteínas, así como a las DNA-polimerasas para replicar su genoma.

En las células infectadas es frecuente observar inclusiones debidas a acúmulos de viriones completos, cápsides u otros componentes. Las inclusiones pueden ser: intranucleares (herpes simple), intracitoplasmáticas (viruela, rabia) o mixtas (citomegalovirus).

## Efecto citopático



La fusión celular con la creación de grandes células multinucleadas es un efecto citopático característico del Célula multinucleada (syncitio) en preparaciones de cortes de nódulos linfáticos de un paciente con una infección por el VIH-1.

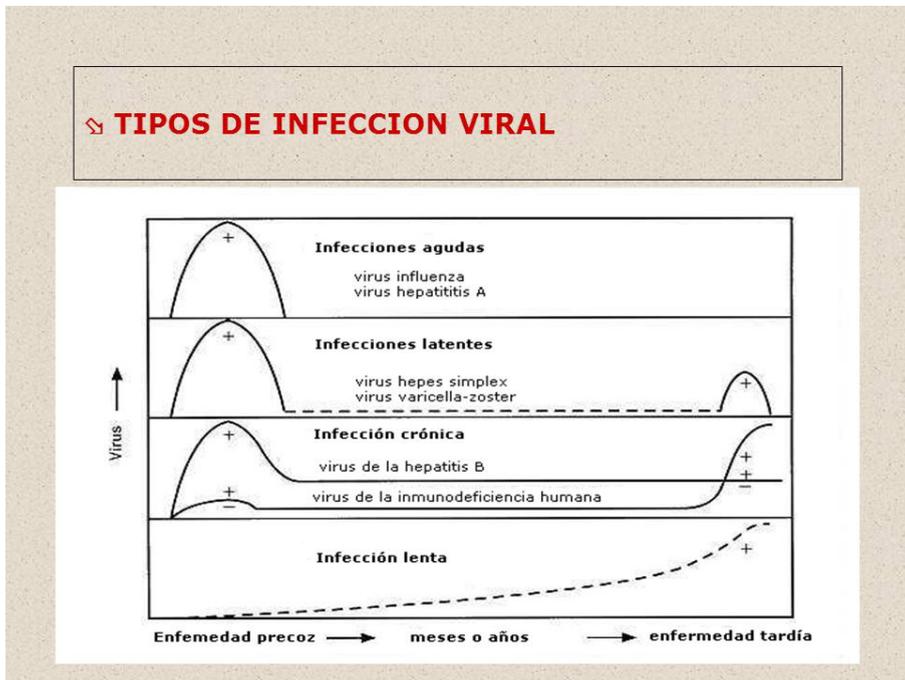


## PERSISTENCIA INTRACELULAR

Ciertos virus son incapaces de lisar a las células huésped o de alterar sus procesos de síntesis. Por el contrario, permanecen en ellas durante largos periodos de latencia, no siendo detectables (ejemplo: DNA virus). La célula queda alterada y su nuevo estado de transformación requiere la presencia del virus para mantenerse. Así, por ejemplo, en las infecciones por el virus de la varicela-herpes zoster se describe una compleja y estrecha asociación entre el núcleo y los orgánulos intracitoplasmáticos.

## INTEGRACIÓN Y TRANSFORMACIÓN DE LA CÉLULA HUÉSPED

Algunos virus provocan infecciones persistentes y tumores en la célula que infectan. Destacan, por ejemplo, los virus asociados a tumores como papilomas de piel y mucosas, en los que se liberan continuamente células repletas de nuevos elementos virales.



## INFECCIONES ABORTIVAS

Tiene lugar cuando la célula huésped carece de algún enzima necesario para la replicación, de forma que los virus sufren replications incompletas, en las que falta, bien el genoma, bien proteínas de la cápside.

## CONCLUSIONES

El surgimiento y resurgimiento de los virus se deben en parte a su relativo bajo nivel de complejidad, por lo que pequeños cambios en su información genética ocasionan grandes cambios en su estructura y funcionamiento general, lo cual permite evadir la respuesta inmunológica de los organismos, variar sus comportamientos dentro de las células hospederas y perder su sensibilidad a tratamientos comunes para esas enfermedades.

Se ha discutido mucho si los virus son o no seres vivos. Por una parte, se reproducen, aunque dependientes de la célula de la que utilizan enzimas y ribosomas; no metabolizan sustancias para producir energía, y sólo tienen un tipo de ácido nucleico, ADN o ARN; además son cristalizables. Posiblemente, sistemas parecidos a los virus, pero de vida libre, fueron los primeros seres vivos.

El estudio del origen y de la evolución de los virus se ve dificultado por la falta de restos fósiles. Los síntomas de enfermedades virales que conocemos actualmente pueden ser rastreados sólo hacia el comienzo de los registros de la historia humana.

Después del reconocimiento de los virus como causantes de enfermedad, la virología ha evolucionado muy rápido, incluso los virus fueron de los primeros modelos para el estudio del funcionamiento del genoma, conocimiento indispensable hoy en día para el trabajo de investigación en ciencias biológicas.

Actualmente se considera a los virus no sólo como causantes de enfermedades sino también como agentes muy importantes que colaboran en el mantenimiento del equilibrio ecológico.

## **BIBLIOGRAFÍA DEL CAPÍTULO**

De Robertis, E. & E. M. F. Biología Celular y Molecular. 11ª Edición. Editorial El ateneo. Buenos Aires-Argentina. 1990.

Collier L, Oxford J. Capítulo 2: Propiedades generales de los virus. En: Virología humana. 3º Edición. México: Mc Graw Hill; 2008. pp. 7-17.

Murray PR, Rosenthal KS, Pfaller MA. Capítulo 44: Clasificación, estructura y replicación vírica. En: Microbiología Médica. 7º Edición. Barcelona: Elsevier España SL; 2014.pp. 393-409.

Temas de Bacteriología y Virología Médica. 3º Edición. 2008 Oficina del Libro FEFMUR

Virus al Acecho J. Arbiza, J. C. Russi.. 2002 Eudeci. Fin de Siglo

Fields Virology. David M. Knipe and Peter M. Howley. Fifth edition. Lippincott Williams and Wilkins. 2007.

- Principles of Virology. Molecular Biology, Pathogenesis, and Control of Animal Viruses. S.J.Flint, L.W.Enquist, V.R.Racaniello, A.M.Skalka. Third edition. ASM PRESS. Washington, D.C. 2009.
- Murray PR, Rosenthal KS, Pfaller MA. Capítulo 45: Mecanismos de patogenia vírica. En: Microbiología Médica. 7° Edición. Barcelona: Elsevier España SL; 2014. pp. 410-20.
- Collier L, Oxford J. Capítulo 4: ¿Cómo causan enfermedad los virus? En: Virología humana. 3° Edición. México: Mc Graw Hill; 2008. pp. 29-38.
- Murray PR, Rosenthal KS, Pfaller MA. Capítulo 46: Papel de los virus en las enfermedades. En: Microbiología Médica. 7° Edición. Barcelona: Elsevier España SL; 2014. pp. 421-428.
- Tortora GJ, Funke BR, Case CL. Virus, Viroides y Priones. En: Introducción a la Microbiología. 9° Edición. Buenos Aires: Editorial Médica Panamericana; 2007. pp. 386-419.
- Junqueira LC, Carneiro J. Biología Celular y Molecular. Santiago, Chile. Ediciones McGraw – Hill Interamericana de Chile Ltda., 2007. 488 p. ISBN 85-277-0409-9.
- Karp G. Biología Celular y Molecular conceptos y experimentos. México, D.F.: Ediciones: McGraw-Hill Companies, 2009. 832 p. ISBN 13: 978-0-470-04217-6
- Restrepo MA. Biología molecular de virus: tópicos seleccionados. Escrito por José Peñaranda Valverde. Enfermedades infecciosas. Disponible en: <http://biologiamedica.blogspot.com/2010/09/los-virus-ciclo-litico-y-lisogenico.html>

## LINKOGRAFÍA

<http://www.ovinos-caprinos.com.ar/SANIDAD/PRIONES.pdf>

[http://www.bioygeo.info/pdf/17\\_Formas\\_acelulares.pdf](http://www.bioygeo.info/pdf/17_Formas_acelulares.pdf)

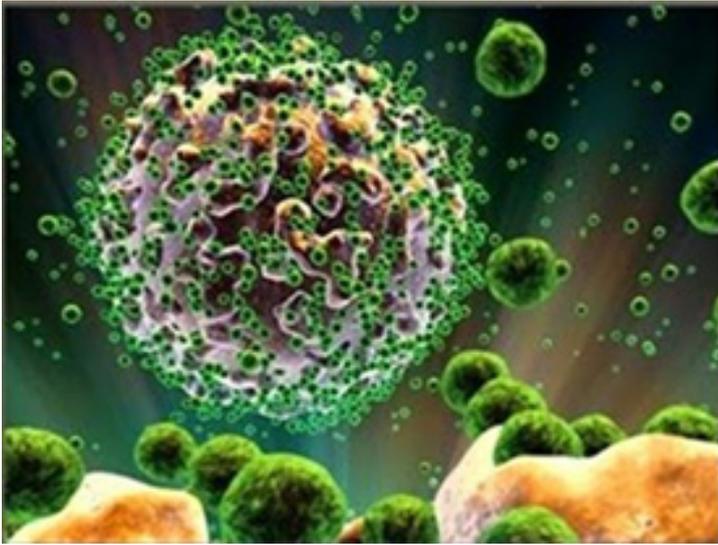
<http://www.genomasur.com/lecturas/Guia01.htm>

<http://www.duiops.net/seresvivos/virus.html>

<http://quimicosclinicosxalapa04.spaces.live.com/blog/cns!204AC1C68E772D5!1779.entry?sa=345086851>

<http://www.solociencia.com/biologia/microbiologia-microorganismos-clasificacion.htm>

## CAPÍTULO IV





# INFECCIÓN VIRAL Y RESPUESTA INMUNE

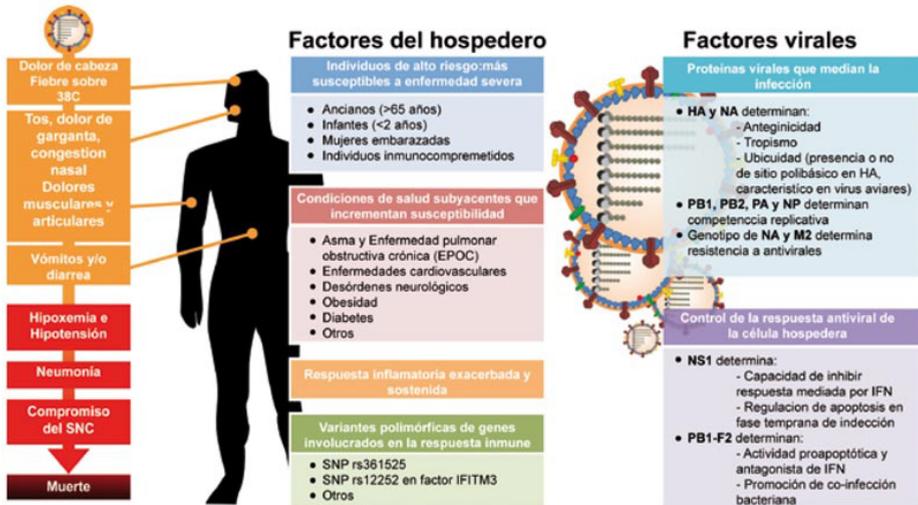
## LOS VIRUS EN LA MEDICINA

Los virus representan un reto importante para la ciencia médica en su combate contra las enfermedades infecciosas. Muchos virus causan enfermedades humanas de gran importancia y diversidad y dependen muchas veces de los factores del hospedero y propias de los agentes virales.

Entre las enfermedades virales se incluye el resfriado común, que afecta a millones de personas cada año. Otras enfermedades tienen graves consecuencias. Entre éstas se encuentra la rabia, las fiebres hemorrágicas, la encefalitis, la poliomielitis y la fiebre amarilla. Sin embargo, la mayoría de los virus causan enfermedades que sólo producen un intenso malestar, siempre que al paciente no se le presenten complicaciones serias. Algunos de éstos son la gripe, el sarampión, las paperas, la fiebre con calenturas (herpes simple), la varicela, los herpes (también conocidos como herpes zóster), enfermedades respiratorias, diarreas agudas, verrugas y la hepatitis. Otros agentes virales, como los causantes de la rubéola (el sarampión alemán) y los citomegalovirus, pueden provocar anomalías serias o abortos. El síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA), está causado por un retrovirus. Se conocen dos retrovirus ligados con ciertos cánceres humanos.

## RESPUESTA CELULAR ANTIVIRAL Y CARACTERÍSTICAS ANATOMOPATOLÓGICAS DE INFECCIÓN VIRAL

El huésped se sirve de diversos mecanismos para enfrentarse a la infección vírica. El más significativo es la producción de anticuerpos neutralizantes frente a viremias por lisis celular y liberación de viriones. Así mismo, la inmunidad celular juega un papel fundamental, ya que la

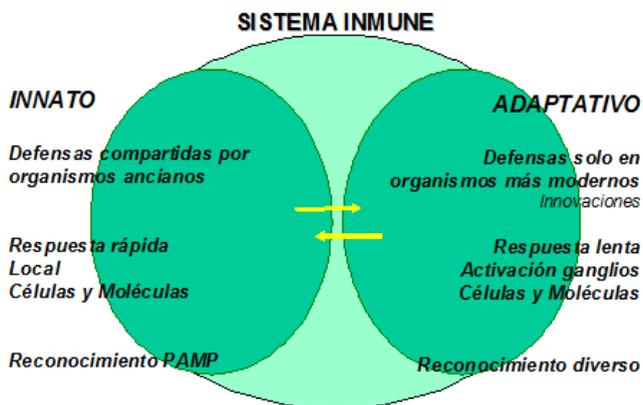


infección se transmite, precisamente, de célula a célula. Las características anatomopatológicas de infección viral están en función de:

- Lesión directa en los parénquimas, que pueden deberse a:
- Degeneraciones celulares, cromatólisis, vacuolización celular o lisis.
- Neoplasias, alteraciones funcionales que tienen como base morfológica fibrosis, desmielinización, atrofia, proliferación celular y aparición de inclusiones.
- Alteraciones secundarias a la inflamación y proliferación celular, que se manifiestan en forma de edema local, exudado perivascular (linfocitos y células plasmáticas).
- Infiltración de neutrófilos secundariamente a necrosis y degeneración parenquimatosa.
- Proliferación tisular de tejido de degranulación o de células parenquimatosas (verrugas, neoplasias).
- Sobreinfecciones bacterianas.

Las infecciones virales suelen ser sistémicas. En muchas de ellas aparecen inclusiones intracelulares (basófilos por acumulación de virus y acidófilos en torno a las áreas donde se produjo la replicación viral). Las inclusiones intracitoplasmáticas son poco frecuentes, pequeñas, basófilas y múltiples.

## Respuesta inmunitaria frente a virus



Los virus y sus hospedadores han evolucionado conjuntamente durante millones de años y durante este proceso el hospedador ha desarrollado una serie de estrategias mediadas fundamentalmente por el sistema inmune, con la finalidad de defenderse no solo contra virus sino también contra otros agentes patógenos. Por su parte, los virus también han desplegado a la par destrezas para evadir la respuesta inmune del hospedador, que le han permitido replicarse y persistir en la mayoría de los casos, en forma inadvertida dentro del hospedador, lo cual puede conducir a estados de infección crónica latente durante muchos años.

El sistema inmunitario puede ser arbitrariamente dividido en dos partes: el **sistema inmune innato** y el **sistema inmune adaptativo o adquirido**. Las células efectoras más importantes del sistema inmune innato son los monocitos/macrófagos, las células dendríticas, las células asesinas naturales (NK) y las células T con fenotipo NK llamadas células NKT. Estas células efectoras reconocen patrones moleculares asociados a patógenos virales, tales como: proteínas virales, motivos CpG del ADN viral, o ARN de doble cadena, a través de los llamados receptores para el reconocimiento de patrones moleculares asociados a los patógenos, dentro de los cuales se encuentran los llamados, los de las células NK y los de unión a manosa. Estas células pueden liberar una

cantidad importante de citocinas proinflamatorias y quimiocinas, las cuales reclutan células al sitio de infección, iniciando así una respuesta inflamatoria antiviral. Estos factores solubles activan además a las células dendríticas, las cuales migran a los ganglios linfáticos para presentar el antígeno a los linfocitos T y B, que estarán encargados de desarrollar una respuesta inmune específica contra los antígenos virales.

## SISTEMA INMUNE INNATO

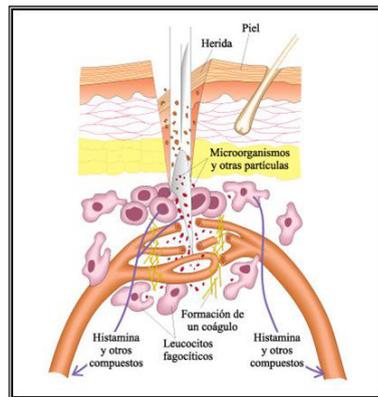
En el sistema inmune innato participan:

### Células:

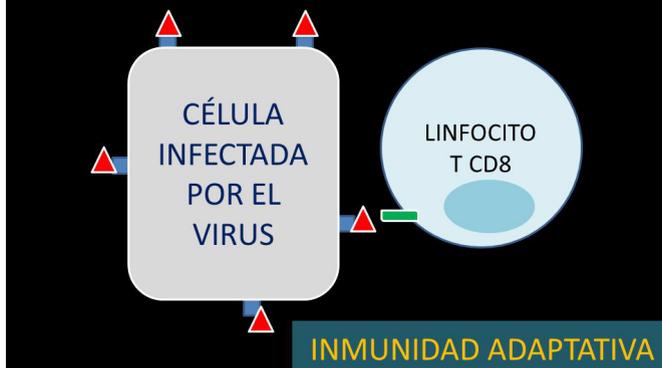
- Macrófagos
- Polimorfonucleares
- Células asesinas naturales.

### Sustancias químicas y proteínas:

- Proteínas del complemento
- interferón | interferones



- Nuestro sistema inmunitario tiene la capacidad de desarrollar moléculas y células específicas frente al virus o frente a células infectadas por el virus



## INFECCIÓN VIRAL Y EL SISTEMA INMUNITARIO

La relación entre los virus y su hospedador es un proceso dinámico, en el cual, el virus intenta minimizar su visibilidad, mientras que el hospedador procura prevenir y erradicar la infección con el mínimo daño colateral a sus tejidos. Inicialmente, el virus puede reconocer, unirse y entrar a una célula blanco para luego migrar al compartimiento celular apropiado. Aquí, su genoma es transcrito, traducido y replicado para permitir el ensamblaje y la salida de nuevos viriones y así, la infección puede extenderse a otras células susceptibles. Por su parte, el hospedador debe ser capaz de reconocer la presencia del virus y eliminarlo tan rápido y efectivamente como le sea posible. Esto, usualmente está asociado a una serie de eventos muy complejos, mediante los cuales tanto las células infectadas como las células del sistema inmunitario cumplen sus funciones.

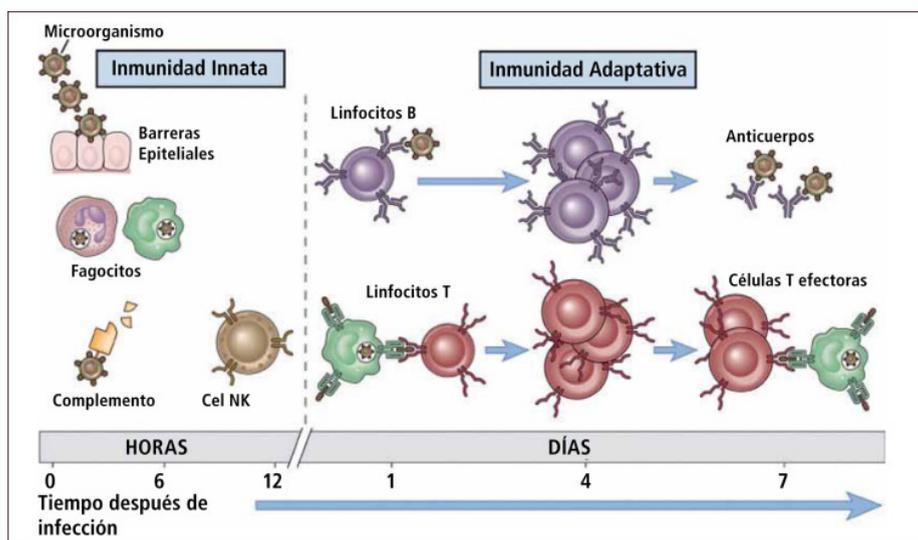


Figura 21. Respuesta inmunitaria innata y adquirida

Desde el punto de vista inmunológico, interesa conocer el ciclo de replicación viral, para prever las oportunidades que tienen los diferentes mecanismos inmunitarios para interactuar con la partícula viral, con las células infectadas o con ambas. Normalmente, el ciclo de replica-

ción viral comienza por la unión del virus libre a la célula del hospedador a través de receptores específicos (adsorción), estos receptores son los que marcan el tropismo y la especificidad de la infección. Una vez en la célula, el virus elimina su cubierta dejando su ácido nucleico libre (desnudamiento), para iniciar el proceso de replicación vírica. En esta fase, la síntesis de proteínas celulares se inhibe y solamente se procesa la información genética del virus. Los mecanismos que actúan en esta fase dependen del tipo de ácido nucleico del virus (ADN o ARN).

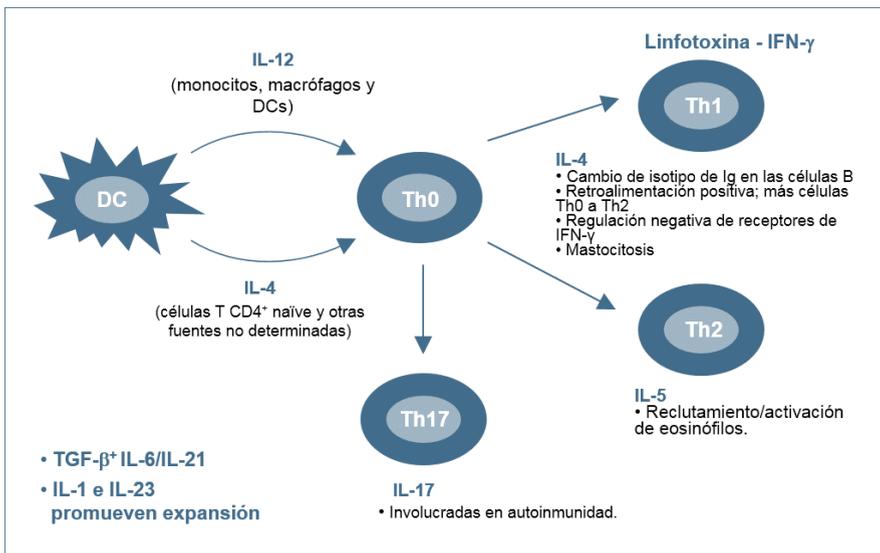


Figura 22. Patrones de citocinas de una célula dendrítica

En el caso de los virus ADN, se produce una replicación, formando un ADN viral nuevo. El ADN viral nuevo, pasa a ARN viral, mediante transcripción, posteriormente mediante traducción, generará las diferentes proteínas virales y seguidamente el ensamblaje viral. En el caso de los virus ARN, no hace falta la transcripción, pasando directamente el ARN viral nuevo a la producción de las proteínas. Este mecanismo de replicación de ARN es diferente para los retrovirus, los cuales, a partir del ARN viral, mediante una transcriptasa inversa, forman ADN viral que se une al genoma celular, a partir del cual comienzan las diferentes fases de replicación.

En las fases iniciales de una infección viral los factores del virus tales como el tamaño, la ruta, la composición genética del inóculo y la tasa de replicación viral, determinan la cinética por la cual las células del hospedador que han sido infectadas inducen una respuesta inmunitaria. De este modo, el estudio de las interacciones entre los virus y el sistema inmunitario es muy complicado y controversial, ya que estos tienen la propiedad de ser inmunógenos complejos, además de que requieren de las células del hospedador para replicarse y de esta manera estimular una respuesta inmunitaria tanto celular como humoral, que finalmente influirán sobre el resultado de la infección. Tal es el caso de los virus de las hepatitis y de la inmunodeficiencia humana (VIH), que tienen la capacidad de irrumpir procesos metabólicos celulares durante su propia replicación, gracias a sus factores de virulencia, particularmente el VIH, donde las características clínicas de la enfermedad podrían deberse a la respuesta inmunitaria del hospedador hacia estos agentes virales. Así, la interacción entre virus y hospedador puede llevar a una variedad de resultados que incluyen la infección aguda, el desarrollo de infecciones persistentes sean crónicas o latentes, además de procesos de oncogénesis.

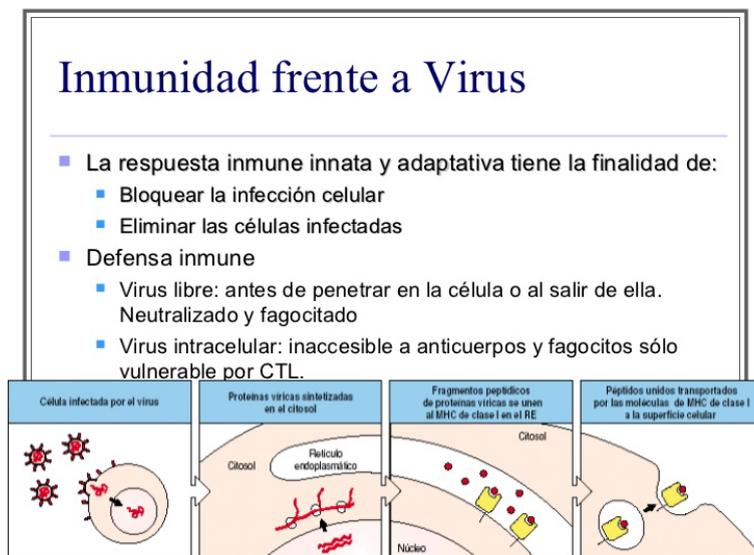


Figura 23. Respuesta inmunitaria frente a los virus

## RESPUESTA INMUNITARIA ANTIVIRAL

Los virus son organismos intracelulares obligatorios, ya que no tienen metabolismo propio. Esta característica exige al sistema inmunitario a poner en marcha sus mecanismos más especializados para reconocer y eliminar, tanto a las partículas virales libres, como a las células infectadas. Durante una infección viral, el hospedador virgen e inmunológicamente activo es capaz de desarrollar a los pocos días luego de la infección viral, una serie de estrategias controladas por una gran cantidad de eventos fisiológicos complejos, que evitan la entrada del virus a su célula hospedadora, la replicación viral y la diseminación de los viriones recién formados. Para este fin, el hospedador activa a los elementos de la inmunidad innata, principalmente a las células NK. Posteriormente, activa al sistema inmunitario adaptativo donde participan los linfocitos T específicos para el virus y la producción de anticuerpos, que cumplen una función importante en la prevención de la infección de nuevas células por viriones libres, en la eliminación de partículas virales extracelulares y células infectadas con los virus, a través de su participación en los procesos de citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos (ADCC).

De esta manera, el balance obtenido entre la propiedad del virus para replicarse y la capacidad del hospedador para eliminar al virus durante las fases tempranas de la infección, determina el período necesario para evitar la infección y el daño tisular posterior. Sin embargo, una respuesta inmunitaria ineficaz pudiera ser el resultado de muchos factores que pueden incluir la tolerancia neonatal, agotamiento del sistema inmunitario por altas cargas virales, infección de sitios inmunoprivilegiados, modulación de moléculas de superficie que participan en el reconocimiento de células infectadas, supresión inmunitaria y producción alterada de citocinas.

Por todo lo anterior, la generación de una respuesta inmunitaria efectiva requiere de activación y expansión rápida de los linfocitos antígeno específicos, seguido por una disminución precipitada

en el número de estas células, estableciendo el mantenimiento de linfocitos con una memoria muy prolongada contra el antígeno que ha sido eliminado. El desarrollo de una respuesta inmunitaria normal que culmina con la formación de células efectoras específicas ha sido ampliamente estudiado, y se ha demostrado que se requiere de una compleja red de contactos celulares y diversos estímulos provenientes de un amplio número de citocinas liberadas al medio. Todos estos estudios han probado que las señales inhibitorias, así como también las señales de activación, son factores biológicos comunes en todas las células del sistema inmunitario y está claro que el balance entre la coestimulación positiva y la inhibición, juega un papel crítico en el desarrollo de una respuesta inmunitaria efectiva y en el mantenimiento de la homeostasis del sistema inmunitario. Sin embargo, la regulación y la integración de estas señales deben ser bien dilucidadas.

Por otra parte, los factores constitucionales controlados genéticamente que proporcionan al hospedador o a algunas de sus células la característica de la no permisividad, desempeñan un papel preponderante sobre la vulnerabilidad frente a infecciones virales. A pesar de que en algunos individuos los mecanismos de inmunidad innata y humoral pueden eliminar a los agentes virales, en otros, el virus se introduce dentro de diversos órganos y tejidos sobre los cuales tiene un tropismo particular con la finalidad de poderse replicar; por ejemplo, el virus de la hepatitis B (VHB), cuya afinidad es principalmente por el hígado y el VIH, que infecta principalmente linfocitos T CD4+ y macrófagos. Así, los virus evitan ser reconocidos por el sistema inmunitario del hospedador a través de la latencia o desarrollando una serie de estrategias evasivas, que en algunos casos puede inducir una infección persistente que puede ser letal, toda vez que los mecanismos celulares de defensa centrados en la participación de los linfocitos T, no sean capaces de destruir el virus .

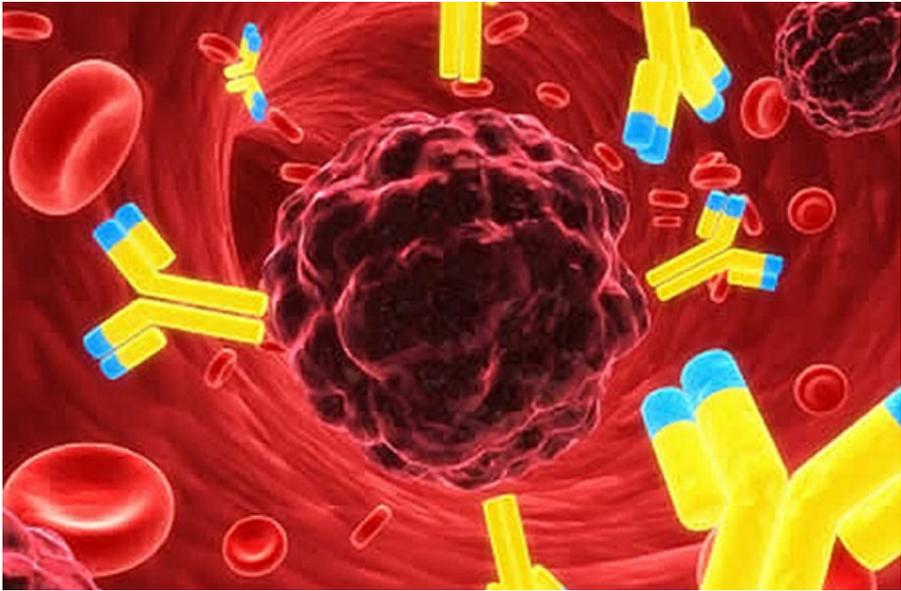


Figura 24. Respuesta inmunitaria humoral frente a los virus

## **FISIOLOGÍA DE LA RESPUESTA INMUNITARIA DURANTE LAS INFECCIONES VIRALES**

Desde un punto de vista didáctico es conveniente dividir la respuesta inmunitaria en inespecífica o innata y adaptativa, teniendo en cuenta, sin embargo, que una no puede desligarse de la otra. En los hospedadores infectados, antes de que los componentes específicos de la respuesta inmunitaria sean activados, existe un período de latencia de algunos días posteriores a la infección. Es particularmente durante este período que la respuesta inespecífica a la infección se hace aparente y puede en muchos casos limitar la replicación viral. La respuesta inmunitaria innata está presente en todos los organismos pluricelulares y se caracteriza por ser más rápida que la inmunitaria adaptativa, aunque no tiene memoria inmunitaria, sin embargo, cobra importancia al ser muy efectiva y establecer las bases para la respuesta adaptativa.

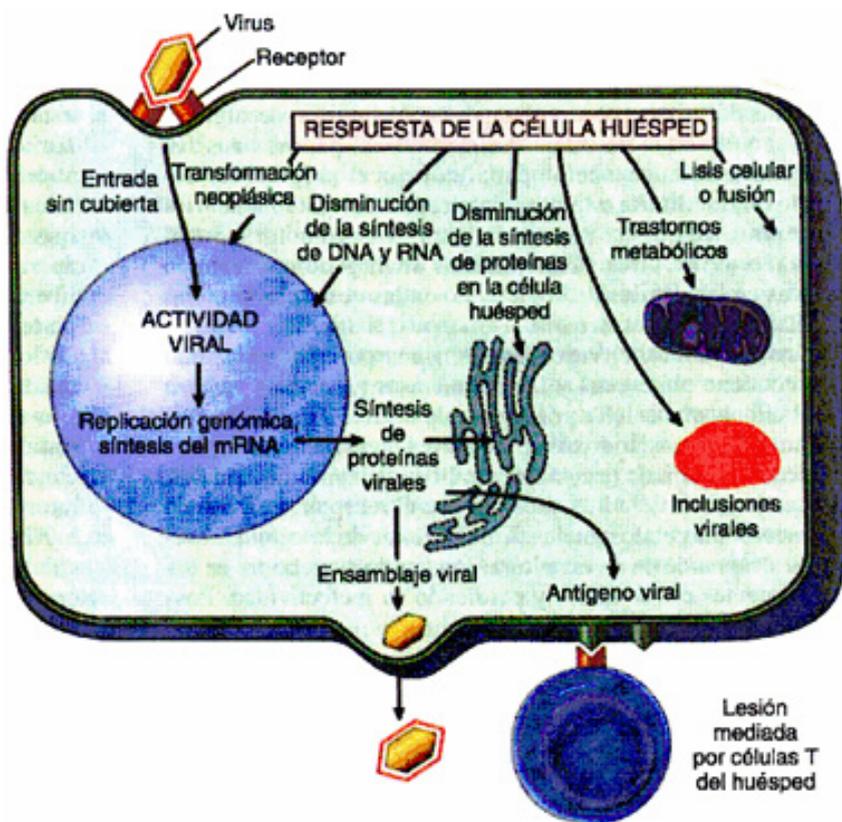


Figura 25. Fisiología de la respuesta inmunitaria

El sistema inmunitario innato se encarga de prevenir la entrada de los agentes virales a través de: barreras físicas como la piel, mucosas y su constante descamación o recambio celular, y barreras químicas como las secreciones gástricas, cerumen, moco y la flora normal residente, entre otras. El establecimiento de infecciones virales, procede una vez que las barreras naturales ya no pueden contener la invasión por el patógeno. La detección de agentes extraños que logran penetrar dichas barreras depende de los llamados receptores para reconocimiento de patrones (PRR), de los cuales forman parte los receptores tipo Toll (TLR), que distinguen un grupo de moléculas comunes y conservadas en varios grupos de microorganismos, llamados patrones moleculares asociados a patógenos (PAMPs).

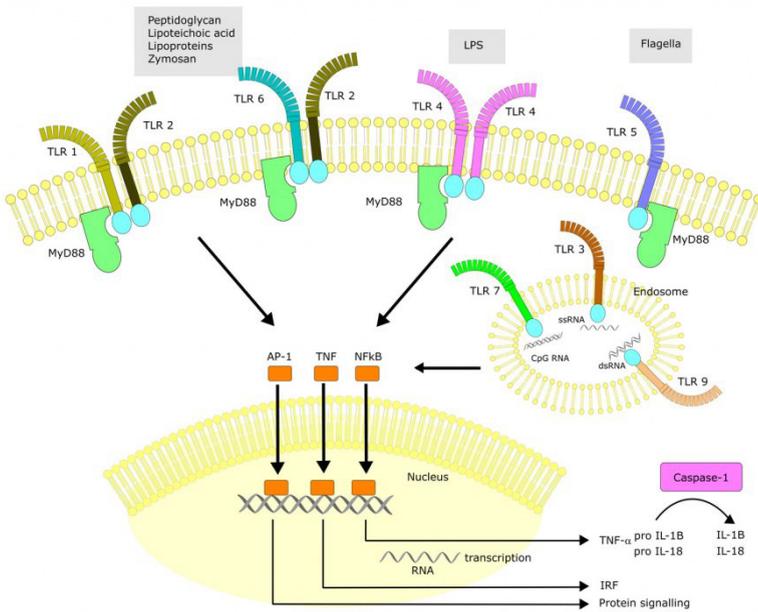


Figura 26. Patrón de reconocimiento de patógenos

En el humano se han descrito hasta ahora 10 tipos diferentes de TLR; de esta familia TLR 1, 2, 4, 5 y 6, tienen especificidad principalmente hacia productos bacterianos expresados en la superficie celular, mientras que TLR 3, 7, 8, y 9 participan predominantemente en la identificación de virus y ácidos nucleicos y se ubican fundamentalmente en compartimientos intracelulares. La estimulación de los TLR por los PAMPs media el reclutamiento de las células a los tejidos al inducir la expresión de moléculas de adhesión, incrementar moléculas coestimuladoras, y liberar citocinas y quimiocinas. Inicialmente se pensó que TLR 3 era el principal receptor involucrado en el reconocimiento de virus en replicación, por interactuar con ARN de doble cadena, sin embargo, recientemente se ha demostrado la participación de otros miembros de esta familia en la identificación de partículas virales, tal es el caso de TLR 7 que interactúa con el ARN del virus de la influenza y del VIH, promoviendo la liberación de interferón (IFN) y citocinas pro-inflamatorias. Como se muestra en la figura, la interacción de un antígeno con su TLR respectivo, inicia una cascada de

señalización que genera respuestas que involucran cambios directos en la respuesta celular, producción de citocinas proinflamatorias que causan efectos autocrinos secundarios sobre las células que los producen, efectos paracrinos sobre las células vecinas y efectos sistémicos sobre células distantes. Sin embargo, hay que destacar que para que ocurran los mecanismos efectores de la respuesta inmunitaria innata frente a infecciones virales mediados por TLRs, debe tener lugar la participación directa de ciertas células del sistema inmunitario innato, como son las células presentadoras de antígenos (APCs). Las APCs son las encargadas de capturar los antígenos circulantes del medio, internalizarlos, procesarlos y presentarlos de forma adecuada unidos al complejo mayor de histocompatibilidad (MHC) de clase II, para que sean reconocidos por los linfocitos T colaboradores (Th). Entre ellas están los monocitos circulantes y los macrófagos, las células dendríticas, las células de Langerhans, las células de Kupffer, entre otras.

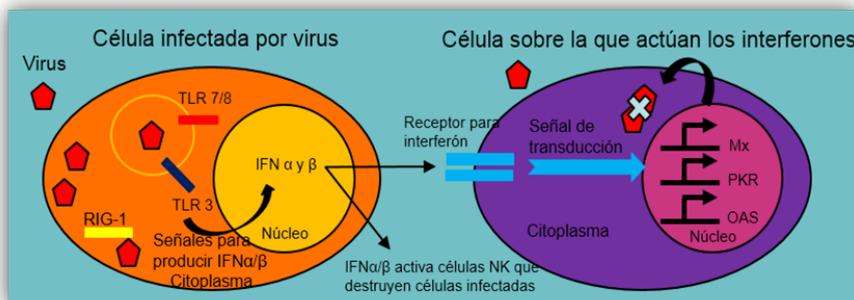


Figura 27. Activación de un Linfocito ante un virus

En un sentido más amplio, el término APCs también agrupa al resto de las células nucleadas del organismo, puesto que todas ellas son capaces de expresar moléculas del MHC de clase I y en caso de ser infectadas por un virus, son aptas de incorporar a ellas péptidos derivados de sus proteínas, para presentar el conjunto al sistema inmunitario y que éste determine si estas células deben o no ser eliminadas. Las células dendríticas son conocidas también por su habilidad

para expresar gran variedad de TLRs, lo que les permite detectar la presencia de agentes virales, induciendo una diversidad de respuestas en estas células cuando se encuentran con el patógeno. Los cambios celulares más importantes son la expresión sobre su superficie de moléculas coestimuladoras tales como CD80 y CD86. La unión de los TLRs con los patógenos virales, también induce la producción de varias quimiocinas como IL-8 y las citocinas proinflamatorias interleucina (IL)-1 e IL-12.

### **ACTIVACIÓN DE LOS RECEPTORES TIPO TOLL EN LA RESPUESTA INMUNE INNATA**

Una familia importante de PRR es la TLRs, que se expresa en la superficie celular o en endosomas. Los TLRs de superficie que participan en la detección viral reconocen las proteínas de la envoltura viral, mientras que los TLRs intracelular reconoce la función nuclear de los ácidos que están presentes en las partículas virales o se producen durante la replicación viral. Varios TLRs han sido implicados en el reconocimiento de varios flavivirus, entre ellos, TLR3 en el virus de la hepatitis C, virus de la fiebre amarilla y virus del Nilo occidental; y TLR7 en el virus de la fiebre amarilla. Estudios recientes muestran evidencias de que tanto TLR3 como TLR7 están implicados en el reconocimiento inmunitario innato de DENV.

En este sentido es importante destacar que en general los TLR tienen una vía de señalización común que se inicia por el reclutamiento de proteínas adaptadoras tales como MyD88 (común en todos los TLRs), TIRAP (proteína asociada a TIR o receptor IL-1-, reclutada principalmente por TLR 3 y 4, al dominio intracelular TIR, seguido por eventos de fosforilación y desfosforilación de proteínas intracelulares, que conduce a la activación del factor de transcripción NF- $\kappa$ B, el cual finalmente activa la transcripción de genes involucrados en la defensa del hospedador frente a infecciones virales (Figura 28).

Otros tipos celulares que ejercen funciones importantes para la limitación del proceso infeccioso en periodos tempranos, son los

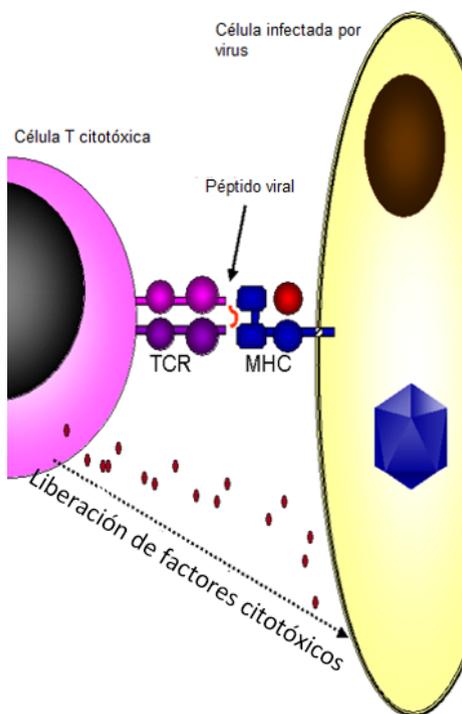


Figura 28. Activación de un Linfocito T CD8+ o Citotóxico ante una célula infectada por virus

granulocitos principalmente los leucocitos polimorfonucleares neutrófilos que expresan todos los TLR, excepto TLR 3, las células NK y los linfocitos T con fenotipo NK (NKT), ya que son células que pueden ser reclutadas rápidamente y activadas en el sitio de la infección. Estas células pueden participar en la respuesta antiviral directamente destruyendo las células infectadas o produciendo citocinas antivirales y óxido nítrico, e indirectamente produciendo quimiocinas que reclutan más células inflamatorias dentro del tejido infectado, o mediante la producción de citocinas inmunomoduladoras las cuales capacitan a la respuesta inmunitaria adaptativa para reconocer células infectadas y cumplir con sus funciones efectoras antivirales. Una de las citocinas producidas por las células inflamatorias en respuesta a patógenos virales es la familia de IFNs.

## El sistema del interferón como agente antiviral

- Se producen en grandes cantidades luego de una infección viral e inhiben la replicación viral en la células infectada. El estado antiviral alcanza a las células vecinas. Modula crecimiento celular, diferenciación, apoptosis y respuestas innatas y adaptativas

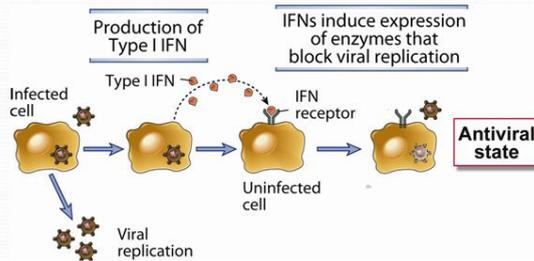


Figura 29. Patrón de producción de Interferones ante un virus

La producción de IFN en respuesta a la activación viral mediada a través de TLRs por un activador viral, es esencial para muchas actividades importantes de las células del sistema inmunitario innato, incluyendo las células dendríticas y los macrófagos. Estas citocinas son producidas por las células NK, por otras células del sistema inmunitario innato y por las células que han sido infectadas por algunos virus. El IFN es conocido por su propiedad de bloquear o inhibir las infecciones por virus, además de frenar la proliferación celular y modular la respuesta inmunitaria. Estas propiedades se ejercen por mecanismos similares y le confieren acción terapéutica. En este sentido, la activación de las células NK se constituye como el primer mecanismo que contribuye a disminuir los títulos elevados de carga viral por intermedio de IFN- secretados, producto de la activación de estas células. Otro evento muy importante es la inducción de IFNs de tipo 1. Aunque la mayoría de las células pueden producir este tipo de IFNs, existe un tipo especializado de células llamadas células dendríticas

plasmocitoides que producen 100 veces más de estas citocinas que las llamadas células naturales productoras de IFN.

Por otro lado, los IFNs pueden incrementar la expresión de moléculas del MHC de clase I y II y de moléculas coestimuladoras sobre la superficie de las APC. Desde hace dos décadas el IFN- se ha utilizado en la terapia contra la infección por el VHB. Recientemente se ha puesto en evidencia que uno de los mecanismos de acción del IFN- para reducir la replicación del VHB, es a través del incremento en la expresión de MyD88, una proteína adaptadora que participa en la señalización vía TLR asociado con la activación del factor de transcripción NF- $\kappa$ B, esto probablemente induce la expresión de receptores de activación sobre células inmunocompetentes y la liberación de citocinas y quimiocinas proinflamatorias que participan en el control de la replicación viral. Tanto las células NK como las células NKT, cumplen con funciones muy importantes en la limitación de la infección viral.

Las células NK son linfocitos granulares grandes con una morfología característica que participan en la respuesta inmune por su capacidad para reconocer estructuras en las glicoproteínas de alto peso molecular que se expresan sobre la superficie de las células infectadas por virus. Dentro de las características principales de las células NK tenemos su capacidad de expresar glicoproteínas de superficie como CD2, CD16, CD56, CD57, CD11a/CD11b/CD18 y CD11c/CD18; además, secretan citocinas que incluyen IFN-, IL-1, IL-3 y GM-CSF. Sumado a la producción de IFN, las células NK tienen la capacidad de destruir células infectadas por virus sin que ocurra una presentación previa de antígenos virales por parte de las APCs, ya que las células NK se unen a carbohidratos presentes sobre la superficie de la célula infectada a través de sus receptores de superficie tipo lectina de la familia CD94. Alternativamente, las células NK lisan células infectadas por virus a través de mecanismos de ADCC, proceso que es llevado a cabo por la unión de moléculas de inmunoglobulinas específicas contra antígenos virales, a los receptores Fc de baja afinidad (CD16), presentes sobre la superficie de las células NK.

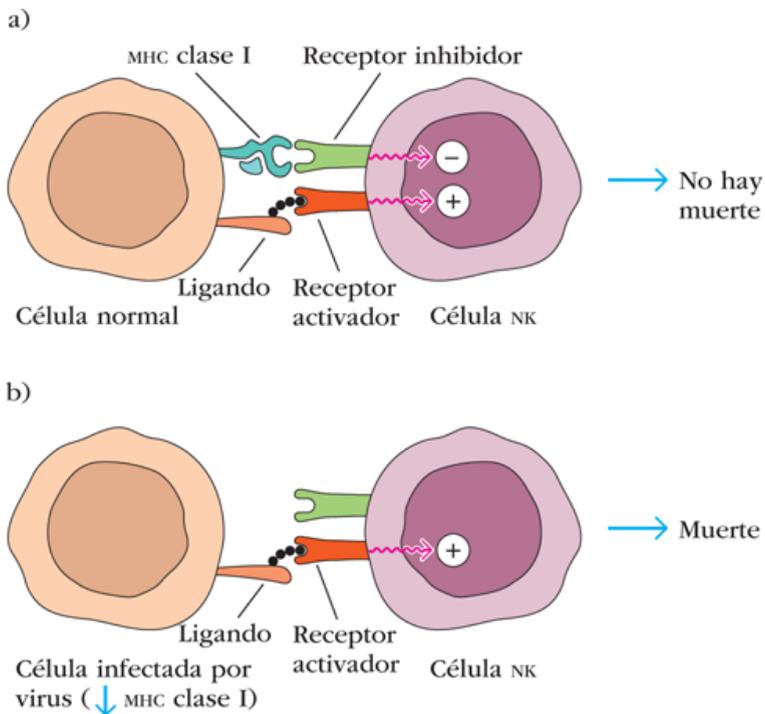


Figura 30. Activación de células NK ante un virus

Otra población celular que participa en la respuesta inmunitaria innata contra virus son las células NKT, las cuales constituyen una subpoblación de linfocitos que tiene importantes funciones reguladoras. Estas células expresan receptores de células NK, como el CD56, además del receptor de células T (TCR), lo que le da la característica fenotípica de células NKT. Las células NKT, también pueden ser seleccionadas por su capacidad de reconocer a la 2-microglobulina presente en CD1, que es una molécula de tipo MHC clase I, aunque este reconocimiento ocurre en ausencia de un péptido antigénico. Estas células también pueden reconocer glicolípidos de membrana de partículas virales involucrándolas de esta manera en la respuesta inmunitaria protectora antiviral.

Es importante destacar que las células NKT son funcionalmente distintas a las células NK, debido a su capacidad para producir citoci-

nas que influyen en la respuesta inmunitaria adaptativa, tales como IL-4, citocina que juega un papel crucial en la diferenciación de los linfocitos T ayudadores hacia el patrón de tipo Th<sub>2</sub>, por lo que pueden conectar de esta forma la respuesta inmunitaria innata con la respuesta inmunitaria adaptativa. Respuesta inmunitaria específica Una vez que el organismo es infectado por un virus, se inicia una respuesta inmunitaria antiviral específica dirigida por los linfocitos Th. Por lo tanto, este proceso va a depender de la vía de entrada del agente patógeno al organismo, de la concentración de los antígenos provenientes del patógeno y principalmente, de la afinidad de los péptidos derivados de estos antígenos por el MHC y el TCR. De tal manera, que el éxito de la respuesta inmunitaria específica está subordinado a la notable propiedad de los linfocitos derivados del timo o linfocitos T, para reconocer y discriminar entre una amplia variedad de antígenos extraños y generar entonces una respuesta inmunitaria efectiva que requiere de activación y expansión rápida de los linfocitos antígeno específicos, seguido por una disminución precipitada en el número de estas células, aunque estableciendo el mantenimiento de células con una memoria de larga duración contra el antígeno que ha sido eliminado.

Este proceso de activación de los linfocitos T, requiere de la participación de una serie de elementos, como son, por una parte, la formación de la estructura constituida por el MHC, el péptido antigénico y el TCR, y por la otra, la presencia de moléculas coestimuladoras, señales de fosforilación y desfosforilación, activación de factores de transcripción, proliferación y diferenciación. Los linfocitos B son un tipo particular de células que también actúan como APCs para los linfocitos T colaboradores y que poseen en su superficie anticuerpos que funcionan como receptores muy específicos para un determinado antígeno y que además están involucrados en los mecanismos de respuesta inmunitaria adaptativa. Este receptor hace que la participación de los linfocitos B sea mucho más eficiente y específica que el resto de las APCs y por esta razón, su respuesta se considera monoclonal.

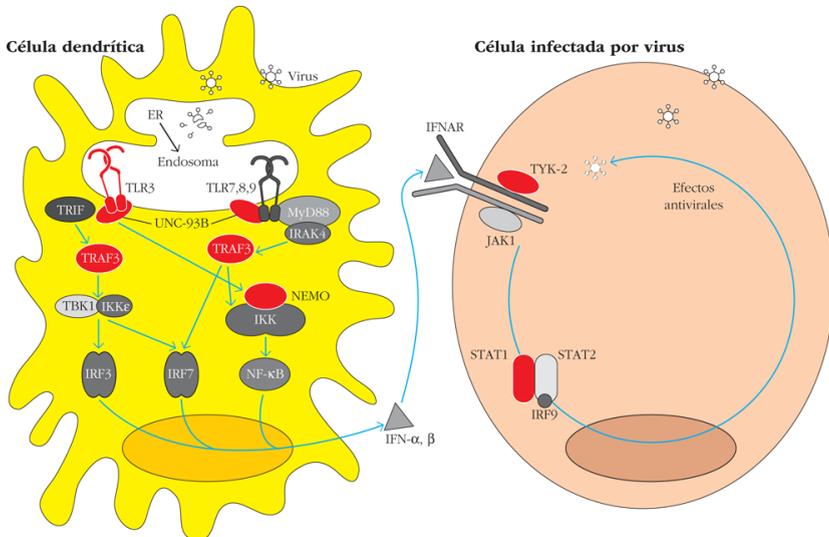


Figura 31. Activación de células dendríticas ante un virus

Los linfocitos B, según su estado de activación, se pueden clasificar en linfocitos B de memoria que mantienen su especificidad, aunque no estén activados, y las células plasmáticas que son los linfocitos B que una vez que han reconocido el antígeno, se diferencian para adquirir la capacidad de producir anticuerpos específicos. Como sucede con los linfocitos B, la diversidad del repertorio de las células T se determina por la capacidad de los progenitores de estas células en desarrollo, para reacomodar y modificar los genes que codifican para la expresión de sus receptores de antígenos. El conocimiento de la estructura y función del TCR, así como de los mecanismos involucrados en la activación y modulación de la respuesta desencadenada como consecuencia de la interacción con el antígeno, es esencial para comprender la complejidad de la respuesta inmunitaria que va a conducir a la eliminación del agente extraño que origina todo este proceso (Figura 32).

De acuerdo a lo anteriormente descrito, para que los linfocitos T cumplan con sus funciones efectoras necesitan ser activados, y como se observa en la figura, la respuesta adaptativa requiere de al menos dos señales para que ocurra de manera efectiva. La primera señal es

## B-cell activation

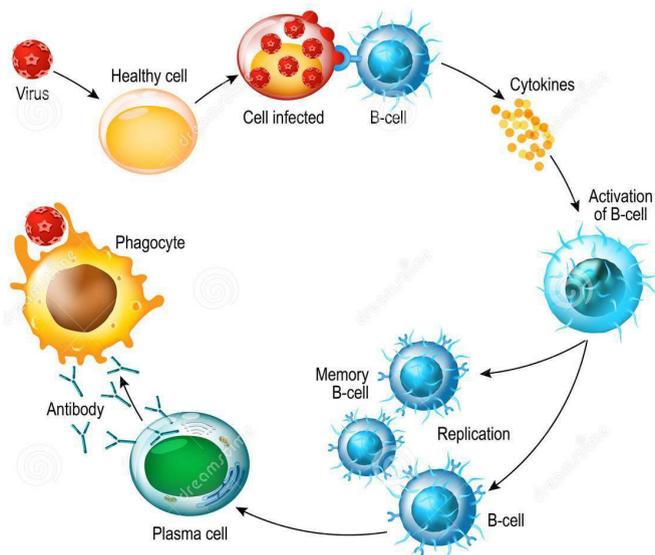


Figura 32. Activación de células B ante un virus

antígeno específica y es iniciada por la unión del TCR con su ligando específico formado por el péptido inmunogénico unido a la molécula transmembrana del MHC, lo cual induce la entrada del linfocito T al ciclo celular. La segunda señal denominada coestimuladora es crítica para la activación de los linfocitos T y por lo tanto es requerida para la producción de citocinas y la proliferación. La coestimulación es proporcionada por la unión específica de correceptores (CD4, CD8, CD2, CD11a/CD18, CD28, CD40L, CD30, CD26, CD27, CD43, CD44, CD45, CD82, 4-1BB, entre otros) a sus ligandos que normalmente se encuentran en la superficie de APCs profesionales (Figura 33).

Estas señales, como muchas otras que son generadas por la unión de receptores expresados sobre la superficie de los linfocitos, son transmitidas al compartimento intracelular, donde se inician cascadas de eventos bioquímicos que finalmente producen una

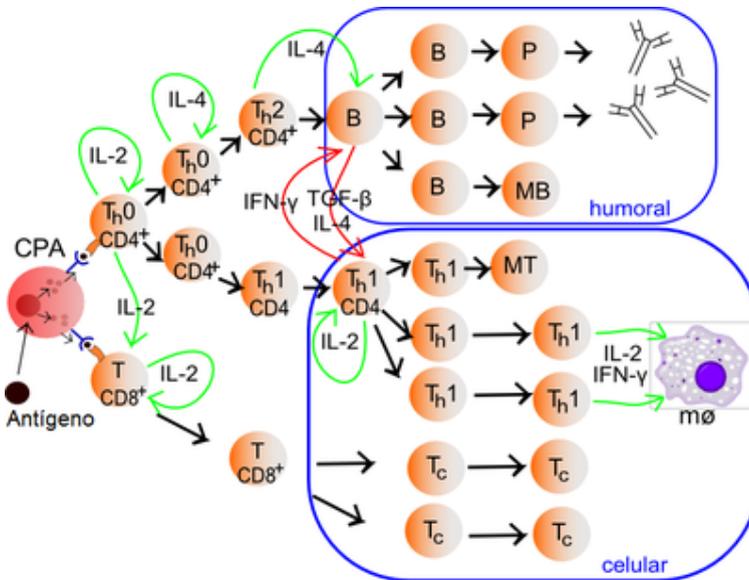


Figura 33.- Patrón de secreción de citocinas ante un antígeno viral

respuesta celular. Los dos eventos moleculares antes mencionados ocurren en el linfocito T ante la presencia de un agente extraño o patógeno. Así, la respuesta originada coordinadamente por estos dos sistemas de receptores independientes sobre los linfocitos T, ocurre como una verdadera consecuencia de la respuesta inmunitaria, donde la coestimulación finalmente induce señales de traducción intracelulares con la subsiguiente producción de IL-2 como factor de crecimiento autocrino, llevando a la generación de una población expandida de linfocitos T efectores. La versatilidad del TCR como un complejo de señalización implica que existe un intrincado enlace entre señales específicas y la adquisición de funciones efectoras por los linfocitos T. La estimulación de los linfocitos T a través del complejo TCR/CD3 en ausencia de señales coestimuladoras, conduce a una anergia clonal, a tolerancia antígeno específica y por ende al proceso de apoptosis *in vivo*.

Se ha descrito que la inducción de fosforilación de la tirosinasa p56lck, restringida a linfocitos T, es estrictamente dependiente

de la coestimulación a través de moléculas accesorias, donde se involucra a la fosfolipasa C (PLC), la proteincinasa C (PKC) y la familia de las MAPK. Un hecho crucial en la inmunología ha sido la identificación y caracterización de una familia extensa de moléculas relacionadas con los linfocitos T, denominadas proteínas coestimuladoras o correceptores, que originan diferentes formas de señales de coestimulación, pero que tienen como función final desencadenar una respuesta más efectiva que vaya más allá del tejido linfoide. La señal necesaria para la activación del linfocito T denominada de coestimulación, es independiente del receptor antigénico y es crítica para obtener una activación total, una proliferación celular sostenida, prevenir la anergia o la apoptosis, inducir diferenciación hacia el estado efector y de memoria, así como la cooperación célula-célula. Hasta la fecha se han identificado una gran variedad de estos correceptores y sus ligandos, como son CD4 y CD8; CD28, B7, CTLA-4, PD-1 y PD1L; coestimulador inducible (ICOS) y B7h; antígeno estable al calor (HSA); 4-1BB (CD137); CD40L (CD154) y CD40; OX40 (CD134); CD27; CD30; LIGHT; LFA-1 e ICAM; CD2, CD44 y SLAM; CD98 y CD26, entre otros, de los cuales describiremos algunos a continuación. Una de las moléculas coestimuladoras más estudiadas y mejor caracterizadas es CD28. CD28 es la molécula coestimuladora positiva por excelencia de los linfocitos T cuyos ligandos llamados B7.1 (CD80) y B7.2 (CD86), se encuentran sobre la superficie de las CPAs. Esta molécula coopera con la activación del linfocito T en presencia de la estimulación vía TCR, la cual por si sola es insuficiente para inducir proliferación. La actividad coestimuladora de CD28 ha sido demostrada ampliamente en modelos tanto in vitro como in vivo, mediante el entrecruzamiento de este receptor con anticuerpos monoclonales y también en experimentos en donde se bloquea su señalización en ratones normales y deficientes en CD28. Además de incrementar la proliferación de los linfocitos T y la producción de citocinas, la activación vía CD28 incrementa la supervivencia de los linfocitos T y puede prevenir la inducción de anergia.

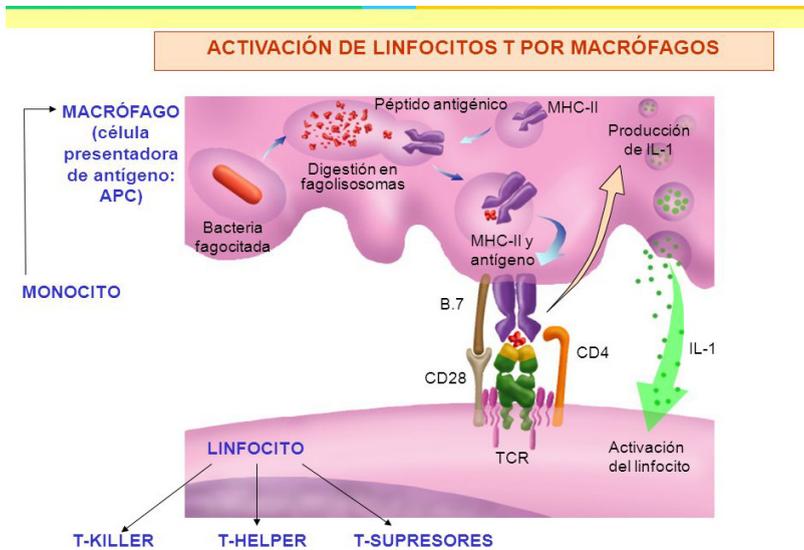


Figura 34. Activación de células T ante un virus

La coestimulación mediada por CD28 también incrementa en los linfocitos T la expresión de otras moléculas como la CD40L, la cual se ha demostrado que es vital para el complemento total de señales activadoras de los linfocitos T efectores, Como resultado de la activación de los linfocitos T, también se observa la expresión del ligando de CD40 (CD40L o CD154), molécula igualmente necesaria para la activación de estas células, que además actúa en la regulación positiva de B7 y esto puede amplificar aún más la respuesta del linfocito T al antígeno, a través de señales generadas vía CD28. Algunos estudios indican que la ausencia de esta molécula puede causar fallas para inducir la respuesta de linfocitos T CD4+. La interacción entre CD40 y CD40L es importante para la generación de una respuesta adecuada de linfocitos T colaboradores y linfocitos T citotóxicos (CTL), ya que CD40 media la inducción de elementos coestimuladores e inflamatorios después de la maduración de las APCs, resultando esto en una óptima expansión y supervivencia de los linfocitos T CD4+ y CD8+ efectores, como también consecuencias en la maduración y diferenciación de las células Th1. La interacción CD40-CD40L es importante para muchos procesos, así, en los linfocitos B actúa en

la proliferación y el cambio de isotipo de inmunoglobulina y además los rescata de la apoptosis. La señal coestimuladora dependiente de CD40L sobre la superficie del linfocito T, induce la actividad coestimuladora sobre células dendríticas mediante la interacción CD40-CD40L, con la subsiguiente producción de IL-12, IL-18 y otras citocinas por parte de los macrófagos y las células dendríticas.

Se ha evidenciado que la replicación de los patógenos y la estimulación antigénica, incrementan las señales del TCR y los niveles de expresión de las moléculas coestimuladoras. Diversos estudios han demostrado la importancia de la interacción entre: CD40-CD40L, OX40-OX40L, CD28-B7 y 41BB-41BBL, para la generación de una respuesta T específica durante una infección por virus. En este sentido se ha observado en modelos animales que la ausencia de CD28 frente a la infección aguda por diversos virus (virus de la coriomeningitis linfocítica, virus del herpes simple o HSV e influenza), conduce a una disminución de la respuesta inmune T CD4+ específica, asociado a una reducción en la producción de IL-2. Este mismo efecto se observa en los linfocitos T CD4+ en ausencia de CD40L. Adicionalmente, la interacción de CD40 y CD40L promueve la generación de CTL específicas contra virus. Una de las áreas que está actualmente en estudio, es como estas señales coestimuladoras son mantenidas en el caso de infecciones crónicas, como en las infecciones por VHB, virus de la hepatitis C (VHC) y VIH. En el caso de la infección por VIH se ha reportado una reducción de la expresión de CD28 en células T CD8+ específicas, incrementando así su umbral de activación para mediar funciones de citotoxicidad y producción de IFN $\gamma$ ; este efecto también es observado en los linfocitos T CD4 de los pacientes infectados.

## **DESARROLLO DE LAS SUBPOBLACIONES DE LINFOCITOS TH Y POLARIZACIÓN DE LA RESPUESTA INMUNITARIA**

Los linfocitos T han sido subdivididos en las poblaciones T CD4+ y T CD8+ por sus diferencias en el reconocimiento antigénico a nivel de superficie. Cada grupo tiene funciones únicas; así, los linfocitos T CD4+ tienen una función cooperadora para una respuesta humo-

ral con producción de anticuerpos, mientras que los T CD8+ ejercen una función citotóxica. Sin embargo, los linfocitos T CD4+ han sido correlacionados in vivo no solo con la producción de anticuerpos por los linfocitos B, sino también con la hipersensibilidad retardada y la citotoxicidad en infecciones virales y bacterianas. A los linfocitos T CD8+ también se les ha delineado no solo la función como célula efectora para destruir células blanco, sino como células ayudadoras en la citotoxicidad. Ha sido descrito ampliamente que las células T cooperadoras se diferencian en poblaciones Th1 y Th2 con funciones efectoras muy diferentes y definidas. Las células Th2 ayudan a la producción de inmunoglobulinas específicas. Las acciones de Th1 son citotoxicidad y supresión de la producción de inmunoglobulinas. Esta discriminación funcional es apoyada por los diferentes patrones de producción de citocinas, donde las células Th1, producen IL-2 e IFN-, factor estimulante de colonias de granulocitos y macrófagos (GM-CSF) y factor de necrosis tumoral (TNF), pero no producen IL-4 e IL-5. Las células Th2 producen IL-13, IL-4, IL-5 y GM-CSF pero no IL-2 o IFN. Además, estas subpoblaciones establecen un circuito de regulación autocrina, donde ambas Th1 y Th2 proliferan en respuesta a IL-2 a través de sus propios receptores de IL-2. Sin embargo, la IL-4 es un factor autocrino para Th2 con ayuda de IL-1 como un cofactor, pero no para Th1. Los mecanismos celulares y moleculares que llevan a la polarización de ambas poblaciones de linfocitos T, no están del todo esclarecidos. Sin embargo, algunos mecanismos alternativos sugieren que dicha polarización incluye la activación inducida por citocinas selectivas secretadas por linfocitos T comprometidos, o por la acción instructiva de citocinas sobre linfocitos T precursores no comprometidos. Así, los linfocitos T CD4+ de los subtipos Th1 y Th2 median inmunidad celular y humoral contra las infecciones causadas por patógenos. Existe igualmente un subtipo de linfocito T con funciones reguladoras, denominados Treg, que abarca una población de células anteriormente conocidas como linfocitos T supresores, capaces de bloquear o regular negativamente la respuesta de los linfocitos Th. Toda respuesta inmune en desarrollo debe ser detenida

en cierto límite. La concentración de anticuerpos o el número de células T efectoras incrementa progresivamente luego de la estimulación antigénica, pero sus niveles alcanzan rápidamente un máximo y eventualmente decrecen.

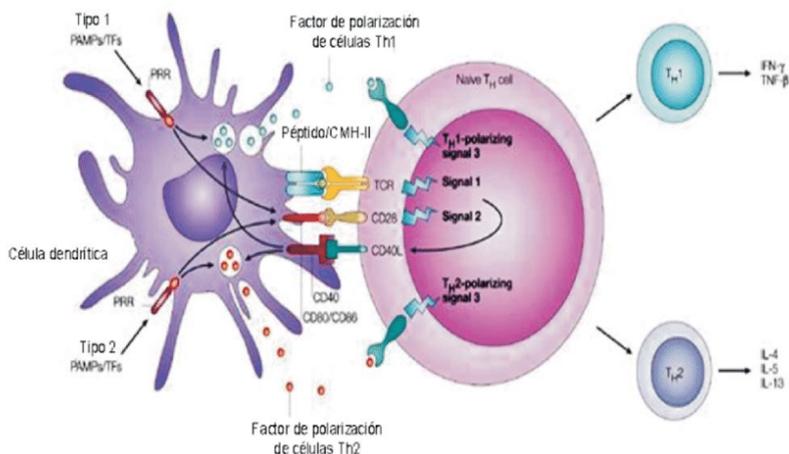


Figura 35. Polarización de células T

Generalmente, la mayor parte de la respuesta inmune está cualitativa y cuantitativamente adaptada para generar resultados óptimos. Por medio de mecanismos homeostáticos se controla la autoinmunidad natural, y el número de células T se mantiene en niveles constantes. Estos mecanismos son muchos y complejos, pero probablemente involucran la inmunorregulación. El concepto de células T supresoras surgió cuando se demostró que la estimulación del sistema inmune por antígenos timo-dependientes podía dar lugar a la generación de células T supresoras, que eran capaces de inhibir la diferenciación de células T colaboradoras o de células efectoras antígeno-específicas. Entre las células Treg CD4+ se pueden distinguir dos subtipos, que pueden ser diferenciadas por su especificidad y mecanismos efectoros. El primer grupo se genera durante el proceso de maduración de las células T, que da como resultado una población “natural” que sobrevive por largos períodos en la periferia para prevenir reacciones autoinmunes potencialmente patológicas. Las

células Treg CD4+CD25+ naturales ejercen sus efectos supresores a través del contacto celular por medio de receptores de membrana. Esta población representa entre el 5- 10% del total de células T CD4+ de sangre periférica. Las células Treg CD4+CD25+ aisladas de sangre fresca in vitro, son poco respondedoras a la activación alogénica y policlonal. Sin embargo, en cultivo son capaces de suprimir la proliferación de células T CD4+CD25- convencionales y dicha supresión ocurre después que estas células Treg son activadas a través de su TCR.

Una vez activadas, la capacidad inhibitoria de las células Treg CD4+CD25+ es inespecífica, y el mecanismo de supresión es independiente de la especificidad antigénica de la población de células T efectoras. Las células Treg CD4+CD25+ se caracterizan por la expresión de diferentes marcadores de activación entre los que se incluyen, el glucocorticoide inducido por la familia de receptores relacionados a TNFR (GITR), OX40 (CD134), L-selectina (CD62L) y CTLA-4 (CD152). Por otro lado, se ha postulado que el factor de crecimiento transformante (TGF)- unido a membrana es responsable de la actividad inhibitoria de las células Treg CD4+CD25+. Con respecto al desarrollo y función de las células Treg CD4+CD25+, recientemente se ha identificado que el factor de transcripción FoxP3 tiene una función muy importante. El segundo subtipo de células Treg es adaptativo y se desarrolla como consecuencia de la activación de células T maduras bajo condiciones subóptimas de antígeno y/o coestimulación. En contraste con las células Treg CD4+ CD25+ naturales, no requieren del contacto celular y su mecanismo supresor es mediado principalmente a través de citocinas supresoras solubles como IL-10 y TGF. Éstas son células T supresoras secundarias y se desarrollan a partir de células T CD4+CD25- convencionales en la periferia. Estas células Treg adaptativas a su vez se clasifican en dos subtipos, las células Tr1 y las Th3. Las células Tr1 se caracterizan por su capacidad para producir grandes cantidades de IL-10 y niveles bajos o moderados de TGF- $\beta$ , en tanto que las células Th3 producen preferencialmente TGF- $\beta$ . Finalmente, los dos subtipos de células Treg pueden funcionar en escenarios inmunes distintos, dependiendo del contexto donde

se exponga el antígeno, la naturaleza de la respuesta inmune y del repertorio de TCR de las células individuales.

En la infección por el VHC se ha demostrado recientemente que los linfocitos CD4+CD25+ constituyen una población altamente diferenciada y aparentemente juegan un papel importante en la persistencia viral, suprimiendo la respuesta de los linfocitos T anti-VHC específicos, mediante un mecanismo de contacto célula-célula. Asimismo, se ha reportado que las células CD4+CD25+ pueden modular la función y expansión de células CD8 VHB específicas en pacientes infectados. Se ha observado que pacientes con infección crónica por el VHB, tienen un incremento en el número total de las subpoblaciones CD4+CD25+ en respuesta a la estimulación específica con el antígeno core del VHB, en comparación con sujetos que han controlado espontáneamente la infección y sujetos sanos. El escenario observado, en donde prevalece un microambiente inhibitorio, podría explicar una activación ineficiente de poblaciones linfoides, reflejado en disminución antígeno específica de moléculas coestimuladoras y marcadores tempranos de activación. El desequilibrio en la respuesta inmunitaria ocasiona una incapacidad.

El control de las infecciones virales se ha relacionado exclusivamente con la destrucción antígeno específica de células infectadas, mediada por el sistema inmunitario. Sin embargo, estudios recientes han mostrado que las infecciones virales severas pueden ser controladas por mecanismos no citopáticos dependientes de citocinas, aunque es generalmente aceptado que la eliminación de los virus intracelulares por la respuesta inmunitaria, incluyendo los causantes de la hepatitis y la inmunodeficiencia humana, requiere de la destrucción de las células infectadas por los CTL, restringidos por el MHC clase I y que las células blanco sean destruidas por la vía de la perforina o por la vía dependiente de Fas. Esta sensibilidad relativa de estos virus a tales mecanismos de defensa depende no solo de las características de cada virus, sino también de la capacidad de la célula infectada para producir los factores antivirales intracelulares apropiados.

Dependiendo de la naturaleza del virus, las células infectadas pueden ser inducidas para producir citocinas antivirales y otros mecanismos de defensa tales como la apoptosis, inhibiendo uno o más pasos en el ciclo de vida del virus, limitando la extensión de la infección. Estas citocinas pueden formar parte de las quimiocinas, las cuales tienen el potencial para reclutar células inflamatorias dentro del tejido infectado y activar otras células para que cumplan funciones efectoras, como son las de regular la expresión de moléculas del MHC y aumentar el procesamiento y transporte de péptidos virales, para que sean presentados eficientemente por proteínas del MHC en la superficie de las células infectadas. En este particular la MIP-1a es una quimiocina importante que participa en la inflamación inducida por ciertas infecciones virales, ya que es quimiotáctica para células NK.

Otra quimiocina denominada MIG promueve la migración de linfocitos T activados previo a la acción ejercida por el IFN. De esta manera se demuestra la participación de ciertas quimiocinas en mediar mecanismos de defensa y supervivencia de tejidos afectados durante una infección viral. Por lo tanto, las citocinas juegan un papel esencial en la respuesta del hospedador contra las infecciones virales, no solamente por su actividad antiviral sino por coordinar todo un rango de respuestas designadas a limitar la infección, al generar cascadas de señalización. En las infecciones virales las citocinas son producidas luego de la interacción de proteínas virales con proteínas de superficie de las células efectoras. También algunas proteínas que no están presentes durante el proceso de infección pero que se producen durante el curso de la replicación viral, pueden afectar la señalización celular induciendo de esta manera la secreción de citocinas y finalmente, la acumulación de ARN viral induce señales que son capaces de generar una respuesta temprana del hospedador para eliminar el virus.

Luego de haber reconocido al péptido viral como extraño, el linfocito T colaborador específico se diferencia hacia: un patrón de respuesta Th1, para producir IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ , TGF- $\beta$  e IL-2; o un patrón

Th<sub>2</sub>, que produce las citocinas IL-4, IL-5, IL-6 e IL-9. En el caso de las respuestas del tipo Th<sub>1</sub>, se estimulará la diferenciación de los precursores de los CTL a CTL maduros y parcialmente también la respuesta humoral. Si la respuesta es Th<sub>2</sub>, se estimulará más específicamente la diferenciación de los linfocitos B a células plasmáticas y la producción de anticuerpos. Otras citocinas tales como IL-1 $\beta$ , IL-1 $\alpha$ , IL-12, IL-13 e IL-18 pueden contribuir indirectamente en las respuestas antivirales por su capacidad de modular varios aspectos de la respuesta inmunitaria, incluyendo la acción autocrina y paracrina del IFN.

En este sentido, muchos estudios han evidenciado que secundario a la infección viral, el patrón de citocinas secretado determina la naturaleza de la respuesta inmunitaria que es inducida, y donde la capacidad del hospedador a responder de la manera más apropiada y efectiva tiene un profundo efecto sobre si la infección viral es resuelta, persiste o se produce daño irreversible en el hospedador. La posibilidad de doble respuesta contra los virus podría explicar de alguna forma como el sistema inmunitario busca, con un patrón del tipo Th<sub>1</sub>, destruir aquellas células que ya han sido infectadas, mediante la activación de los CTL; por otro lado, la respuesta del tipo Th<sub>2</sub>, evita la propagación del virus entre las células, al inducir la producción de anticuerpos capaces de neutralizarlo u opsonizarlo, proceso que es mediado por los linfocitos B, tal y como ocurre en la infección por VHB. Durante algunas infecciones virales, los anticuerpos antivirales específicos, participantes activos de la respuesta inmunitaria humoral, contribuyen a la eliminación del virus bloqueando su entrada dentro de células susceptibles, removiendo viriones infecciosos de la circulación y previniendo la diseminación viral extracelular. Esto bajo un proceso complejo que involucra no solamente anticuerpos antivirales específicos contra cada tipo de virus, sino también al sistema de complemento y células fagocíticas. Los agregados de virus y anticuerpos neutralizantes y no neutralizantes pueden bloquear la interacción física de muchos virus con sus receptores, lo que puede igualmente activar el sistema de complemento para la lisis viral. La fracción cristizable (Fc) del anticuerpo unido al virus puede inte-

ractuar con los receptores Fc presentes sobre la superficie de células fagocíticas, acelerando la remoción de viriones de la circulación.

Por otro lado, los anticuerpos también pueden cumplir funciones antivirales que no involucran neutralización de viriones extracelulares. Así, la deposición de anticuerpos en la superficie de células infectadas puede prevenir la liberación de viriones por la célula infectada. El propósito del desarrollo de una respuesta inmune antiviral es tener la capacidad de detectar al virus y poder neutralizarlo con daño mínimo de los tejidos propios. Los virus han desarrollado varias estrategias de evasión de la respuesta inmune del hospedador para poder replicarse y asegurar su supervivencia. A continuación, se discuten brevemente algunas de estas tácticas.

## **ESTRATEGIAS VIRALES PARA EVADIR LA RESPUESTA INMUNITARIA**

Interferencia con la presentación antigénica a través de moléculas HLA de clase I

Disminución de la expresión de MHC de clase II

Disminución de la expresión de moléculas coestimuladoras

Evasión de la respuesta de CTL mediante variación antigénica

Evasión de la respuesta inmune a través de latencia viral

Interferencia con la apoptosis de células infectadas

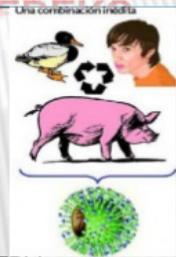
Debido a que las APCs presentan los antígenos virales en el contexto de moléculas MHC de clase I para activar la respuesta de CTL, los virus tratan de interferir con la respuesta antiviral disminuyendo la expresión de estas en la membrana celular de las APCs. Asimismo, los virus pueden disminuir la expresión de dichas moléculas en las células infectadas haciéndolas invisibles al ataque de los CTL específicos. La disminución en la expresión de MHC de clase I puede ser secundaria a: disminución de la transcripción de genes MHC, bloqueo de las funciones de la proteína TAP, disminución diferencial de la expresión de moléculas MHC de clase I, por ejemplo, disminuyendo la

expresión de HLA-A y -B pero no la de HLA-C y HLA-E, ligandos para receptores inhibitorios en NK. La expresión de MHC de clase II sobre la superficie de las APC es esencial para la presentación antigénica a los linfocitos T CD4+, lo cual se traduce en: activación y proliferación de linfocitos T cooperadores específicos. Los virus a su vez, codifican proteínas capaces de interferir con la expresión de proteínas MHC clase II que disminuyen la transcripción de sus genes, o alteran su tráfico normal dentro de la célula.

## COMO LOS VIRUS EVADEN LA RESPUESTA INMUNE DEL HOSPEDERO

Una combinación inusual

- **Infección latente**
  - HSV y VZV infecta rama ganglio dorsal
  - baja expresión de proteínas y RNA viral
- **Mutación (variación antigénica)**
  - Quasiespecies en HIV y HCV. Reordenantes
- **Citoquinas**
  - inhibición de IL-1 y TNF (virus pox)
  - producción de molécula homóloga de citoquina (EBV codifica IL-10), favorece respuesta Th2 (prod. Acs)
- **Inhibición del reconocimiento por el sistema inmune de células infectadas por virus**
  - células blanco disminuyen expresión HLA clase I (HSV, HIV)
  - Inhibición del procesamiento y presentación de antígenos virales (HSV, CMV, Adenovirus)
- **Destrucción de células del sistema inmune (HIV)**
- **Diseminación virus célula a célula**



Una variedad de moléculas coestimuladoras es expresada sobre la superficie de las CPA profesionales y otras células del hospedador. Estas moléculas interactúan con sus ligandos en el sistema inmune, lo que representa un elemento clave en la presentación de antígenos virales a los linfocitos T y B. Muchos virus inhiben la respuesta inmune del hospedador a nivel de la fase inductora y efectora, a través de una disminución de la expresión de moléculas coestimuladoras. Por ejemplo, Nef, Vpu y Gp160, proteínas del VIH que reducen la expresión de

CD4 y CD28 en células infectadas. Esta es una estrategia muy importante utilizada por virus ARN, los cuales poseen genomas muy pequeños y no pueden codificar múltiples proteínas de evasión. Está basada en los errores de transcripción que a menudo ejecuta la ARN polimerasa, y a una elevada tasa de replicación viral, lo que ocasiona mutaciones puntuales aleatorias, tanto en proteínas estructurales como no estructurales, lo que conduce a las llamadas “quasiespecies”, donde las CTL son incapaces de reconocer células infectadas, especialmente si las mutaciones han ocurrido en los epítomos que reconocen las CTL.

Estas mutaciones dirigen a las llamadas mutantes de escape, capaces de evadir la respuesta inmune del hospedador con mucha eficiencia. Un ejemplo clásico es el VHC y el VIH. Los virus pueden evadir la respuesta inmune del hospedador haciéndose latentes e invisibles al sistema inmune. Durante este periodo los virus pueden infectar células permisivas o semi permisivas del hospedador y expresar un número mínimo de genes virales, estrictamente necesarios para mantener el virus en las células del hospedador. Un ejemplo clásico de este tipo es el virus Epstein-Barr.

Los virus codifican varias proteínas para modular la apoptosis o muerte celular programada, específicamente: inhibiendo las caspasas, codificando homólogos de FLIP que impiden el reclutamiento de FLICE o caspasa 8 para iniciar la apoptosis en el complejo de muerte, disminución de la expresión de receptores de muerte en células infectadas, codificando homólogos de proteínas antiapoptóticas, inactivando proteínas proapoptóticas, inhibiendo la activación del protooncogen p53, interfiriendo con moléculas de señalización intracelular. El hospedador responde a las infecciones virales a través de la producción de una variedad de citocinas y quimiocinas. No es de sorprender, que los virus hayan desarrollado varias estrategias para enfrentar a estas proteínas. Estas tácticas incluyen: producción de inhibidores, de factores tipo “señuelo” o de versiones modificadas de estos mediadores solubles del hospedador. Por ejemplo, el virus de Epstein-Barr codifica una proteína llamada vIL-10 que es homóloga a la IL-10 humana inmunosupresora y capaz de inhibir la secreción de IFN- $\gamma$  por los monocitos.

## CONCLUSIONES

Los agentes virales causantes de infecciones en humanos, continúan siendo problemas de salud pública a nivel mundial, a pesar de que se ha avanzado considerablemente en la comprensión sobre el papel que juegan proteínas tanto virales como del hospedador en la susceptibilidad a la infección viral y por ende a la enfermedad. Una gran cantidad de esfuerzos para entender las bases moleculares de la interacción virus-hospedador han conducido a la identificación de productos de genes específicos que juegan un papel crucial en determinar el destino de la infección. Una gran variedad de agentes virales no son citopáticos por naturaleza, y la interacción del agente infeccioso con los elementos tanto innatos como adquiridos de la respuesta inmune, generan una respuesta inflamatoria con consecuencias que pueden ser autolimitadas o permanentes. Por otro lado, los virus han desarrollado una diversidad de estrategias para evadir la respuesta inmune del hospedador. Estas habilidades son tan diversas como los virus mismos, pero en general cada virus utiliza diferentes formas para evadir la respuesta inmune. Por ejemplo, los virus de ADN pueden codificar múltiples proteínas con blancos en diferentes elementos de la respuesta inmune, mientras que los virus ARN poseen como principal táctica, su gran variabilidad genética producto de errores en la transcripción de su material genético, lo que los hace invisibles a los elementos efectores de la respuesta inmune del hospedador. El entendimiento de la respuesta inmune activada como consecuencia del contacto entre los virus y el hospedador, y los mecanismos de evasión de la respuesta inmune utilizados por los patógenos virales, puede contribuir al desarrollo de estrategias terapéuticas racionales para prevenir y enfrentar la infección

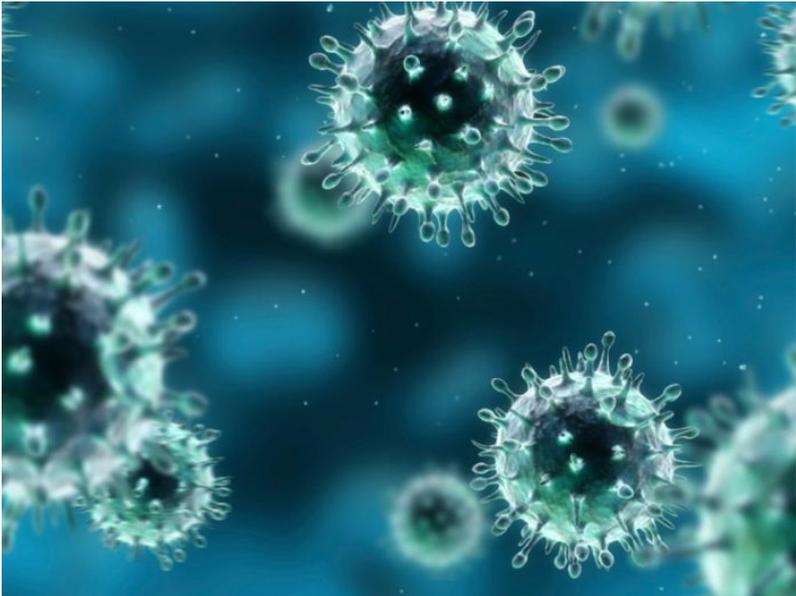
## BIBLIOGRAFÍA DEL CAPÍTULO

- Jain J, Kumar A, Narayanan V, Ramaswamy RS, Sathiyarajeswaran P, Shree Devi MS, Kannan M, Sunil S. Antiviral activity of ethanolic extract of Nilavembu Kudineer against dengue and chikungunya virus through *in vitro* evaluation. *J Ayurveda Integr Med.* 2019; pii: S0975-9476(18)30073-1. doi: 10.1016/j.jaim.2018.05.006.
- Chang,H; Jung,M; Dong,k; Seung-II,P; Ki-Up,L; Ghi, Su Kim. (2005). Lipoic Acid Inhibits TNF- $\alpha$ -Induced Apoptosis in Human Bone Marrow Stromal Cells. *Journal of bone and mineral research* volume 20, number 7, published online on march 7: 10.1359/jbmr.050302.
- Criado, C; Dabrowaska, M; Moya, M. (2009). Vitaminas y Antioxidantes. Servicio de Medicina Interna y urgencias. Hospital Puerta de Hierro Majadahonda. Madrid. Departamento de Medicina de la Universidad Autónoma de Madrid.
- Cunningham-Rundles; S. Nutrition and the mucosal immune system. *Curr Opin Gastroenterol*; 2005; 17:171-176.
- González-Torres MA; Betancourt M; Ortiz RM. Daño oxidativo y antioxidantes. *Bioquímica* 2000; 25: 3-9.
- Griffiths, G. J., Dubrez, L., Morgan, C. P., Jones, N. A., Whitehouse, J., Corfe, B. M., Dive, C., and Hickman, J. A. (1999). Cell damage-induced conformational changes of the proapoptotic protein bak in vivo precede the onset of apoptosis. *J Cell Biol*, 144(5), 903-914.
- Chancharoenthana W, Leelahavanichkul A, Udomkarnjananun S, Wattanatorn S, Avihingsanon Y, Praditpornsilpa K, Tungsanga K, Eiam-Ong S, Townamchai N. Hepatitis B Virus in Kidney Transplant Recipients: A Proposed Immunization Guideline from a 3-Year Follow-up Clinical Study. *Open Forum Infect Dis.* 2018 Dec 16;6(1): ofy342. doi: 10.1093/ofid/ofy342.
- Lin CC, Yong CC, Chen CL. Active vaccination to prevent de novo hepatitis B virus infection in liver transplantation. *World J Gastroenterol.* 2015 Oct 21; 21(39):1112-7.
- Klingström J, Smed-Sörensen A, Maleki KT, Solà-Riera C, Ahlm C, Björkström NK, Ljunggren HG. Innate and adaptive immune responses against human Puumala virus infection: Immunopathogenesis and

- suggestions for novel treatment strategies for severe hantavirus-associated syndromes. *J Intern Med.* 2019; doi: 10.1111/joim.12876.
- Mitjavila, MT; Lopez, D; Saiz MP. (2001). Los radicales libres y su implicación en procesos fisiológicos y patológicos. *NCP Documenta* 258, 5- 11.
- Vélez, S; Camargo, J; Correa, P; Anaya, J. (2004). Bases moleculares de la familia de la interleuquina-1. *REVISTA COLOMBIANA DE REUMATOLOGÍA*; 11 (1) 11-39.
- Valero N, Bonilla E, Maldonado M, Montero E; Áñez F, Espina LM, Meleán E, Nery A, Levy A, Bermúdez J. Incremento de IL-1  $\beta$ , IFN- $\gamma$  y TNF- $\alpha$  en suero y cerebro de ratones infectados con el virus de encefalitis equina venezolana. *Invest Clin.* 2008; 49(4):457-467.
- Akira S, Uematsu S, Takeuchi O. Pathogen recognition and innate immunity *Cell.* 2006;124(4):783–801.
- Vargas R, Ryder E, Diez- Ewald M, Mosquera J, Durán A, Valero N, Pedrañeñ A, Peña C, Fernández E. Increased c-reactive protein and decreased interleukin-2 content in serum from obese individuals with or without insulin resistance: associations with leukocyte count and insulin and adiponectin content. *Diabetes Metab Syndr.* 2015 Oct 3. pii: S1871-4021(15)30035-7. doi: 10.1016/j.dsx.2015.09.007.
- Durán A, Valero N, Mosquera J, Delgado L, Álvarez-Mon M, Torres M. Role of the myeloid differentiation primary response (myd88) and tir-domain-containing adapter-inducing interferon- $\beta$  (trif) pathways in dengue. *Life Sci* 2016; 162:33-40.
- Durán A, Álvarez-Mon M, Valero N. Papel de los receptores tipo toll y receptores para dominios de oligomerización para la unión a nucleótidos (nlrs) en las infecciones virales. *Invest Clin* 55(1):61-81. 2014.



# CAPÍTULO V





# LOS LÍPIDOS EN LA INFECCIÓN VIRAL

El inicio de la infección por un virus envuelto se basa en la unión a receptores celulares específicos, seguido por la fusión de la envoltura viral a la membrana plasmática de la célula, que conduce a alteraciones de los lípidos de éstas. Sobre todo, el colesterol que a la fecha se cree que desempeña un papel importante en las diferentes etapas del ciclo viral, incluyendo la entrada del virus a la célula huésped. La infectividad del virus de influenza (1), del virus del moquillo canino (2) y del virus de la hepatitis B (VHB) (3) es sensible al agotamiento de colesterol de la membrana viral, mientras que, el virus de la leucemia murina (4), del Ébola y del virus Marburg (5) son sensibles al agotamiento del colesterol de la membrana celular del huésped.

El colesterol de las membranas se requiere para la infección por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) (6,7), el virus de la gastroenteritis (8,9), el virus de la enfermedad de Borna (10) y los Herpesvirus (11-14); mientras que, la infección por el virus de la estomatitis vesicular, demostró ser independiente del agotamiento del colesterol celular y viral (15). Con respecto al DENV, los resultados sobre la función del colesterol celular para la infección son controvertidos. La entrada de DENV-1 y DENV-2 se encontró independiente del agotamiento de colesterol de la membrana plasmática de células C6/36 de mosquitos (16,17) así como en células Vero de mono verde africano (18) y en las células endoteliales humanas de tipo ECV304 (19,20).

Así mismo, las dislipidemias se refieren a un número de desórdenes lipídicos que básicamente incluyen altos niveles en suero de colesterol total, LDL, triglicéridos y bajos niveles de HDL-C. La prevalencia de dislipidemia a nivel mundial varía a través de los grupos poblacionales dependiendo de la raza, edad, factores genéticos, socioeconómicos, culturales y estilo de vida; prevalencia que ha mostrado un aumento con el desarrollo y urbanización de ciudades en el mundo (21).

Aguilar-Salinas y col., (22), demostraron una gran variación de los niveles sanguíneos de lípidos en las diferentes poblaciones del mundo, debido a factores genéticos, edad, sexo, raza, hábitos alimentarios, estilo de vida, estatus socio económico, entre otros; por lo que concluyen que es necesario que cada población determine sus propios valores de referencia y no se utilice los realizados en otras latitudes.

En Ecuador, la prevalencia de hipercolesterolemia medida en la población de 10 a 59 años, es el indicador que también se encuentra un aumento progresivo conforme se incrementa la edad. Los valores altos de colesterol total afectan al 24,5%. Entre la segunda y la quinta década, la prevalencia se triplica (17,0% a 51,1%) y entre la tercera y la quinta década es 1,7 veces más (29,9% a 51,1%). El HDL-C bajo afecta al 40,5% de la población de 10 a 59 años, mientras que los valores altos de LDL-C afecta al 20%, con tasas superiores en el rango de edad de 40 a 59 años. La hipertrigliceridemia alcanza al 28,7% del mismo rango de población. Toda esta información conforma un cuadro de dislipidemias alarmante por su dimensión en la población (23).

## LÍPIDOS Y VIRUS DENGUE (DENV)

Estudios transversales han mostrado diferencias en los niveles séricos de colesterol y de triglicéridos asociados con formas severas de DEN (24). De hecho, se ha descrito que las lipoproteínas desempeñan un papel fisiopatológico en la respuesta inmunitaria del huésped durante la infección severa por dengue (25). Más recientemente Duran y col., (26) demostraron una asociación entre alteraciones del perfil lipídico y la severidad de la infección por DENV, no obstante, no se estableció esta asociación en relación a los serotipos virales causantes de la infección.

Los flavivirus constituyen un género de la familia *Flaviviridae*. Incluye el virus del Nilo Occidental (WNV), el virus dengue (DENV), el virus de la fiebre amarilla (YFV), el virus de la encefalitis japonesa (JEV), el virus de la encefalitis transmitida por garrapatas (TBEV) y varios otros virus que conducen a una gran morbilidad y mortalidad en los

humanos. Para establecer la infección y la replicación en los hospedadores, los flavivirus han desarrollado una variedad de estrategias para modular las respuestas inmunitarias del hospedador. El dengue es una enfermedad mundial con 400 millones de infecciones anuales que pueden provocar un shock séptico y fiebre hemorrágica con sangrado interno. Estos síntomas son el resultado de la activación inmunitaria incontrolada. Los macrófagos y las células dendríticas son el objetivo principal del virus dengue (DENV) y la fuente celular de las citoquinas asociadas a esta activación inmune. Los macrófagos y las células dendríticas expresan varios receptores inmunes innatos que han sido implicados en la activación del DENV, de los cuales, CLEC5A, RIG-I y MDA5 son los más importantes. En particular, la activación de estos receptores tiene efectos profundos en las respuestas inmunitarias adaptativas contra DENV (27).

La infección por DENV se inicia con una succión de sangre de un mosquito infectado que inyecta el virus en la piel. Éste se disemina a través del cuerpo a través del sistema linfático antes de que el virus sea transmitido por la sangre con infección en el hígado y el bazo (28,29). La infección de células hematopoyéticas, en particular monocitos, células dendríticas (DC) y macrófagos, es esencial para la diseminación del virus (30).

La piel humana está revestida con numerosas células inmunes innatas de origen hematopoyético que detectan partículas invasoras de DENV utilizando receptores de reconocimiento de patógenos (PRR), incluidos los TLR, RLR y CLR (Figura 36: referencia 33). La activación de estos PRR por DENV conduce a la activación de vías de señalización intracelular que inducen una gran cantidad de citoquinas inflamatorias y la inmunidad antiviral protectora a través de la producción de IFN tipo I, incluidos el IFN- $\alpha$  y el IFN- $\beta$ . Aunque es protectora en la mayoría de los pacientes, se cree que la sobreactivación de estas respuestas inmunitarias es la base de DHF y DSS. Varios mediadores inflamatorios, incluidos TNF, IFN- $\gamma$  e IL-6, están vinculados a DHF y DSS (31,32). Por lo tanto, es clave entender la activación inmune de DENV para comprender la patogénesis de DENV.

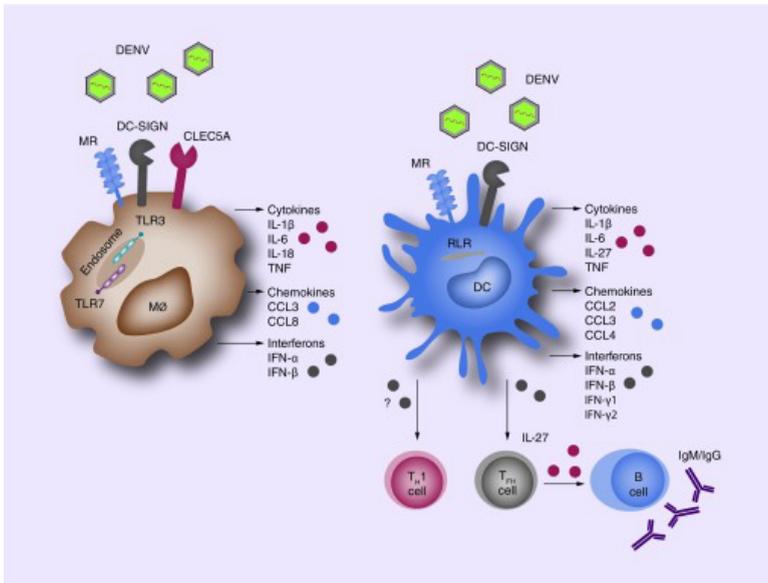


Figura 36. El reconocimiento innato de DENV está mediado por CLR de superficie celular, TLR y RLR, que se expresan principalmente por macrófagos y células dendríticas. La activación de estos receptores conduce a la producción de citoquinas, quimiocinas e interferones que resultan en la activación inmune de DENV. Además de los efectos locales, las CD activan las células T en los tejidos linfoides secundarios, que inducen respuestas inmunes sistémicas. Notable, los CD infectados con DENV controlan la diferenciación T-helper 1 (TH1). Las CD también afectan las respuestas de las células B al instruir a las células T auxiliares ingenuas hacia la diferenciación de las células T ayudantes del folículo (TFH) por la producción de IL-27. Estas células inducen la proliferación de células B, la producción de anticuerpos y el cambio de clase de isotipo. CD: célula dendrítica; DENV: virus dengue; Mφ: macrófago; MR: receptor de manosa.

Fuente: Sprokholt y col., (33).

Una familia importante de PRR es la TLR, que se expresa en la superficie celular o en endosomas. Los TLR de superficie que participan en la detección viral reconocen las proteínas de la envoltura viral, mientras que el TLR intracelular reconoce los ácidos nucleicos que están presentes en las partículas virales o se producen durante la replicación viral (34,35). Se ha demostrado que varios TLR desempeñan un papel importante en el reconocimiento de varios flavivirus, entre ellos, el TLR3 en el virus de la hepatitis C, el virus de la fiebre amarilla y el virus

del Nilo Occidental; y TLR7 en el virus de la fiebre amarilla (36-38). Estudios recientes muestran evidencia de que tanto TLR3 como TLR7 están involucrados en el reconocimiento inmune innato de DENV (39-41).

TLR3 se expresa en los compartimentos endosómicos de los leucocitos, diferentes poblaciones de DC y una variedad de células epiteliales (34,35). TLR3 reconoce el ARN de doble cadena, activando una vía intracelular mediada exclusivamente por el adaptador TRIF (34,35,42). TRIF recluta TBK1 y el complejo IKKε para la activación de los factores de transcripción IRF3 y IRF7, y RIP1 para la activación transcripcional de NFκB. IRF3 y IRF-7 participan en la producción de respuestas de IFN de tipo I que consisten en IFN-α e IFN-β, mientras que la activación de NFκB produce la producción de citoquinas inflamatorias que incluyen IL-1β, IL-6, IL-8 y TNF (43,44). Especialmente el IFN-α y el IFN-β juegan un papel crítico en las infecciones virales. Tanto IFN-α como IFN-β se unen a IFNα / βR activando una cascada de señalización descendente a través de JAK / STAT que induce más de 300 genes antivíricos estimulados con IFN (ISG) (45). Muchos de estos ISG tienen funciones antivirales e inhiben la replicación viral (Figura 37: referencia 33) (45,46).

La complejidad de la patogénesis de DENV ha retrasado el desarrollo de terapias efectivas o vacunas efectivas en su totalidad contra el DENV. Como resultado, el tratamiento de la infección por DENV es basado en terapias para reducir los síntomas ya que no hay tratamiento antiviral específico para DENV. Los tratamientos antivirales efectivos a menudo involucran objetivos moleculares que incluyen inhibidores de la quinasa, bloqueadores de receptores y activación de respuestas inmunitarias específicas mediante el uso de moléculas de señalización recombinantes, como el uso de IFN tipo I en el tratamiento del virus de la hepatitis C. El desarrollo de tales tratamientos para DENV requiere una comprensión detallada de los mecanismos moleculares en la patogénesis DENV en las áreas de interacciones huésped-virus y cascadas de señalización intracelular asociadas para identificar nuevas dianas terapéuticas para controlar la infección por DENV (Figura 38: referencia 33) (47-50).

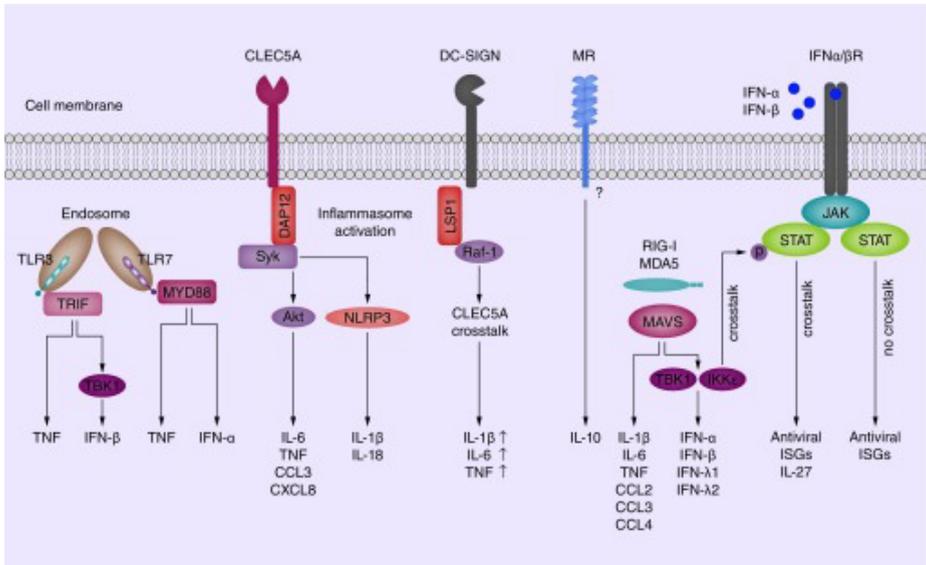


Figura 37. La señalización intracelular por PRR conduce a respuestas de quimiocinas, citoquinas e interferones. Endosomal TLR3 y TLR7 inducen dos vías de señalización que conducen a respuestas de IFN de tipo I y de citoquinas. Aunque TLR3 y TLR7 inducen respuestas similares contra DENV, usan diferentes moléculas adaptadoras para inducir la expresión génica. TLR3 se asocia con TRIF, mientras que TLR7 forma un complejo con MYD88. CLEC5A es un potente inductor de citoquinas a través de las moléculas adaptadoras DAP10 y DAP12. Esto conduce a la activación de las quinasas Syk y Akt y la inducción de IL-6, TNF, CCL3 y CXCL8. Además, CLEC5A activa los inflamasomas NLRP3, que procesan pro IL-1β e IL-18 para convertirlos en IL-1β e IL-18 madurados, respectivamente. La señalización DC-SIGN en respuesta a ligandos manosilados implica la proteína adaptadora LSP1 y la quinasa Raf-1. La activación de DC-SIGN modula la activación de NFκB a través de Raf-1 y posiblemente mejora la producción de IL-1β, IL-6 y TNF mediada por CLEC5A. La activación directa de MR conduce a la producción de IL-10, aunque no contiene un motivo de señalización conocido. Las señales RIG-I y MDA5 a través de la molécula adaptadora MAVS para inducir dos vías de señalización distintas. Una vía conduce a la expresión de IL-1β, IL-6, TNF, CCL2, CLL3, CLL4, mientras que la otra vía de señalización involucra a las cinasas TBK1 e IKKε para inducir IFN de tipo I y III. En particular, el IFN tipo I inducido por RLR desencadena la señalización IFNα / βR a través de JAK / STAT que es modulada por IKKε activada por RLR para inducir IL-27 además de ISG antivíricos. En ausencia de interferencia RLR-IFNα / βR, la señalización de IFNα / βR conduce a la inducción de ISG sin IL-27. ISGs: genes estimulados por IFN; MR: receptor de manosa

Fuente: Sprokholt y col., (33).

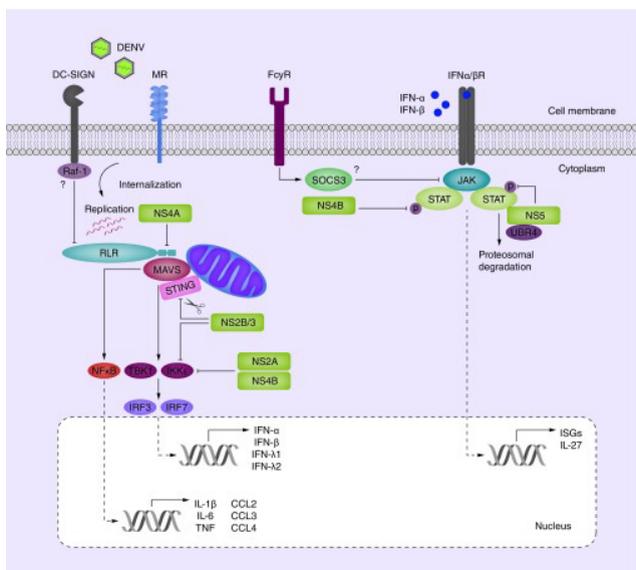


Figura 38. Evasión inmune por DENV. La evasión inmune de DENV por proteínas no estructurales (NS) ataca la señalización de RLR y la activación de IFN $\alpha$ - $\beta$ R. Después de la internalización, se inicia la replicación DENV, que es detectada por los sensores citoplasmáticos RIG-I y MDA5. Estos se asocian con la molécula adaptadora MAVS (y posiblemente con STING) para activar las quinasas TBK1 e IKK $\epsilon$ , lo que conduce a la activación del factor de transcripción IRF para respuestas de IFN de tipo I que consisten en IFN- $\alpha$  y IFN- $\beta$ . En paralelo, se activan los factores de transcripción NF $\kappa$ B que conducen a las respuestas de citoquinas y quimioquinas. El IFN de tipo I secretado desencadena la señalización de IFN $\alpha$  /  $\beta$ R dependiente de STAT1 y STAT2 que conduce a la inducción de ISG. Los pasos múltiples en este proceso son inhibidos por las proteínas NS de DENV. La asociación RIG-I-MAVS está inhibida por la unión de NS4A a MAVS. Además, la proteína adaptadora STING se degrada por NS2B / 3 que también inhibe la fosforilación de IKK $\epsilon$ . IKK $\epsilon$ , en combinación con TBK1, es un objetivo adicional de NS2A y NS4B para prevenir su fosforilación y activación a través de mecanismos desconocidos. La señalización IFN $\alpha$  /  $\beta$ R se dirige mediante la inhibición de la fosforilación de STAT1 por NS4B y STAT2 por NS5. Además, NS5 enruta STAT2 para la degradación proteosómica a través de la proteína huésped UBR4. Además, la activación de las vías antivirales posiblemente puede ser inhibida por los receptores del huésped. La activación de DC-SIGN puede inhibir la activación de RIG-I y MDA5 a través de la quinasa. Raf-1 y Fc $\gamma$ R pueden inhibir la señalización de IFN $\alpha$  /  $\beta$ R a través de la inhibición de JAK mediada por SOCS3. DENV: virus dengue; ISG: genes estimulados por interferón; MR: receptor de manosa.

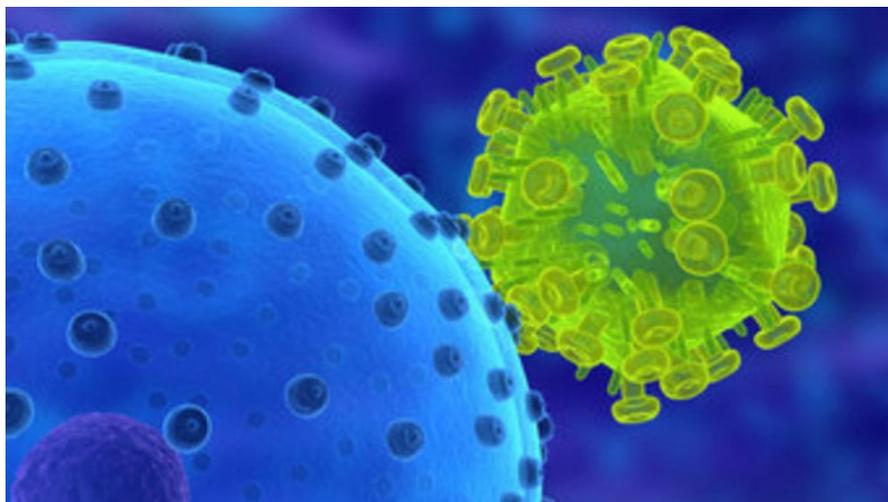
Fuente: Sprokholt y col., (33).

## LÍPIDOS Y VIRUS DE HEPATITIS

Las partículas del virus de la hepatitis C (VHC) detectadas en los sueros de pacientes infectados muestran formas heterogéneas de bajas densidades de flotación ( $<1.08$ ), lo que subraya su lipidación a través de la asociación con lipoproteínas que contienen apoB, que se propuso durante el ensamblaje o la secreción de hepatocitos infectados. Sin embargo, los mecanismos que inducen esta asociación siguen estando mal definidos y, curiosamente, la mayoría de las partículas de HCVcc secretadas por las células cultivadas exhiben una mayor densidad ( $> 1.08$ ) y no están / pobremente asociadas a la apoB.

En el estudio de Denolly y col., (51) se produjeron partículas de HCVcc de las cepas Jc1 o H77 de células de hepatoma Huh-7.5 cultivadas en condiciones estándar de suero fetal de ternera (FCS) al 10% en comparación con condiciones de suero libre o suero (HS) antes de analizar sus perfiles de densidad en comparación con el virus derivado de paciente. También se caracterizaron las partículas de HCVcc mutantes intercambiadas de tipo salvaje y Jc1 / H77 HVR1 libres de suero incubadas con tipo de suero o con lipoproteínas purificadas.

En comparación con las condiciones libres de suero o FCS, la producción con HS redistribuyó la mayoría de las partículas infecciosas de HCVcc a rangos de baja densidad ( $<1.08$ ) o de muy baja densidad ( $<1.04$ ). Además, la incubación a corto plazo con HS fue suficiente para cambiar las partículas físicas de HCVcc a fracciones de baja densidad, en formas dependientes del tiempo y la dosis, lo que aumentó su infectividad específica, promovió la asociación de apoB y provocó la resistencia a la neutralización. Además, en comparación con Jc1, detectamos niveles más altos de partículas infecciosas H77 HCVcc en fracciones de muy baja densidad, lo que podría atribuirse sin ambigüedad a las características específicas de la cepa de la secuencia HVRI. Finalmente, las tres clases de lipoproteínas, es decir, lipoproteínas de muy baja densidad, baja densidad y alta densidad, podrían inducir de forma sinérgica el cambio de baja densidad de las partículas del VHC; sin embargo, esto requirió factores de suero no lipídico adicional que incluye albúmina.



La asociación de partículas de VHC con lípidos puede ocurrir en el medio extracelular. El nivel de lipídación depende de la composición del suero, así como de las propiedades específicas de HVRI. Estas condiciones de cultivo simples permiten la producción de partículas infecciosas de VHC que se asemejan a las de los pacientes con infección crónica.

Las partículas de VHC pueden asociarse a la apoB y adquirir lípidos neutros después del egreso celular y, por lo tanto, de baja densidad de flotación. La región hipervariable 1 (HVR1) es un determinante viral importante de E2 que controla este proceso. Además de las lipoproteínas, los factores séricos específicos, incluida la albúmina, promueven la maduración extracelular de los viriones del VHC. La producción de HCVcc *in vitro* con medios de condiciones séricas definidas permite la producción de partículas infecciosas que se parecen a las de los pacientes con infección crónica (51) (Figura 39).

Los virus secuestran y modifican las funciones de la célula huésped para maximizar la proliferación viral. El virus de la hepatitis C (VHC) reorganiza el metabolismo de la célula huésped para producir estructuras de membrana especializadas y para modificar orgánulos como vesículas de membrana doble y gotitas de lípidos agrandadas (LD), lo que permite la replicación y el ensamblaje del virus. Sin em-

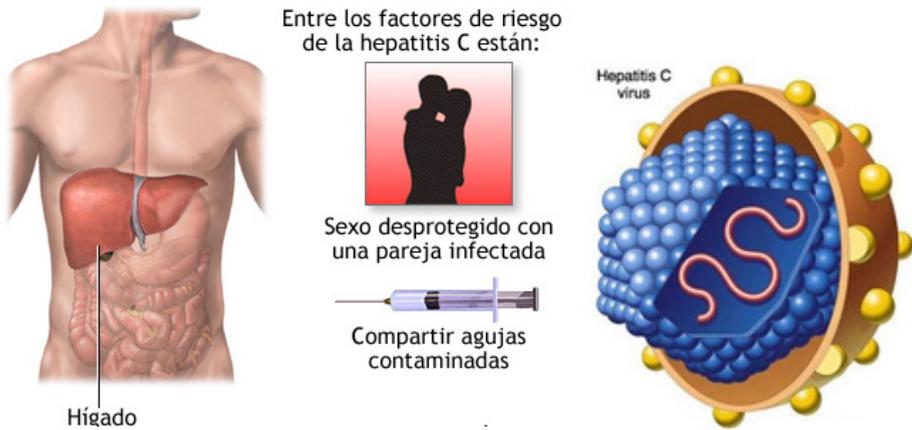


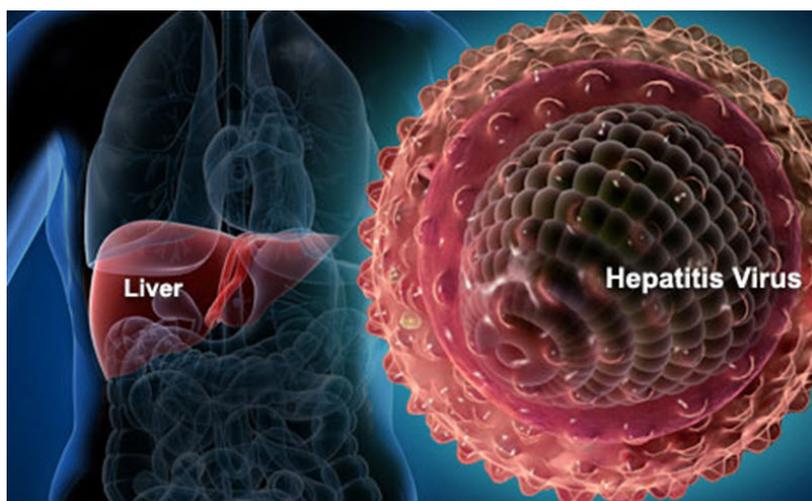
Figura 39. Mecanismos de transmisión de virus de Hepatitis C

bargo, las bases moleculares de estas interacciones huésped-VHC son en gran parte desconocidas. Utilizando una pantalla química, se demostró que el derivado de benzamida flutamida reduce la capacidad del huésped para producir VHC infeccioso. La flutamida interrumpió la formación de LD agrandados en las células infectadas por el VHC, eliminando así el ensamblaje del VHC. También se observó que el receptor de arilo hidrocarburo (AhR), un objetivo conocido de flutamida, desempeña un papel clave en la mediación de la acumulación de LD y la producción de HCV (52).

Esta función de AhR en la producción de lípidos también se observó en células Huh-7 no infectadas por el VHC y en hepatocitos humanos primarios, lo que sugiere que la señalización de AhR regula la acumulación de lípidos independientemente de la infección por el VHC. Además, se ha observado que una actividad posterior, la del citocromo P450 1A1 (CYP1A1), era el regulador primario de la producción de lípidos mediada por AhR. Específicamente, el bloqueo de la regulación por aumento de CYP1A1 inducida por AhR contrarrestó la sobreproducción de LD y la sobreproducción de CYP1A1, pero no de CYP1B1, en células inactivadas por AhR restauró la acumulación de lípidos. Es de destacar que la infección por el VHC regulaba por

incremento la vía AhR-CYP1A1, lo que resulta en la acumulación de LD agrandados. En conclusión, se demostró que la vía AhR-CYP1A1 tiene un papel importante en la acumulación de lípidos, un sello de la infección por VHC que maximiza la producción de virus de la progenie. Los análisis químico-genéticos revelan una nueva estrategia y compuestos de plomo para controlar la acumulación de lípidos hepáticos, así como la infección por VHC (52).

La infección por el virus de la hepatitis B (VHB) se ha asociado con una disminución de la prevalencia de dislipemia en los estudios transversales, pero los estudios de cohorte son limitados. Se investigaron los efectos longitudinales de la infección crónica por VHB en el desarrollo de dislipidemia. El estudio de cohorte de 62 287 hombres y mujeres adultos no cirróticos sin dislipidemia que se sometieron a pruebas serológicas para detectar el antígeno de superficie de la hepatitis B (HBsAg) se les realizó un seguimiento anual o bienal durante un promedio de 4,46 años. Se usó un modelo de riesgo proporcional paramétrico para estimar la relación de riesgo ajustada con un intervalo de confianza (IC) del 95% para la dislipidemia incidente según el estado de seropositividad de HBsAg. Se identificaron 12 331 casos incidentes de hipercolesterolemia durante 278 004,4 persona / año de seguimiento (tasa de incidencia 44,4 por 1000 persona-año).



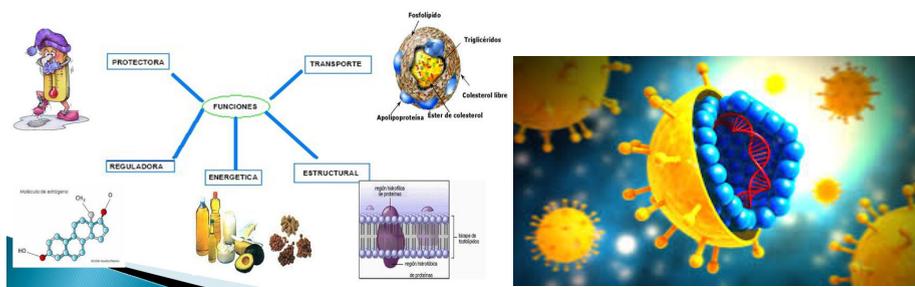
En los modelos ajustados por edad, sexo, índice de masa corporal, año de examen de detección, estado de fumador, consumo de alcohol, ejercicio regular y nivel de educación, los índices de riesgo ajustados (IC 95%) para la hipercolesterolemia incidental, coles-terolaemia alta en LDL; La hipertrigliceridemia, la coles-terolaemia alta no HDL y la coles-terolaemia baja HDL comparando los partici-pantes HBsAg positivos a HBsAg negativos fue de 0.71 (0.64-0.79), 0.83 (0.78-0.89), 0.61 (0.54-0.70), 0.69 (0.63-0.75) y 1.10 (0.98-1.24), respectivamente. También se identificó una asociación inversa entre la positividad de HBsAg y la apolipoproteína B alta incidente, con un índice de riesgo correspondiente de 0.63 (0.55-0.72). En una gran co-orte de adultos coreanos aparentemente sanos, la seropositividad con HBsAg se asoció con un menor riesgo de desarrollo de dislipide-mia, lo que sugiere un papel de la infección por VHB en el metabolismo de los lípidos (53).

Por otro lado, la esteatosis hepática es común en pacientes infectados con el virus de la hepatitis C (VHC). Particularmente en pacientes infectados con VHC no genotipo 3, la esteatosis hepática está estrechamente relacionada con factores del síndrome metabó-lico como la hiperlipidemia. Sin embargo, los mecanismos molecula-res implicados en esta esteatosis “metabólica” en infecciones por VHC no-3 genotipo no se conocen bien. El objetivo fue desarrollar un modelo *in vitro* para estudiar el efecto de la infección por VHC genotipo 1 en la lipotoxicidad hepática y el metabolismo de los lípi-dos. La acumulación de lípidos celulares se indujo en células de he-patoma Huh-7 transfectadas con el genotipo 1b del HCV (HCV +) por incubación con dosis crecientes de ácido palmítico (C16: 0) o ácido oleico (C18: 1 n-9) complejoado con albúmina que simula condiciones hiperlipidémicas.

Se usaron células de hepatoma transfectadas de forma simu-lada (VHC) como controles. La incubación con concentraciones de ácido oleico tan altas como 0.5 mM no indujo efectos tóxicos en las células VHC + o VHC. En contraste, la incubación con ácido palmítico causó efectos citotóxicos dependientes de la dosis que fueron más

pronunciados en el VHC + en comparación con las células del VHC. Un análisis adicional con concentraciones de ácido palmítico y ácido oleico subtóxicas reveló una mayor captación de ácidos grasos y una acumulación de triglicéridos intracelulares en el VHC + en comparación con las células del VHC. La expresión de carnitina palmitoil-transferasa I (CPT1), indicativa de beta-oxidación mitocondrial, fue estimulada notablemente por la exposición a los lípidos en el VHC+ pero no en las células del VHC. Además, los niveles de expresión de la hemooxigenasa 1 (HMOX1) aumentaron en las células estimuladas con FA, y este aumento fue significativamente mayor en el VHC + en comparación con las células del VHC. En contraste, la expresión de las enzimas clave de la lipogénesis hepática de novo ácidos grasos sintasa (FASN) y esteroil-CoA desaturasa (SCD-1) se redujo significativamente con la exposición al oleato en el VHC, pero no en las células del VHC +. En resumen, este modelo de cultivo celular recientemente desarrollado reveló los efectos de la infección por el genotipo 1b del VHC sobre la susceptibilidad metabólica a la acumulación de lípidos y la toxicidad, particularmente a los lípidos saturados. Estos resultados pueden indicar que las personas infectadas por el VHC (genotipo 1b) con hiperlipidemia pueden beneficiarse de una intervención dietética o farmacológica (54).

## Funciones en el organismo



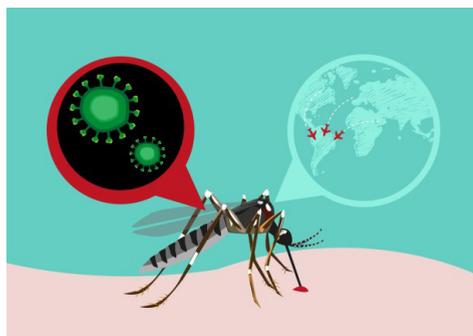
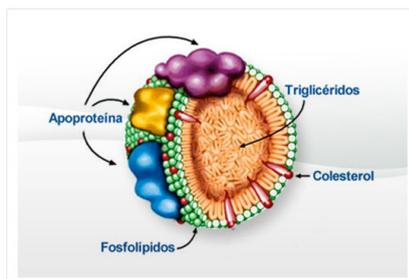
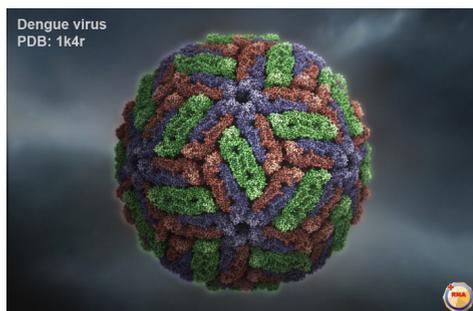
Se sabe que el virus de la hepatitis C es altamente dependiente del metabolismo de los lípidos para infectar nuevas células y replicarse. Para investigar el perfil de lípidos y apolipoproteínas en pacientes con VHC crónicos según la respuesta al tratamiento, se incluyeron pacientes reclutados en el Centro de tratamiento de la hepatitis en Niteroi (Brasil) que recibieron terapias basadas en interferón (IFN) se dividieron en dos grupos, los que lograron una respuesta virológica sostenida (RVS) o no (no RVS). Se siguió a otro grupo de pacientes tratados con terapias antivirales de acción directa (DAA) libres de IFN desde antes de comenzar el tratamiento hasta un año después de la terapia. Los triglicéridos, el colesterol total y las fracciones se determinaron mediante técnicas colorimétricas y / o de electroforesis. La lecitina colesterol aciltransferasa (LCAT) y los niveles séricos de apolipoproteínas A1, A2, B, C2, C3 y E se evaluaron mediante ensayos enzimáticos y multiplex, respectivamente.

Se estudiaron 114 pacientes y se alcanzó la RVS en 28 pacientes (39,4%) tratados con terapia con IFN y en todos los pacientes (100%) que recibieron DAA. Los pacientes sin RVS (n = 43) presentaron parámetros hepáticos alterados después del tratamiento. Los niveles de colesterol total, LDL-C, VLDL-C y triglicéridos fueron significativamente más altos en el grupo de RVS. En contraste, la actividad de LCAT y los niveles de HDL-C se elevaron en los pacientes sin RVS. Solo los niveles de apolipoproteínas B, C2 y C3 aumentaron en el grupo de RVS. El seguimiento de los pacientes con SVR-DAA (n = 43) reveló un aumento significativo y progresivo en los niveles séricos de colesterol total, LDL-C, VLDL-C y triglicéridos.

Después de un tratamiento exitoso, los pacientes con hepatitis C crónica experimentaron un restablecimiento del metabolismo de los lípidos. Estos resultados sugieren que la monitorización de los lípidos séricos podría ser una herramienta de laboratorio práctica y de rutina que se aplicará durante el seguimiento del tratamiento (55).

## GOTAS DE LÍPIDOS Y FLAVIVIRUS

Las gotitas de lípidos (LD) son orgánulos intracelulares para el almacenamiento de lípidos neutros, originadas en el retículo endoplásmico. Juegan un papel esencial en el metabolismo de los lípidos y la homeostasis celular. De hecho, los LD son orgánulos complejos, involucrados en muchos más procesos celulares que los propuestos inicialmente. Se han estudiado exhaustivamente en el contexto de las patologías asociadas a la LD. En particular, los LD han emergido como críticos para la replicación y el ensamblaje de virus. Los virus de la familia Flaviviridae, a saber, el virus dengue (DENV), el virus de la hepatitis C (HCV), el virus del Nilo Occidental (WNV) y el virus Zika (ZIKV), interactúan con los LD para usurpar el metabolismo de los lípidos del huésped para su propia replicación viral y patogénesis.



En general, durante las infecciones por *Flaviviridae* se observa un número creciente de LD intracelulares del huésped. Varias proteínas virales interactúan con las LD en diferentes etapas del ciclo de vida viral. La proteína central del VHC y la proteína de la cápside DENV interactúan ampliamente con las LD para regular su replicación y ensamblaje. Los estudios detallados de LD en infecciones virales pueden contribuir al desarrollo de posibles inhibidores de los pasos clave de la replicación viral. Aquí, revisamos diferentes técnicas que se pueden usar para caracterizar LD aisladas de células infectadas o no infectadas. Los estudios de microscopía se han utilizado comúnmente para observar la acumulación y localización de LD en cultivos de células infectadas. Los tintes fluorescentes, que pueden afectar directamente a las LD, se usan ampliamente para sondear LD, pero también hay enfoques que no requieren el uso de fluorescencia, es decir, enfoques basados en microscopía de fuerza atómica, dispersión Raman, electrónica y de fuerza atómica. Estas tres son técnicas poderosas para caracterizar la morfología de los LD. La microscopía de dispersión Raman permite estudiar los LD en una sola célula. Las microscopías de fuerza electrónica y atómica permiten una mejor caracterización de los LD en términos de estructura e interacción con otros orgánulos. Otras técnicas biofísicas, como la dispersión dinámica de la luz y el potencial zeta, también son excelentes para caracterizar los LD en términos de tamaño de una manera simple y rápida y probar la posible interacción de los LD con las proteínas virales. Estas metodologías se revisan en detalle, en el contexto de los estudios virales.

Las gotitas de lípidos son orgánulos esenciales, que participan en el mantenimiento de la homeostasis celular y desempeñan un papel importante en el almacenamiento de energía celular y el metabolismo de los lípidos. Los virus tienen la capacidad de secuestrar la maquinaria de membrana intracelular para la replicación viral. Varios virus de la familia *Flaviviridae* se han asociado a la desregulación del metabolismo de los lípidos. Patógenos humanos importantes, como DENV, HCV, WNV y ZIKV, están asociados, respectivamente, con fie-

bre hemorrágica, esteatosis, enfermedad neurológica, y microcefalia. A pesar del conocimiento recopilado por los estudios realizados en los últimos años, no hay medicamentos efectivos disponibles contra estos virus.

El importante papel de los LD en el ciclo de vida de los flavivirus los convierte en un posible objetivo para el desarrollo de nuevas terapias. Una mejor caracterización de la morfología, el proteoma y el “interactoma” de las LD puede proporcionar información crucial para entender las LD como orgánulos fundamentales en la replicación viral. Además, la identificación y caracterización de factores virales, como proteínas virales estructurales y no estructurales, así como su interacción con factores LD específicos, pueden proporcionar la información necesaria para desarrollar tratamientos efectivos. Se pueden utilizar diferentes técnicas en estudios posteriores, dependiendo de la pregunta central en el análisis. Para caracterizar el tamaño de las LD, las técnicas basadas en la dispersión de la luz, como AF4 y NTA, pueden proporcionar resultados rápidos y precisos. Sin embargo, los LD deben aislarse de los cultivos celulares. Los estudios de microscopía permiten la caracterización de LD en cultivos celulares o tejidos, en términos de tamaño, localización, acumulación y dinámica. Los estudios comparativos de cultivos celulares no infectados e infectados pueden revelar detalles importantes para comprender el papel de los LD en el ciclo de vida viral. Además, las imágenes de células vivas y el análisis de la biogénesis de las LD pueden proporcionar información crucial para comprender su papel en la patogénesis. Aunque la microscopía confocal es una de las técnicas más utilizadas, requiere el uso de tintes fluorescentes. SRS también se puede utilizar para extraer la misma información de una sola celda y sin usar colorantes.

La microscopía electrónica se puede utilizar para caracterizar el tamaño, la formación y la interacción de los LD con otros orgánulos. Además, esta técnica presenta una resolución más alta. Además, se sabe que las proteínas virales desempeñan un papel importante en varios pasos del ciclo de vida viral, principalmente en el ensambla-

je viral y la encapsidación. A pesar de todo el conocimiento sobre la interacción de las proteínas virales con los LD, se puede recopilar mucha más información a través de la espectroscopia de fuerza basada en AFM. Por lo tanto, teniendo en cuenta todo lo anterior, una comprensión integral del papel de los LD en la infección viral es fundamental para desarrollar estrategias para inhibir la replicación viral (56).

Más de un tercio de la población mundial está en riesgo constante de contraer algunas enfermedades transmitidas por insectos, como la fiebre dengue, la enfermedad por el virus del Zika, la malaria, la enfermedad de Chagas, la tripanosomiasis africana y otras. Independientemente del ciclo de vida del patógeno causante de la enfermedad, el hábito hematófago del vector insecto es un rasgo común y crucial para la transmisión de todas estas enfermedades. Este estilo de vida es único, ya que los insectos hematófagos se alimentan de sangre, una dieta rica en proteínas, pero relativamente pobre en lípidos y carbohidratos, en grandes cantidades y con poca frecuencia. Otra característica única de estos insectos es que la harina de sangre desencadena procesos metabólicos esenciales, como la muda y la ovogénesis y, de esta manera, regula la expresión de varios genes que están involucrados en estos eventos.

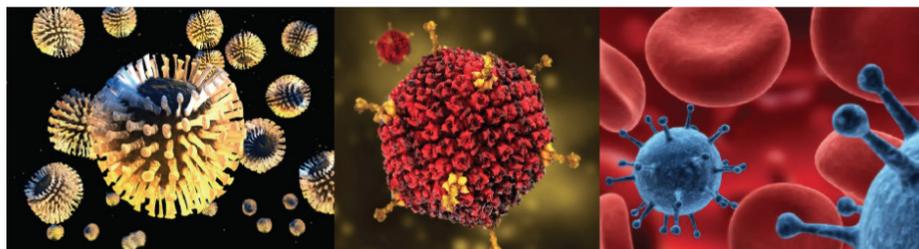
Al revisar el conocimiento actual de la fisiología y bioquímica del metabolismo de los lípidos en vectores de enfermedades de insectos, comparándolos con los modelos clásicos siempre que sea posible. Nos ocupamos de la digestión y absorción de lípidos, el transporte hemolinfático y el almacenamiento de lípidos en el cuerpo y ovario de la grasa. En este contexto, se discuten la síntesis de ácidos grasos de novo y triacilglicerol, incluyendo el proceso de activación de ácidos grasos relacionados y las proteínas de unión a lípidos intracelulares. A medida que los lípidos se almacenan para ser movilizados más adelante, por ej. Para la actividad de vuelo o supervivencia, también se consideran la lipólisis y la  $\beta$ -oxidación. Todos estos eventos deben estar finamente regulados, y se resume el papel de las hormonas en este control. La información sobre la infección, cuando la fisiología

de los insectos vectores se ve afectada, y existe una interferencia entre su sistema inmunológico y el metabolismo de los lípidos. No hay información abundante sobre el metabolismo de los lípidos en insectos vectores, y se indican importantes brechas actuales en el campo, así como preguntas para responder en el futuro (57).

Los flavivirus son patógenos emergentes transmitidos por artrópodos que causan enfermedades mortales como la fiebre amarilla, el dengue, la encefalitis del Nilo Occidental, la encefalitis transmitida por garrapatas, la enfermedad del Bosque Kyasanur, la encefalitis transmitida por las garrapatas o la enfermedad Zika. Este género viral agrupa a más de 50 especies virales de virus de ARN de hebra pequeña con envoltura pequeña que están filogenéticamente estrechamente relacionados con el virus de la hepatitis C. Es importante destacar que el ciclo de vida del flavivirus está íntimamente asociado a los lípidos de la célula huésped. En esta línea, los flavivirus reorganizan las membranas intracelulares del retículo endoplásmico de las células infectadas para desarrollar plataformas adecuadas para la replicación viral y la biogénesis de partículas. Además, los flavivirus organizan de manera dramática una reorganización profunda del metabolismo de los lípidos de la célula huésped para crear un ambiente favorable para la multiplicación viral. Consistentemente, trabajos recientes han demostrado la importancia de las clases específicas de lípidos en las infecciones por flavivirus. Por ejemplo, la síntesis de ácidos grasos está vinculada a la replicación viral, la fosfatidilserina y la fosfatidiletanolamina intervienen en la entrada de flavivirus, los esfingolípidos (ceramida y esfingomielina) desempeñan un papel clave en el ensamblaje del virus y la patogénesis, y el colesterol es esencial para la inmunidad innata en la evasión por flavivirus. Células infectadas. Aquí, revisamos el conocimiento actual sobre las interacciones de los flavivirus con el metabolismo de los lípidos celulares para identificar posibles objetivos para el futuro desarrollo de antivirales dirigidos a combatir estos patógenos relevantes para la salud (58).

## ROTAVIRUS Y COLESTEROL

Una nueva estrategia inmune innata, que involucra productos específicos de oxidación del colesterol como efectores, ha comenzado a revelar conexiones entre el metabolismo del colesterol y la respuesta inmune contra las infecciones virales. De hecho, el 25-hidroxicolesterol (25HC) y el 27-hidroxicolesterol (27HC), producidos fisiológicamente por la oxidación enzimática del colesterol, actúan como inhibidores de un amplio espectro de virus humanos envueltos y no envueltos. Sin embargo, los mecanismos subyacentes a sus efectos protectores contra virus no envueltos están casi completamente inexplorados.



Rotavirus

Adenovirus

Astrovirus

Para comprender mejor este campo, se ha investigado la actividad antiviral de 25HC y 27HC contra un virus no envuelto que causa gastroenteritis aguda en niños, el rotavirus humano (HRV). Se encontró que 25HC y 27HC bloquean la infectividad de varias cepas de HRV a concentraciones inhibitorias del 50% en el rango micromolar bajo en ausencia de toxicidad celular. Ambas moléculas afectan el paso final de la penetración del virus en las células al evitar la asociación de dos proteínas celulares: la proteína de unión a oxisterol (OSBP) y la proteína A asociada a la proteína de membrana asociada a la vesícula (VAP-A). Al alterar la actividad de estos mediadores celulares, 25HC y 27HC perturban el reciclaje del colesterol entre el retículo endoplásmico y los endosomas tardíos que el HRV explota para penetrar en la célula. La acumulación sustancial de colesterol en el compartimento endosomal tardío da como resultado el secuestro de

partículas víricas dentro de estas vesículas, lo que evita la replicación del virus citoplásmico. Estos hallazgos sugieren que los productos de oxidación del colesterol de origen enzimático podrían ser efectores primarios de las estrategias de restricción del huésped para contrarrestar la infección por HRV y apuntar a la participación de lípidos redox activos en infecciones virales como un área de investigación para enfocarse mejor con el fin de identificar nuevos objetivos de agentes antivirales (59).

## CONCLUSIÓN Y PERSPECTIVA FUTURA

Se cree que la activación inmune no controlada es la base de la patogénesis de las infecciones virales. Comprender el mecanismo molecular que subyace a esta activación inmune desregulada es crucial para identificar nuevas dianas terapéuticas. Los mecanismos moleculares precisos aún son inciertos, aunque es probable que un desequilibrio entre las respuestas protectoras y perjudiciales contribuya a la patogénesis de estas infecciones. Esto se demuestra de manera convincente mediante estudios que la información sobre las infecciones virales, y su fisiopatología se ve afectada, y existe una interferencia entre el sistema inmunológico y el metabolismo de los lípidos. No hay información abundante sobre el metabolismo de los lípidos, y se indican importantes brechas actuales en el campo, así como preguntas para responder en el futuro.

## BIBLIOGRAFÍA DEL CAPÍTULO

1. Sun, X., Whittaker, G.R. 2003. Role for influenza virus envelope cholesterol in virus entry and infection. *Journal of Virology* 77, 12543–12551.
2. Imhoff, H., von Messling, V., Herrler, G., Haas, L. 2007. Canine distemper virus infection requires cholesterol in the viral envelope. *Journal of Virology* 81, 4158–4165.
3. Bremer, C.M., Bung, C., Kott, N., Hardt, M., Glebe, D. 2009. Hepatitis B virus infection is dependent on cholesterol in the viral envelope. *Cellular Microbiology* 11, 249–260.

4. Lu, X., Xiong, Y., Silver, J. 2002. Asymmetric requirement for cholesterol in receptorbearing but not envelope-bearing membranes for fusion mediated by ecotropic murine leukemia virus. *Journal of Virology* 76, 6701–6709.
5. Bavari, S., Bosio, C.M., Wiegand, E., Ruthel, G., Will, A.B., Geisbert, T.W., Hevey, M., Schmaljohn, C., Schmaljohn, A., Aman, M.J. 2002. Lipid raft microdomains: a gateway for compartmentalized trafficking of Ebola and Marburg viruses. *Journal of Experimental Medicine* 195, 593–602.
6. Liao, Z., Cimasky, L.M., Hampton, R., Nguyen, D.H., Hildreth, J.E. 2001. Lipid rafts and HIV pathogenesis: host membrane cholesterol is required for infection by HIV type 1. *AIDS Research and Human Retroviruses* 17, 1009–1019.
7. Graham, D.R., Chertova, E., Hilburn, J.M., Arthur, L.O., Hildreth, J.E. 2003. Cholesterol depletion of human immunodeficiency virus type 1 and simian immunodeficiency virus with beta-cyclodextrin inactivates and permeabilizes the virions: evidence for virion-associated lipid rafts. *Journal of Virology* 77, 8237–8248.
8. Ren, X., Glende, J., Yin, J., Schwegmann-Wessels, C., Herrler, G. 2008. Importance of cholesterol for infection of cells by transmissible gastroenteritis virus. *Virus Research* 137, 220–224.
9. Yin, J., Glende, J., Schwegmann-Wessels, C., Enjuanes, L., Herrler, G., Ren, X. 2010. Cholesterol is important for a post-adsorption step in the entry process of transmissible gastroenteritis virus. *Antiviral Research* 88, 311–316.
10. Clemente, R., de Parseval, A., Perez, M., de la Torre, J.C. 2009. Borna disease virus requires cholesterol in both cellular membrane and viral envelope for efficient virus entry. *Journal of Virology* 83, 2655–2662.
11. Bender, F.C., Whitbeck, J.C., Ponce, D.L., Lou, H., Eisenberg, R.J., Cohen, G.H. 2003. Specific association of glycoprotein B with lipid rafts during herpes simplex virus entry. *Journal of Virology* 77, 9542–9552.
12. Desplanques, A.S., Nauwynck, N.J., Vercauteren, D., Geens, T., Favoreel, H.W. 2008. Plasma membrane cholesterol is required for efficient pseudorabies virus entry. *Virology* 376, 339–345.
13. Desplanques, A.S., Pontes, M., De Corte, N., Verheyen, N., Nauwynck, N.J., Vercauteren, D., Favoreel, H.W. 2010. Cholesterol depletion

- affects infectivity and stability of pseudorabies virus. *Virus Research* 152, 180–183.
14. Hambleton, S., Steinberg, S.P., Gershon, M.D., Gershon, A.A. 2007. Cholesterol dependence of varicella-zoster virion entry into target cells. *Journal of Virology* 81, 7548–7558.
  15. Thorp, E.B., Gallagher, T.M. 2004. Requirements for CEACAMs and cholesterol during murine coronavirus cell entry. *Journal of Virology* 78, 2682–2692.
  16. Acosta, E.G., Castilla, V., Damonte, E.B. 2008. Functional entry of dengue virus into *Aedes albopictus* mosquito cells is dependent on clathrin-mediated endocytosis. *J Gen Virol* 89, 474–484.
  17. Acosta, E.G., Castilla, V., Damonte, E.B. 2011. Infectious dengue-1 virus entry into mosquito C6/36 cells. *Virus Research* 160, 173–179.
  18. Mosso, C, Galván-Mendoza, I.J, Ludert, J.E, del Angel, R.M. 2008. Endocytic pathway followed by dengue virus to infect the mosquito cell line C6/36 HT. *Virology* 378, 193–199.
  19. Acosta, E.G., Castilla, V., Damonte, E.B. 2009. Alternative infectious entry pathways for dengue virus serotypes into mammalian cells. *Cellular Microbiology* 11, 1533–1549.
  20. Peng, T., Wang, J.L., Chen, W., Zhang, J.L., Gao, N., Chen, Z.T., Xu, X.F., Fan, D.Y., An, J. 2009. Entry of dengue virus serotype 2 into ECV304 cells depends on clathrin-independent endocytosis, but not on caveolae-dependent endocytosis. *Canadian Journal of Microbiology* 55, 139–145.
  21. İlhan ÇETİN, Beytullah YILDIRIM, Şemsettin ŞAHİN, İdris ŞAHİN, İlker ETİKAN. Serum lipid and lipoprotein levels, dyslipidemia prevalence, and the factors that influence these parameters in a Turkish population living in the province of Toka. *Turk J Med Sci.* 2010; 40 (5): 771–782.
  22. Aguilar Salinas C, Francisco Javier Gómez Pérez, Israel Lerman Garber, Cuauhtémoc Vázquez Chávez, Óscar Pérez Méndez, Carlos Posadas Romero. Diagnóstico y tratamiento de las dislipidemias: posición de la Sociedad Mexicana de Nutrición y Endocrinología. *Revista de Endocrinología y Nutrición.* 2004; Vol. 12, No. 1: 7–41.
  23. Freire W. La Nueva Situación Epidemiológica en el Ecuador. *Revista Informativa OPS/OMS Edición* 32, 2014.

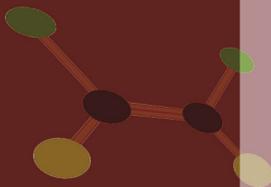
24. Ray G, Kumar V, Kapoor AK, Dutta AK, Batra S, 1999. Status of antioxidants and other biochemical abnormalities in children with dengue fever. *J Trop Pediatr* 45: 4–7.
25. Feingold KR, Hardardottir I, Grunfeld C. 1998. Beneficial effects of cytokine induced hyperlipidemia. *Z Ernährungswiss* 37(Suppl 1):66–74.
26. Durán A, Bermúdez J, Maldonado MB, Ochoa E, Alcocer S, Levy A, Márquez A, Bermúdez I, Gómez M, Gotera J, Valero N. 2012. Incidencia y circulación del virus dengue en el Estado Zulia, Venezuela (2009-2010). *Revista Ciencia* 20(1):22–32.
27. Bhatt S, Gething PW, Brady OJ, Messina JP, Farlow AW, Moyes CL, Drake JM, Brownstein JS, Hoen AG, Sankoh O, Myers MF, George DB, Jaenisch T, Wint GR, Simmons CP, Scott TW, Farrar JJ, Hay SI. The global distribution and burden of dengue. *Nature*. 2013; 496(7446):504–507.
28. Diamond MS, Pierson TC. Molecular Insight into Dengue Virus Pathogenesis and Its Implications for Disease Control. *Cell*. 2015; 162(3):488–492.
29. Schoggins JW, Dorner M, Feulner M, Imanaka N, Murphy MY, Ploss A, Rice CM. Dengue reporter viruses reveal viral dynamics in interferon receptor-deficient mice and sensitivity to interferon effectors in vitro. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2012; 109(36):14610–14615.
30. Pham AM, Langlois RA, TenOever BR. Replication in cells of hematopoietic origin is necessary for Dengue virus dissemination. *PLoS Pathog*. 2012; 8(1):e1002465.
31. Juffrie M, Meer GM, Hack CE, Haasnoot K, Sutaryo, Veerman AJ, Thijs LG. Inflammatory mediators in dengue virus infection in children: interleukin-6 and its relation to C-reactive protein and secretory phospholipase A2. *Am J Trop Med Hyg*. 2001 Jul; 65(1):70–75.
32. Singla M, Kar M, Sethi T, Kabra SK, Lodha R, Chandele A, Medigeshi GR. Immune Response to Dengue Virus Infection in Pediatric Patients in New Delhi, India-Association of Viremia, Inflammatory Mediators and Monocytes with Disease Severity. *PLoS Negl Trop Dis*. 2016; 10(4):e0004642.
33. Sprokholt J, Helgers LC, Geijtenbeek TB. Innate immune receptors drive dengue virus immune activation and disease. *Future Virol*. 2017; 13(4):287-305. doi: 10.2217/fvl-2017-0146.

34. Akira S, Takeda K. Toll-like receptor signalling. *Nat Rev Immunol.* 2004; 4(7):499–511.
35. Durán A, Carrero R, Parra B, González A, Delgado L, Mosquera J, Valero N. Association of lipid profile alterations with severe forms of dengue in humans. *Arch Virol* 160(7):1687–1692. doi: 10.1007/s00705-015-2433-z. 2015.
36. Naka K, Dansako H, Kobayashi N, Ikeda M, Kato N. Hepatitis C virus NS5B delays cell cycle progression by inducing interferon-beta via toll-like receptor 3 signaling pathway without replicating viral genomes. *Virology.* 2006;346(2):348–362.
37. Chang S, Dolganiuc A, Szabo G. Toll-like receptors 1 and 6 are involved in TLR2-mediated macrophage activation by hepatitis C virus core and NS3 proteins. *J. Leukoc. Biol.* 2007;82(3):479–487.
38. Wang T, Town T, Alexopoulou L, Anderson JF, Fikrig E, Flavell RA. Toll-like receptor 3 mediates West Nile virus entry into the brain causing lethal encephalitis. *Nat. Med.* 2004;10(12):1366–1373.
39. Tsai YT, Chang SY, Lee CN, Kao CL. Human TLR3 recognizes dengue virus and modulates viral replication in vitro. *Cell. Microbiol.* 2009;11(4):604–615.
40. Nasirudeen AMA, Wong HH, Thien P, Xu S, Lam KP, Liu DX. RIG-I, MDA5 and TLR3 synergistically play an important role in restriction of dengue virus infection. *PLoS Negl Trop Dis.* 2011; 5(1):e926.
41. Sun P, Fernandez S, Marovich MA, et al. Functional characterization of ex vivo blood myeloid and plasmacytoid dendritic cells after infection with dengue virus. *Virology.* 2009;383(2):207–215.
42. Alexopoulou L, Holt AC, Medzhitov R, Flavell AR. Recognition of double-stranded RNA and activation of NF-kappaB by Toll-like receptor 3. *Nature.* 2001;413(6857):732–738.
43. Chang TH, Liao CL, Lin YL. Flavivirus induces interferon-beta gene expression through a pathway involving RIG-I-dependent IRF-3 and PI3K-dependent NF-κB activation. *Microbes Infect.* 2006;8(1):157–171.
44. Honda K, Takaoka A, Taniguchi T. Type I interferon gene induction by the interferon regulatory factor family of transcription factors. *Immunity.* 2006;25(3):349–360.

45. Honda K, Yanai H, Negishi H, et al. IRF-7 is the master regulator of type-I interferon-dependent immune responses. *Nature*. 2005;434(7034):772–777.
46. Taniguchi T, Ogasawara K, Takaoka A, Tanaka N. IRF family of transcription factors as regulators of host defense. *Annu Rev Immunol*. 2001;19(1):623–655.
47. Schoggins JJW, Wilson SJS, Panis M, et al. A diverse array of gene products are effectors of the type I interferon antiviral response. *Nature*. 2011;472(7344):481–485.
48. Wang JP, Liu P, Latz E, Golenbock DT, Finberg RW, Libraty DH. Flavivirus activation of plasmacytoid dendritic cells delineates key elements of TLR7 signaling beyond endosomal recognition. *J Immunol*. 2006;177(10):7114–7121.
49. Ye J, Zhu B, Fu ZF, Chen H, Cao S. Immune evasion strategies of flaviviruses. *Vaccine*. 2013; 31(3):461-71. doi: 10.1016/j.vaccine.2012.11.015.
50. Berrueta L, Salmen S, Montes H. Respuesta inmunitaria frente a virus *Revista Médica de la Extensión Portuguesa – ULA*. 2007; VOL. 1 /NUM. 2: 73–90.
51. Denolly S, Granier C, Fontaine N, Pozzetto B, Bourlet T, Guérin M, Cosset FL. A serum protein factor mediates maturation and apoB-association of HCV particles in the extracellular milieu. *J Hepatol*. 2018; pii: S0168-8278(18)32619-9. doi: 10.1016/j.jhep.2018.11.033.
52. Ohashi H, Nishioka K, Nakajima S, Kim S, Suzuki R, Aizaki H, Fukasawa M, Kamisuki S, Sugawara F, Ohtani N, Muramatsu M, Wakita T, Watahi K. The aryl hydrocarbon receptor-cytochrome P450 1A1 pathway controls lipid accumulation and enhances the permissiveness for hepatitis C virus assembly. *J Biol Chem*. 2018; 293(51):19559-19571. doi: 10.1074/jbc.RA118.005033.
53. Joo EJ, Chang Y, Yeom JS, Cho YK, Ryu S. Chronic hepatitis B virus infection and risk of dyslipidaemia: A cohort study. *J Viral Hepat*. 2018. doi: 10.1111/jvh.13014.
54. Koletzko L, Mahli A, Hellerbrand C. Development of an in vitro model to study hepatitis C virus effects on hepatocellular lipotoxicity and lipid metabolism. *Pathol Res Pract*. 2018; 214(10):1700–1706. doi: 10.1016/j.prp.2018.08.013.

55. Lacerda GS, Medeiros T, Rosário NFD, Peralta RHS, Cabral-Castro MJ, Esberard EBC, Andrade TG, Xavier AR, Silva AA. Exploring lipid and apolipoprotein levels in chronic hepatitis C patients according to their response to antiviral treatment. *Clin Biochem.* 2018; 60:17–23. doi: 10.1016/j.clinbiochem.2018.07.007.
56. Martins AS, Martins IC, Santos NC. Methods for Lipid Droplet Biophysical Characterization in Flaviviridae Infections. *Front Microbiol.* 2018; 9:1951. doi: 10.3389/fmicb.2018.01951.
57. Gondim KC, Atella GC, Pontes EG, Majerowicz D. Lipid metabolism in insect disease vectors. *Insect Biochem Mol Biol.* 2018; 101:108–123. doi: 10.1016/j.ibmb.2018.08.005.
58. Martín-Acebes MA, Vázquez-Calvo Á, Saiz JC. Lipids and flaviviruses, present and future perspectives for the control of dengue, Zika, and West Nile viruses. *Prog Lipid Res.* 2016; 64:123–137. doi: 10.1016/j.plipres.2016.09.005.
59. Cívrá A, Francese R, Gamba P, Testa G, Cagno V, Poli G, Lembo D. 25-Hydroxycholesterol and 27-hydroxycholesterol inhibit human rotavirus infection by sequestering viral particles into late endosomes. *Redox Biol.* 2018; 19: 318–330. doi: 10.1016/j.redox.2018.09.003.

LÍPIDOS Y VIRUS: UN CAMINO AL ENTENDIMIENTO  
DE LA INMUNOFISIOPATOLOGÍA DE LA INFECCIÓN  
VIRAL Se terminó de imprimir en mayo de 2019  
en los talleres gráficos de Ediciones Astro Data S.A.  
edicionesastrodata@gmail.com  
Maracaibo, Venezuela



Los avances en el campo de la virología, la identificación de nuevos agentes infecciosos, el conocimiento de los mecanismos de replicación viral, el diseño de terapias, los mecanismos de respuesta antivirales y de patogenicidad, entre otros, hicieron necesaria la aparición de este texto en su primera edición: **LÍPIDOS Y VIRUS: UN CAMINO AL ENTENDIMIENTO DE LA INMUNOFISIOPATOLOGÍA DE LA INFECCIÓN VIRAL**, que actualiza y profundiza sus contenidos, e incluye aspectos generales de virología y bioquímica y de la generación de respuestas inmunitarias durante las infecciones virales asociadas al cuidado de la salud. Este libro responde a las exigencias de los nuevos descubrimientos que impulsan a la investigación de mecanismos fisiológicos activados por la presencia de virus y en los que los lípidos juegan un papel importante, tanto como componentes de nuestras células como determinantes de mayor o menor virulencia. Una profunda comprensión de los aspectos mencionados, junto a la compilación en el último capítulo de los estudios que sustentan científicamente la búsqueda de esta información, otorgan a los autores de esta obra, la sensibilidad para seleccionar los temas y exponerlos en la adecuada secuencia temática, con miras a optimizar el conocimiento de un área cada vez más amplia y compleja, ofreciendo una visión clara y profunda, que se extiende desde las bases moleculares de la biología viral hasta los aspectos clínicos y terapéuticos. Los docentes, estudiantes y profesionales del área de la salud, interesados en conocer más a fondo las enfermedades causadas por virus, las infecciones emergentes o re-emergentes, la asociación entre los virus y algunas comorbilidades, el posible uso de los virus para incrementar la respuesta inmunitaria contra diversas enfermedades, encontrarán en este libro, abundante material de consulta debidamente actualizado, al tiempo que complementan el valor didáctico de esta obra y la convierten en texto obligado de consulta.

