

Viroológia

- Klasifikácia
- Charakteristika
- Replikácia
- Vírusové ochorenia

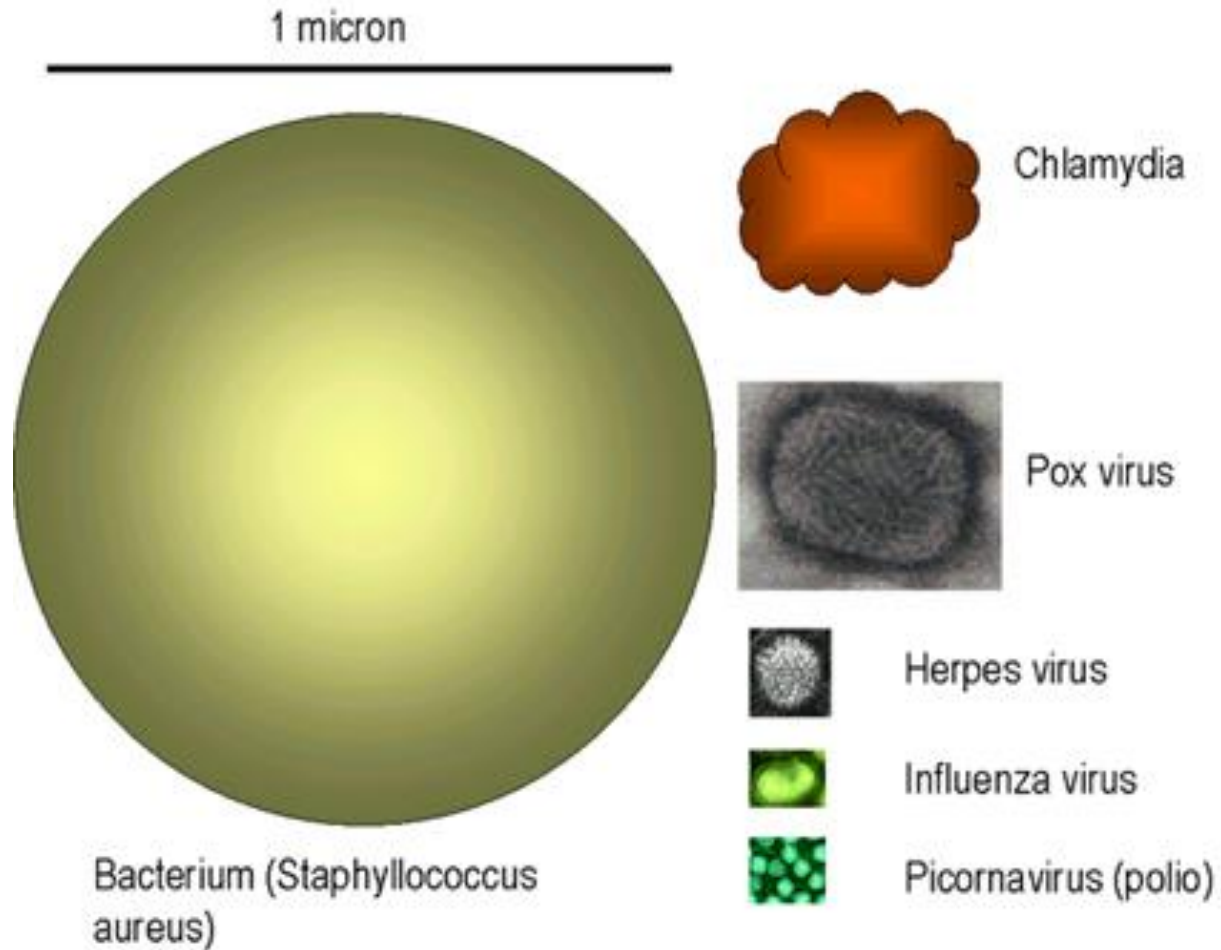
Definícia a vlastnosti

- Filtorvateľné
- obligátne intracelulárne parazity
- neschopné metabolizmu - získavať energiu a uskutočňovať proteosyntézu bez hostiteľskej bunky
- nereplikujú sa delením ale spájaním jednotlivých súčastí
- ich genóm tvorí RNA alebo DNA

Následky vlastností

- Vírusy nie sú živé
- musia byť infekčné, aby prežili
- musia byť schopné využiť mechanizmy hostiteľskej bunky na vytvorenie vlastných súčastí (mRNA, proteíny, kópiu genómu)
- musia byť schopné kódovať procesy, ktoré nenájdu v hostiteľskej bunke
- súčasti musia byť schopné sa pospájať

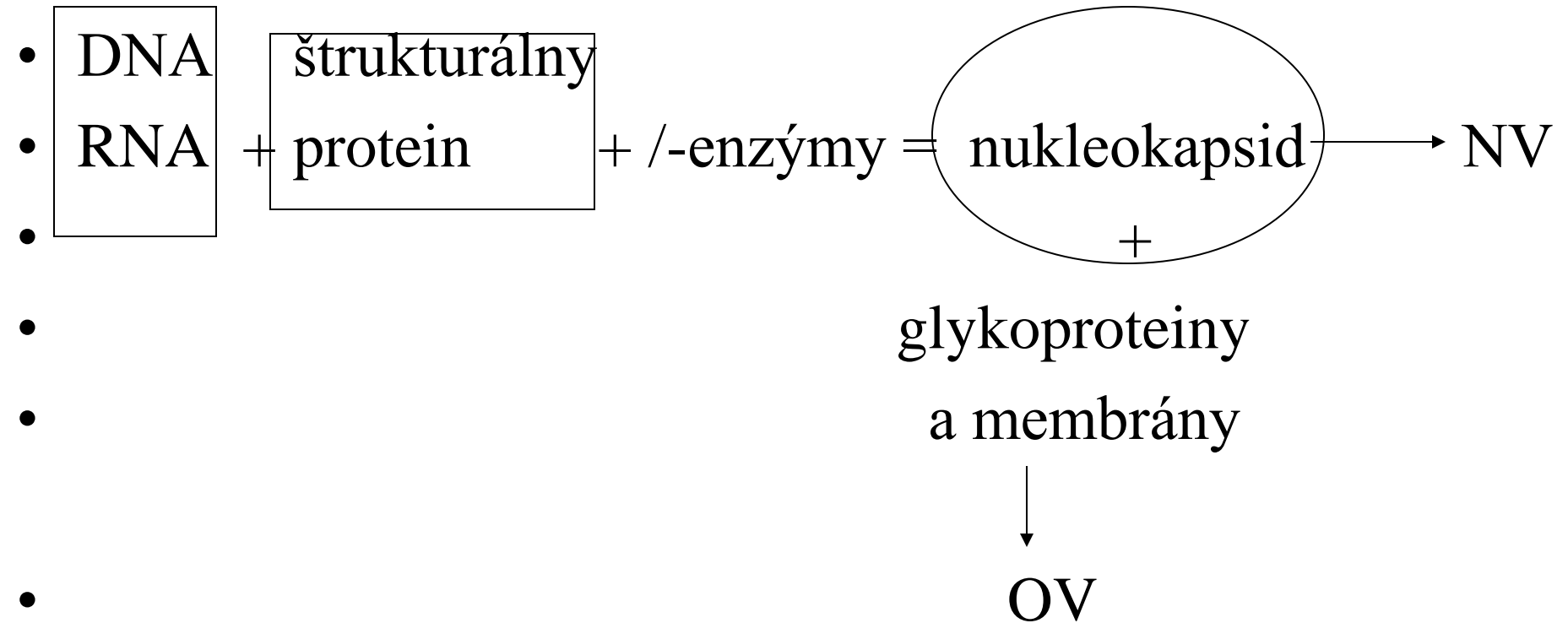
Vel'kost' vírusov



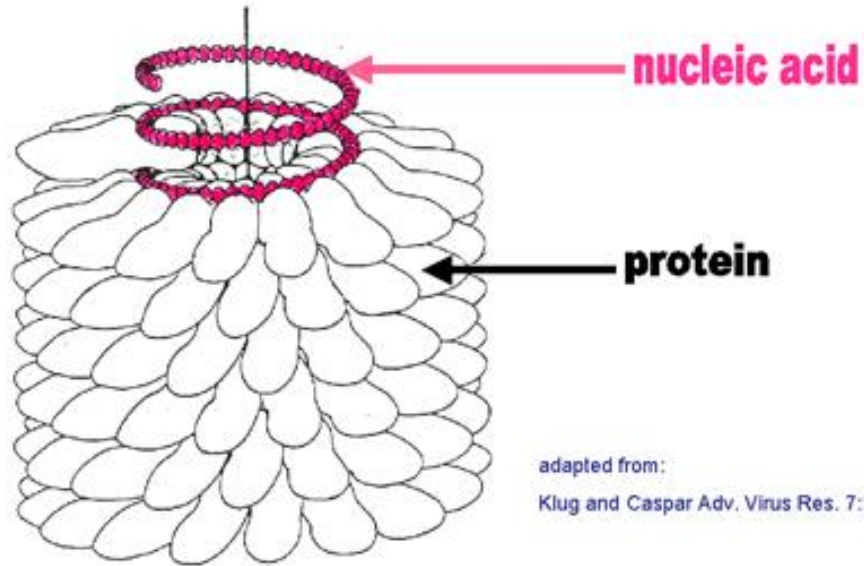
Klasifikácia a názvoslovie

- Podľa štruktúry, veľkosti, morfológie: picornaviridae,
- **biochemických vlasností - RNA, DNA**
- ochorenia - VHA - vírus hepatitídy A
- prenosu - arbovírusy - artropod-borne
- hostiteľskej bunky - HPV, HIV, SIV
- tkanivového tropizmu - adeno, enterov....

Štruktúra

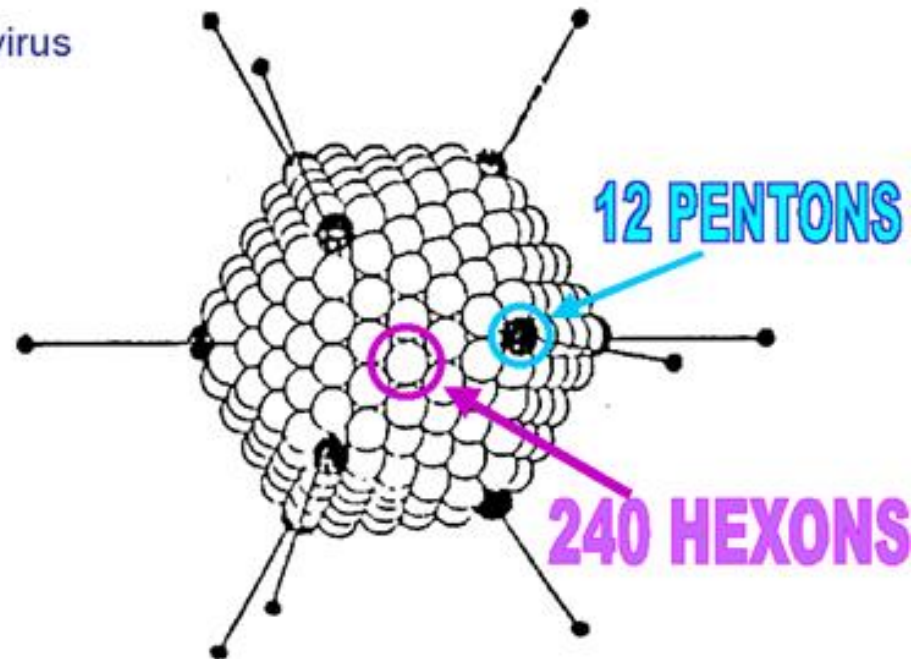


TOBACCO MOSAIC VIRUS



adapted from:
Klug and Caspar Adv. Virus Res. 7:225

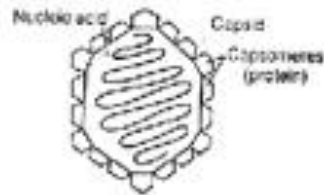
Adenovirus



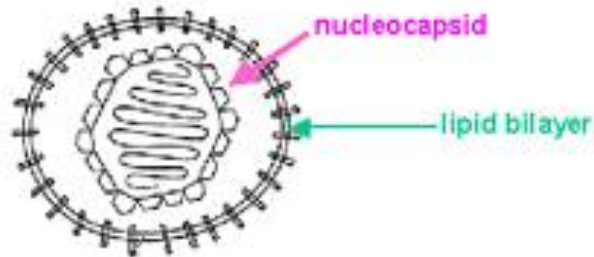
Štruktúra

5 BASIC TYPES OF VIRAL SYMMETRY

icosahedral nucleocapsid



ICOSAHEDRAL

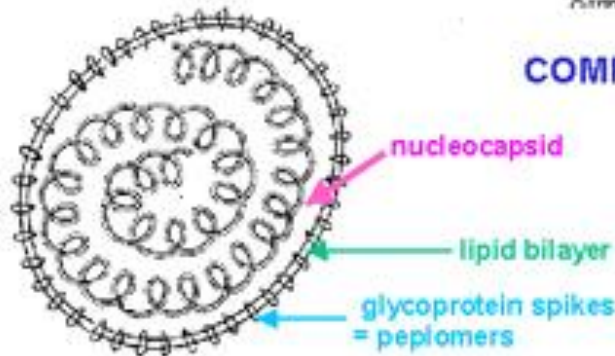


ENVELOPED ICOSAHEDRAL

helical nucleocapsid



HELICAL



ENVELOPED HELICAL



COMPLEX

Štruktúra a vlastnosti neobalených vírusov

- Protein
- Vlastnosti:
 - stabilné voči teplote, kyselinám, proteázam, detergentom, vysušeniu,
 - bunku opúšťajú jej lýzou
- Následky:
 - ľahko sa šíria stolicou, špinavými rukami, prachom, malými kvapôčkami, po vysušení ostávajú infekčné, prežívajú nepriaznivé prostredia v čreve, sú odolné voči detergentom, vyvolávajú tvorbu protektívnych protilátok

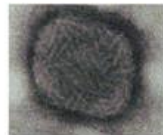
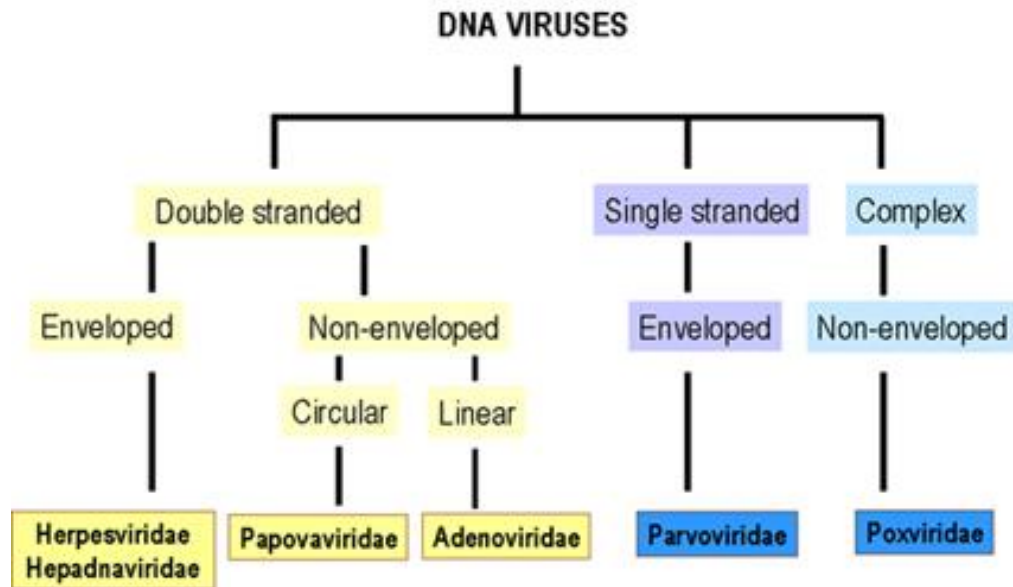
Štruktúra a vlastnosti obalených vírusov

- Membrána, lipidy, proteiny, glykoproteíny
- Vlastnosti:
 - labilné voči vonkajším podmienkam
 - modifikujú bunkovú membránu počas replikácie
 - uvolňujú sa z bunky pučením a lýzou hostiteľkej b.
- Následky:
 - vyžadujú vlhké prostredie, neprežijú v GI Te, šíria sa veľkými kvapôčkami, krvnou cestou, sekrétmi,
 - vyvolávajú bunkami sprostredkovanú imunitu, často spôsobujú hypersenzitivitu a poškodenie spôsobené imunitou

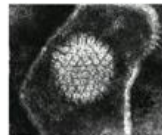
Klasifikácia - primárna

- Podľa nukleovej kyseliny a štruktúry virionu
 - RNA alebo DNA,
 - ss alebo ds
 - segmentovaný alebo nesegmentovaný genóm
 - lineárna alebo cirkulárna
 - symetria - icosahedrálna, helikálna, komplexná
 - obalené alebo neobalené
 - počet kapsomér
- Viroidy, nekonvenčné vírusy

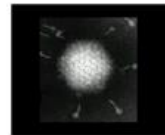
DNA vírusy



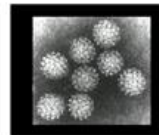
Poxviridae



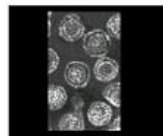
Herpesviridae



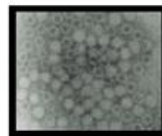
Adenoviridae



Papovaviridae
human papilloma



Hepadnaviridae



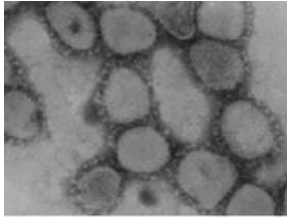
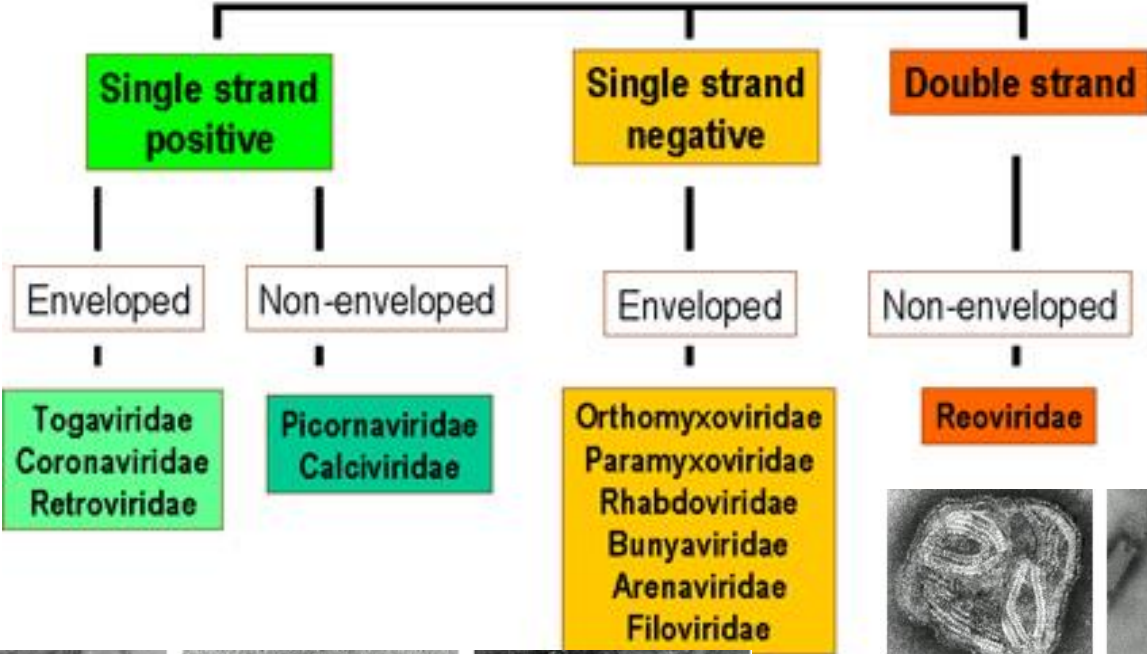
Parvoviridae

DNA Viruses

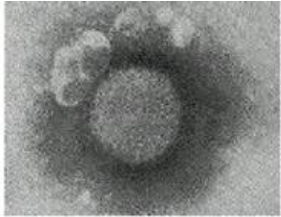
— 100 nanometers

RNA virus

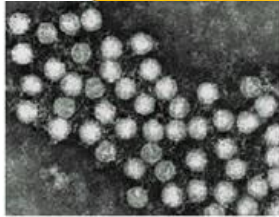
RNA VIRUSES



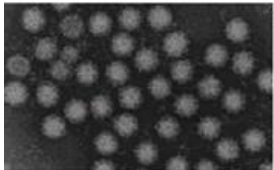
Coronaviridae (NS+)



Arenaviridae (S, ambi)



Picornaviridae (NS+)



Calciviridae (NS+)

RNA viruses Positive strand (+)
 S=segmented NS=non-segmented
 Ambi: part + and part -

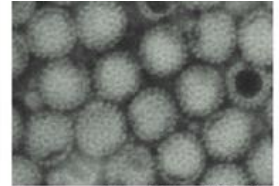
100nm



Paramyxoviridae (NS-)



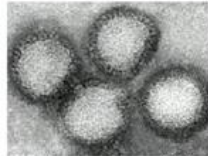
Rhabdoviridae (NS-)



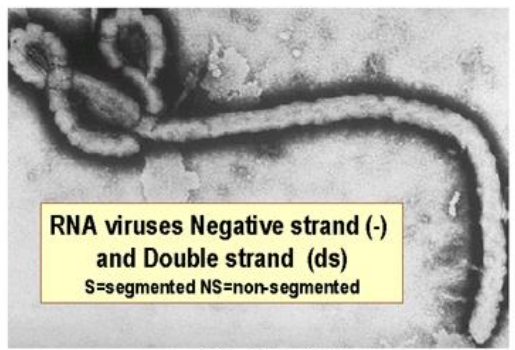
Reoviridae (S, ds)



Orthomyxoviridae (S-)



Bunyaviridae (S-)



Filoviridae (NS-)

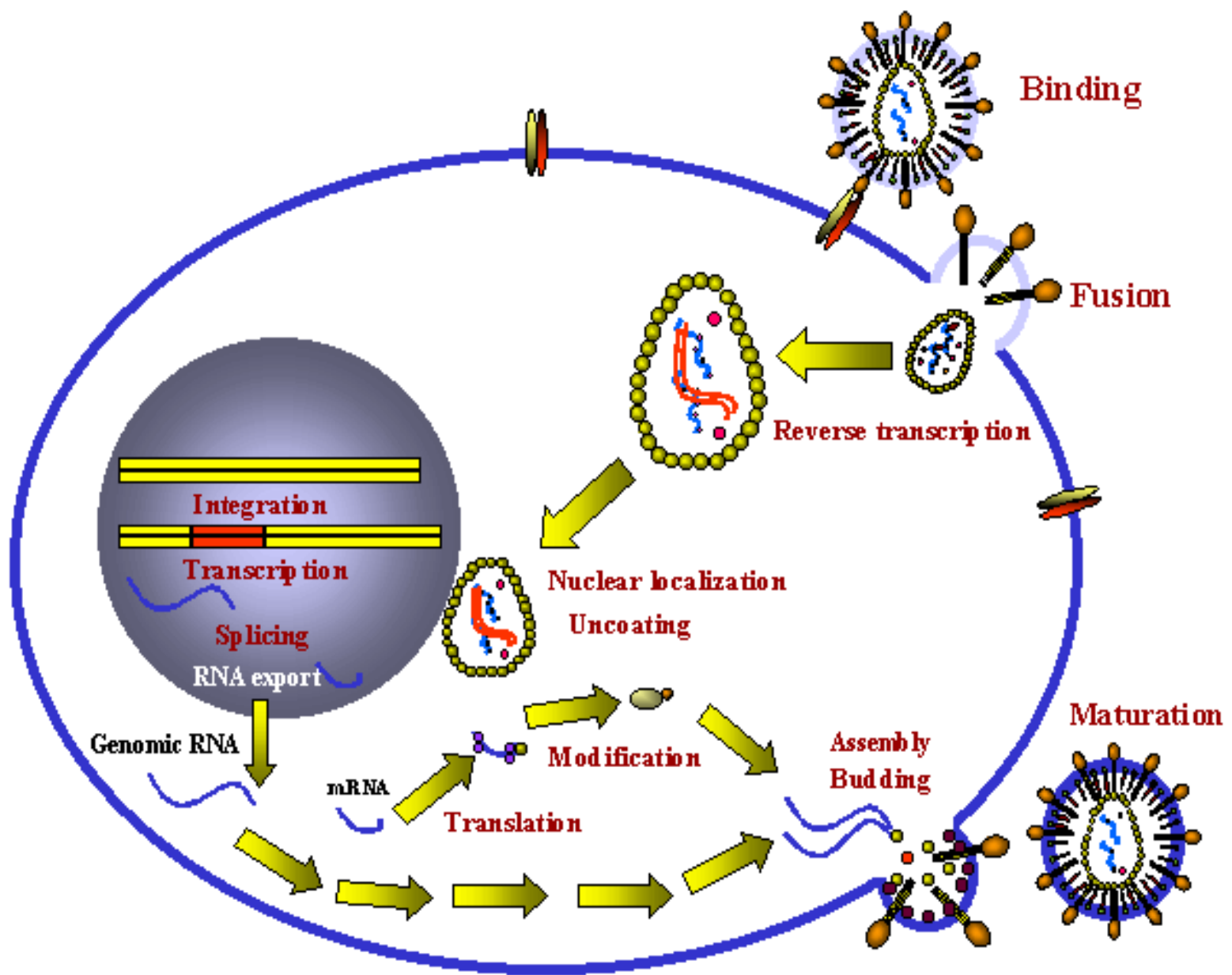
RNA viruses Negative strand (-) and Double strand (ds)
 S=segmented NS=non-segmented

100nm

Replikácia vírusov - stupne

(obr.1)

- 1. Rozpoznanie cieľovej bunky
- 2. Prichytenie
- 3. Penetrácia
- 4. Vyzlečenie
- 5. Syntéza
 - včasnej mRNA a neštrukturálnych proteínov
 - replikácia genómu
 - pozdna mRNA a štrukturálne proteíny
- Pospájanie súčastí, pučenie obalených vírusov, uvoľnenie z bunky



Replikácia vírusov (obr.2)

- *Hostiteľská bunka - poskytuje substrát, energiu a vybavenie potrebné pre syntézu vírusových proteínov a replikáciu genomu. Boj o energiu a zdroje.
Čo bunka neponúka, to si musí vírus vyprodukovať - musí byť zakódované v genome vírusu.*
- **Replikačný cyklus vírusu:**
 - **skorá fáza infekcie** - *rozpoznanie, prichytenie, penetrácia, vpustenie do bb, vyzlečenie, uvoľnenie genomu do jadra*
 - **pozdna fáza** - *replikácia genómu, makromolekúl, spojenie a uvoľnenie*
 - **fáza eklipsie** - *obdobie od vyzlečenia genomu - strata infekčnosti po spojenie súčastí a objavenie sa nových virionov*
 - **latentné obdobie** - *obdobie eklipsie až po uvoľnenie virionov*

Rozpoznanie a prichytenie

- Interakcia vírusových povrchových proteínov VAP - virus attachment proteins - s receptormi hostiteľskej bunky - určenie hostiteľa, špecificita vírusu - tropizmus
- VAP-obalených vírusov-glykoproteíny - gp120HIV -u neobalených vírusov - súčasť kapsidy
- **Vniknutie** - penetrácia - interakcia VAP a receptorov vyvolá internalizáciu - *neobalené* - endocytóza, -*obalené* - endocytóza alebo fúzia

Vyzlečenie

- Po internalizácii - genom sa musí dostať na miesto replikácie (*DNA - okrem poxv. do jadra, RNA ostajú v cytoplazme*) endozómy, lyzozómy, produkcia enzýmov.

Syntéza makromolekúl

- *Vírus musí vytvoriť mRNA, proteiny a vygenerovať identickú kópiu vlastného genómu*
- Transkripcia, translácia a replikácia
- Genóm je užitočný, ak sa prepíše do funkčnej mRNA schopnej viazať sa na ribozómy a preloží do proteínov - závisí to na štruktúre genómu a mieste jeho replikácie:

Klasifikácia sekundárna podľa stratégie replikácie

- - DNA vírusy - replikujúce sa v jadre - využijú DNA dependentnú RNA polymerázu hostiteľskej bunky
- - DNA vírus replikujúce sa v cytoplazme - poxv.- si vytvoria potrebné enzýmy pre transkripciu a replikáciu a vytvoria si mRNA
- - mRNA pre RNA vírusy
niektoré vírusy podobnej štruktúry majú rozdielny spôsob replikácie

DNA vírusy

- **Prepis DNA** sa uskutočňuje v jadre (okrem pox)
 - vírusová DNA je podobná DNA hostiteľskej b.
 - DNA nie je labilná, genóm zostáva v infikovanej b.
 - spôsbujú často perzistentnú infekciu
 - *skoré gény - neštrukturálne proteíny - enzýmy potrebné na proteosyntézu (polymeráza)
 - *pozdne gény - kódujú štrukturálne proteíny potrebné na spájanie súčastí
- **Regulácia** - dostupnosť DNA polymerázy, substrátu

RNA vírusy

- Replikácia a transkripcia sú podobné - vírusový genóm je buď mRNA (+RNA) alebo je templátom pre mRNA (-RNA)
- Vytvorí sa dsRNA - štruktúra normálne neexistujúca v neinfikovaných bb.
- Kódovanie RNA dependentných RNA polymeráz - rýchlo degradovateľné - sú prítomné hotové po vyzlečení alebo sa kódujú ako skoré E
- sú labilné, replikujú sa v cytoplazme, ľahko mutujú

- **+RNA**
- Pôsobí ako mRNA, viaže sa na ribozómy a dochádza priamo k proteosyntéze - vytvorí sa RNA dependentá RNA polymeráza - ktorá umožní vytvorenie -RNA kópie (dsRNA)
- **-RNA**
- nie je infekčná, musí sa do hostiteľskej b. dostať aj polymeráza aby sa vytvorila mRNA. Replikácia v cytoplazme (okrem influenzav.)
- **dsRNA**
- **retrovírusy**: nevie vytvoriť mRNA v cytoplazme, má RNA depDNA polymerázu

- Rastúca hostiteľská bunka poskytne zdroje pre nukleotida a polymerázu

-

ssDNA



- +RNA *Reverzná transkriptáza*

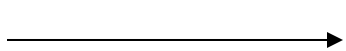
RNA dependentná DNA transkriptáza

dsDNA



DNA dependentá RNA polymeráza

- -mRNA



RNA dependentá RNA polymeráza

mRNA

=

+ mRNA

-

dsRNA



Syntéza vírusových proteínov

- Vírusy sú závislé na hostiteľských ribozómoch, tRNA a produkcii proteínov.
- Eukaryotické ribozómy sa viažu na mRNA a vytvoria kontinuálny proteín - polyproteín - ktorý je proteázami upravený na funkčné proteíny - posttranslačná modifikácia - fosforylácia, glykosylácia, acylácia...

Spojenie

- Jednotlivé súčasti virionu sú spájané ako trojrozmerné puzzle
- DNA (okrem pox.) v jadre, proteiny musia byť transportované z cytoplazmy do jadra
- RNA vírussy a pox. Sa skladajú v cytoplazme
- Neobalené vírussy - ako prázdna prokapsida, ktorá sa naplní genomom alebo sa kapsoméry ukadajú okolo genomu
- Obalené vírussy - získavajú obal pučením cez membránu ER, jadra, bunky

Uvoľnenie z bunky

- po lýze bunky - neobalené vírusy
- exocytózou, pučaním z plazmatickej membrány - obalené

uvoľnené vírusy sú obvykle zodpovedné za započatie novej infekcie, niekedy dochádza k splynutiu buniek - mnohojadrové obrovské syncytiá alebo k vertikálnemu prenosu

Genetika vírusov

- **Mutácie** - zmena vlastností dcérskej bunky v porovnaní s materskou b. alebo divokým typom
- Mutácie základných génov - inaktivácia vírusu - letálne
- Mutácie ostatných génov - zmena vlastností - delečné mutanty, atenuované, zmena hostiteľa, odolnosti voči teplote
- Indukované chemicky alebo žiarením
- V prírode sú následkom nedostatočnosti vírusových polymeráz
- Častejšie u RNA ako u DNA

Genetika vírusov 2

- **Rekombinácie** - koinfekcia 2 podobnými vírusmi
 - vírusy so segmentovaným genomom/reassortment
 - spojenie defektného vírusu s divokým
 - /komplementácia
- Selkčný tlak na nové kmene alebo mutanty - schopnosť prežiť v hostiteľskej b.

Vírusové ochorenia

- Preniknutím prirodzenými bariarami, únikom pred imunitnou kontrolou a zabitím dôležitých buniek alebo vyvolaním deštrukčnej imunitnej alebo zápalovej odpovede
- Imunitná odpoveď je najlepšou liečbou ale aj najväčším faktorom patogenézy vírusových ochorení
- tkanivový tropizmus - jednotlivé ochorenia môžu byť spôsobené viacerými vírusmi
- jeden vírus môže vyvolať rôzne ochorenia

Infekcia cieľového tkaniva

- Vstup do organizmu cez prerušenia kože alebo slizničnú bariéru chránenú slzami, hlienom, riasinkovým epitelom, žal. kyselinou, IgA,
- Inhalácia - pravdepodobne najčastejšia cesta
- Replikácia v napadnutej bunke - zostáva alebo sa šíri - krvným prúdom, MFS, lymfatickými cestami, neurónmi
- *porušením b., fagocytóza, aktívny transport*
- **Virémia:** (bunka v bráne vstupu - krv) primárna – (RES - krv) sekundárna (cieľový orgán)

Patogenéza vírusových ochorení

Záleží na víruse aj bunke

- Abortívna infekcie - *nepermisívna bunka, vírusové mutanty neschopné sa deliť*
 - Lytická - *permisívna bunka, vírus schopný delenia* -
 - Perzistentná - chronická, latentná, rekurentná, transformujúca - *semipermisívna bunka* - umožní len niektoré stupne replikácie
- *Replikácia vedie k cytolýze alebo alterácii bunky

Typy vírusových infekcií na bunkovej úrovni

Typ	produkcia vírusu	osud bb.
• Abortívna	-	bez efektu
• Cytolytická	+	smrt'
• Perzistentná		
*produktívna	+	poškodenie
*latentná	-	bez efektu
• Transformujúca		
*DNA vírus	-	immortalizácia
*RNA vírus	+	immortalizácia

Onkogénne vírusy

- Niektoré DNA vírusy a retrovírusy vyvolávajú perzistentnú infekciu, ktorá môže stimulovať nekontrolovaný rast buniek - transformácia alebo immortalizácia
- Pokračujúci rast, strata kontaktnej medzibunkovej inhibície rastu, schopnosť rastu v suspenzii alebo na polotuhom agare
- Rôzne mechanizmy zábrany naprogramovanej smrti bunky - apoptózy
- Vírusová transformácia je prvým stupňom, obvykle nestačí na onkogenézu alebo tvorbu tumoru. Bb. sú náchylnejšie

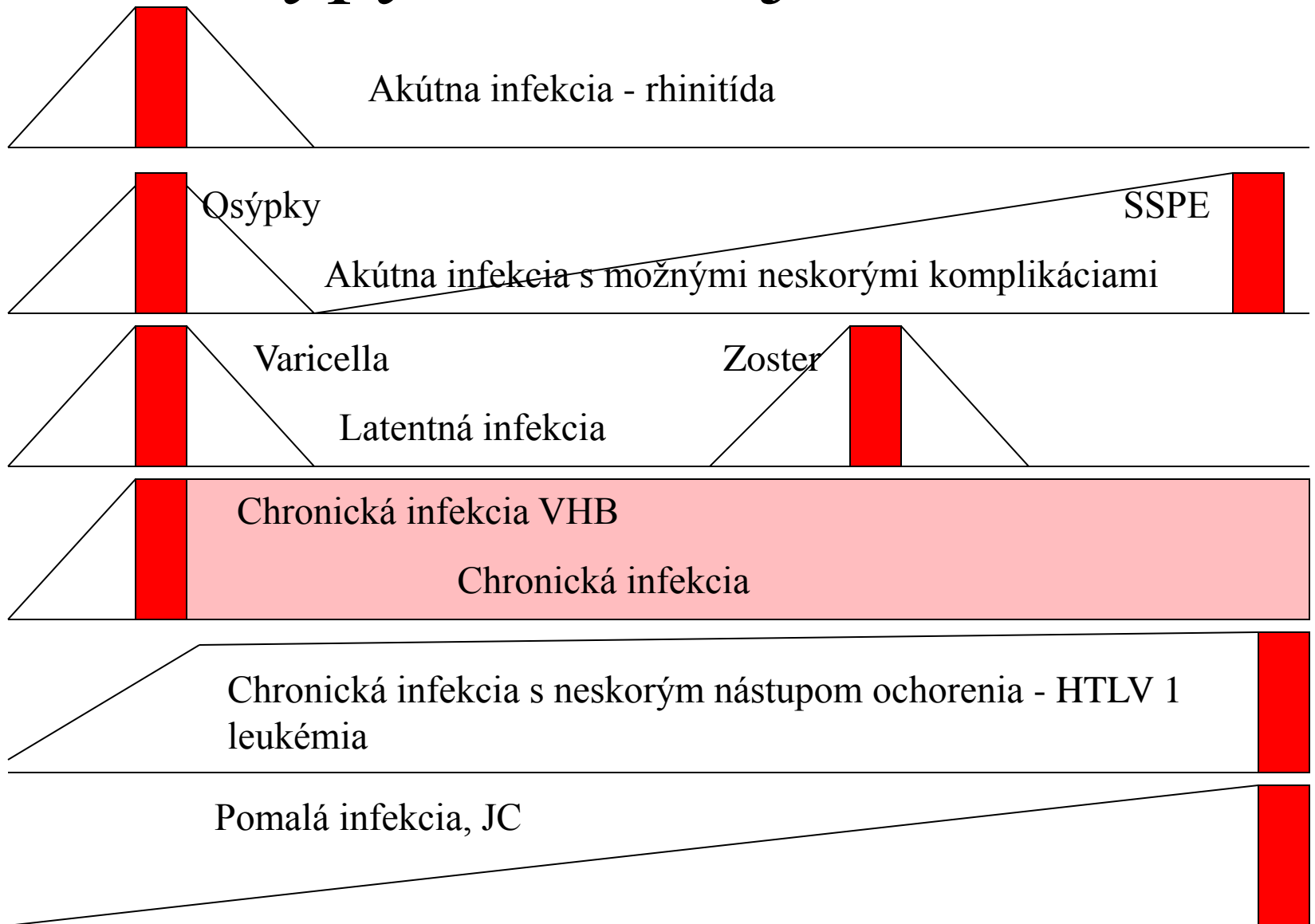
Obranné mechanizmy

- Nešpecifické obranné mechanizmy
 - Interferón - alfa, beta, gama
- Antigén špecifické
 - humornálna imunita,
 - T bunková imunita
- Imunitná odpoveď
 - primárna
 - sekundárna
- Mechanizmy úniku pred imunitou
- Imunopatologické procesy - hypersenzitivita a zápal

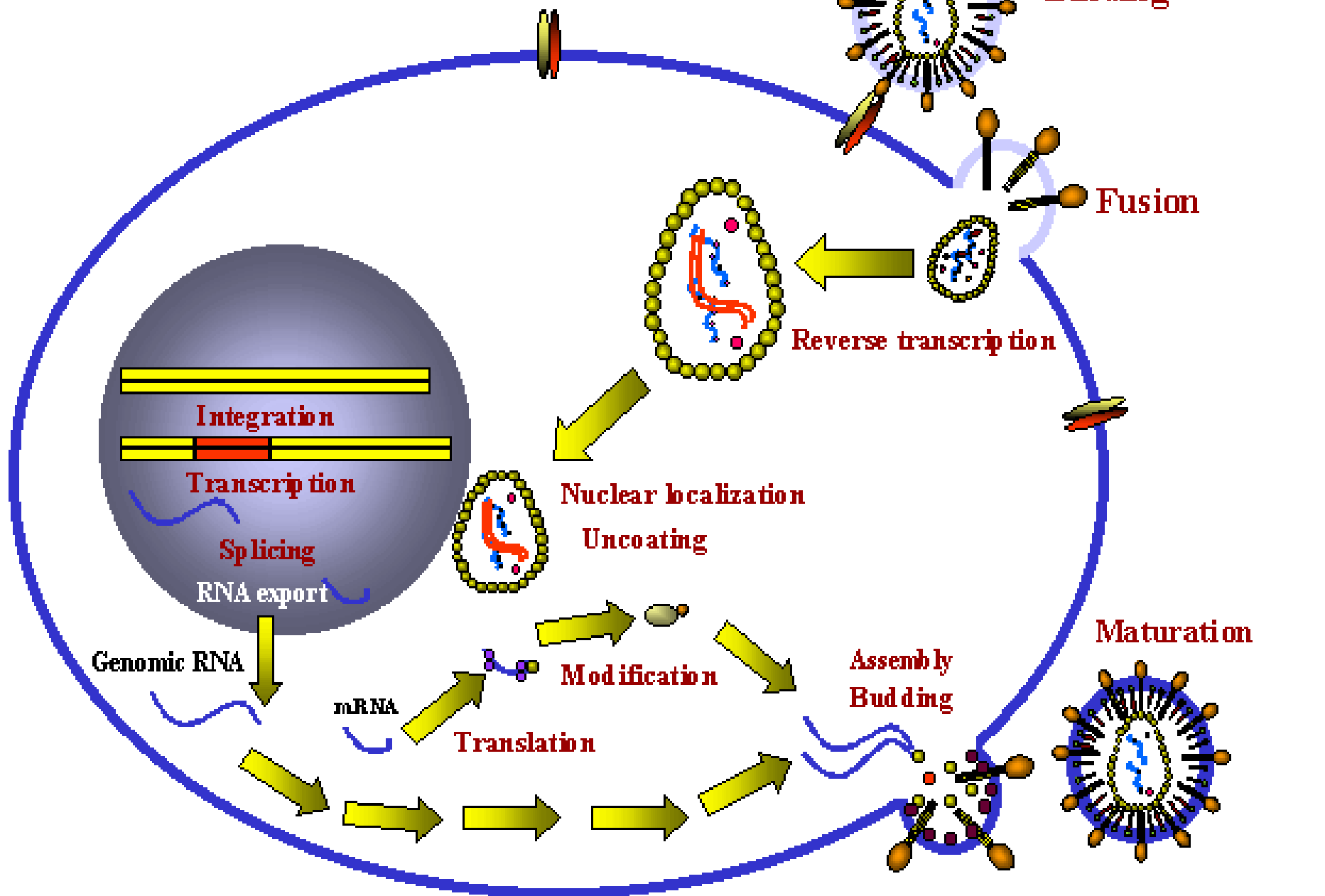
Vírusové ochorenie

- Akútna infekcia - prodromálne štádium, klinické štádium, rekonvalescencia: chrípka
- Akútna infekcia s neskorými komplikáciami: SSPE
- Latentná infekcia: VZV
- Chronická infekcia: chronická VHB
- Chronická infekcia s neskorým ochorením: HTLV
- Pomalá infekcia: nekonvenčné vírusy

Typy vírusovej infekcie



Replikačný cyklus a miesta možného ovplyvnenia množenia vírusu liekmi



Ciele anti vírusovej terapie

- Aktivity buniek dôležité pre vírus ale ni pre život bunky
- Aktivity organizmu dôležité pre vírusovú replikáciu rýchlosť, rozsah hostiteľskej reakcie
- Aktivita vírusov a štruktúry potrebné pre jeho replikáciu

Ovplyvnenie imunitného stavu

- **Akvirovanie infekcie** – detergentné prípravky pre obalené vírusy – (Nonoxynol 9 lokálny antikoncepčný gel – proti HIV, HSV), protilátky
- **Rozšírenie vírusu** – protilátky
- **Podpora im. odpovede** – interferon, interferon induktory, imunomodulačná terapia – produkcia interferónu a lymfokínov, aktivácia T killers a T killers odpovede
- Účinkujú lepšie profylakticky alebo skoro v priebehu infekcie.

- Prichytenie - - interakcia receptorov a VAP –protilátky blokujú antigény, antagonisti receptorov (analógy cukrov, peptidy) blokujú interakciu
- Penetrácia – vyžaduje kyslé prostredie endocytických vakuol na vyzlečenie – slabé organické bázy (hydrofóbne amíny – neutralizácia prostredia a inhibícia
- RNA syntéza – problém inhibovať vírusovú mRNA bez ovplyvnenia ľudskej, vysoká mutačná aktivita RNA – rezistencia. Rifampicin – pox a adenovírus polymeráza.

Interferon prirodzený aj umelý – kaskáda biochemických pochodov blokujúcich replikáciu vírusov

Protismerné oligonukleotidy – krátke komplementárne sekvencie nukleotidov k vírusovému genomu, väzbou na novoprepísanú vírusovú RNA blokujú jej využitie

Analogy nukleosidov – sú fosforylované vírusovými alebo bunkovými enzýmami (thimidin kinázou) inhibujú polymerázu väzbou na ňu – blokovanie sy.

Antivirotíká a mechanizmus ich účinku

- Prichytenie – *analógy VAP, neutralizujúce Ab, heparín, dextran sulfát*- **HIV, HSV, väčšina vírusov**
- Penetrácia a vyzlečenie – *Amantadin, rimantadin* **Influenza A, HSV, picorna vírusy**
- Transkripcia – *Interferon, protismerné oligonukleotidy* **vírus hepatitídy A, B, C, papilomavírusy**
- Syntéza proteínov – *Interferon* **vírus hepatitídy A,B,C**
- DNA replikácia – *analógy nukleotidov, fosfono-zlúčeniny (analógy pyrofosfátu)* **HSV, HIV**
- Syntéza nukleosidov – *Ribavirin* **RSV**
- Náhrada thymidin kinázy– *analógy nukleosidov* **VZV, HSV**
- Spracovanie glykoproteínov, zloženie subjednotiek, integrita vírusu **HIV**

Charakteristika antivírusovej terapie

- Zaostávala za antibakteriálnou – vírusy využívajú ľudské bunky na biosyntézu (toxicita).
- Pôvodné lieky – zamerané na syntézu DNA a RNA (podobne ako protinádorové)
- Novšie - zamerané na vyzliekacie enzýmy, štruktúry dôležité na replikáciu, blokovanie expresie vírusových genomov - protismerné RNA), zlepšovanie im.stavu.
- Limitované spektrum na skupinu vírusov.
- Rezistencia – dlhodobá liečba imunokompromitovaných pacientov

Vírusy liečiteľné antivirotikami

- Herpetické vírusy – HSV, VZV, CMV
- HIV
- Influenza vírus A
- RSV
- Vírus hepatitídy A,B,C
- Papilomavírus
- (vakcinácia)

Najznámejšie prípravky

- HSV – acyclovir – Zovirax, adenosin arabinosid – Vidarabin, iododeoxyuridin – Idoxuridin
- CMV – ganciclovir – Cytovene, fosfonofórmát – Foscarnet
- HIV azidothymidin – Retrovir, Zidovudin, dideoxyinosin - Didasodine
- Chřípka A – amantadin – Symmetrel
- VHC - interferon – Intron, Roferon
- HPV – interferon
- RSV, Lassa vírus – ribavirin - Virgazole