

VIRUS

A palavra "vírus", do latim, significa toxina, fluido venenoso.

Os vírus são formados por ácidos nucleicos, RNA (ácido ribonucleico) ou DNA (ácido desoxirribonucleico), envolvidos por uma capa proteica chamada de capsídeo.

Além desses componentes, alguns vírus ainda podem ser revestidos por uma película de gordura e proteína.

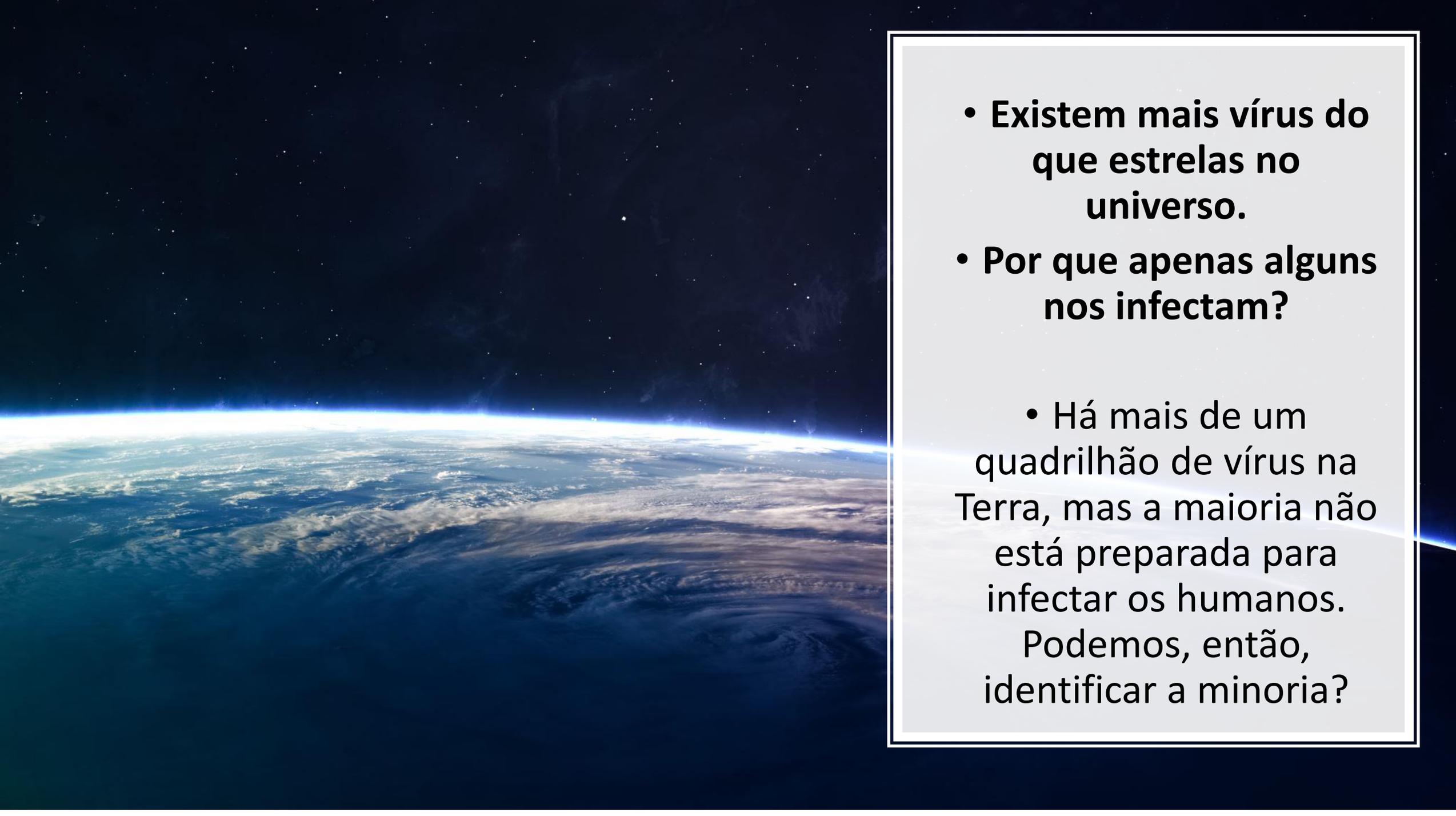
Louis Pasteur (1822 – 1895) foi o primeiro a utilizar o termo vírus para explicar o que seria o agente causador da doença raiva.

A técnica de filtração foi sua aliada nessa descoberta, pois o filtro utilizado retia bactérias e deixava passar seres ainda menores.

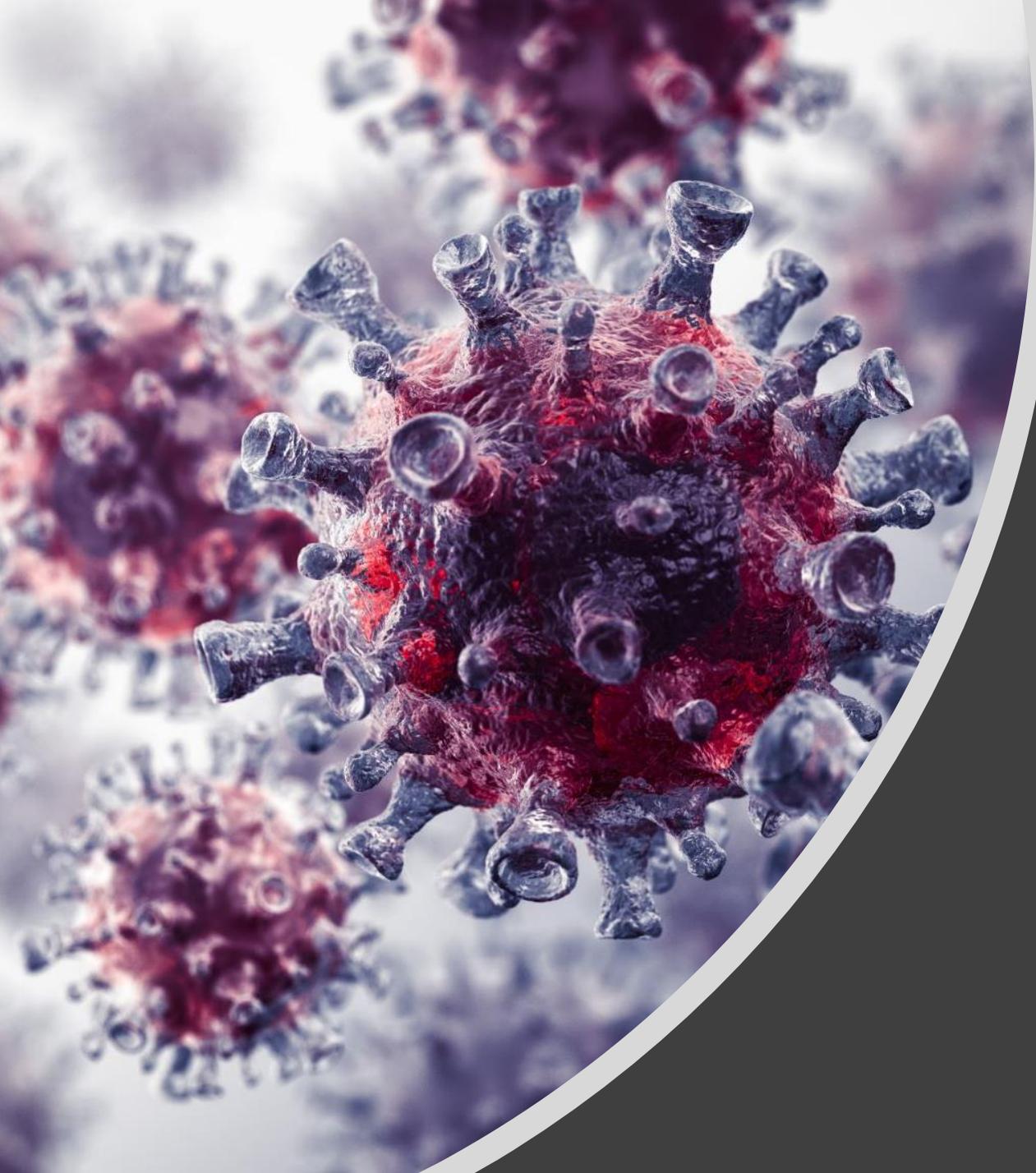
VIRUS

um potencial usurpador

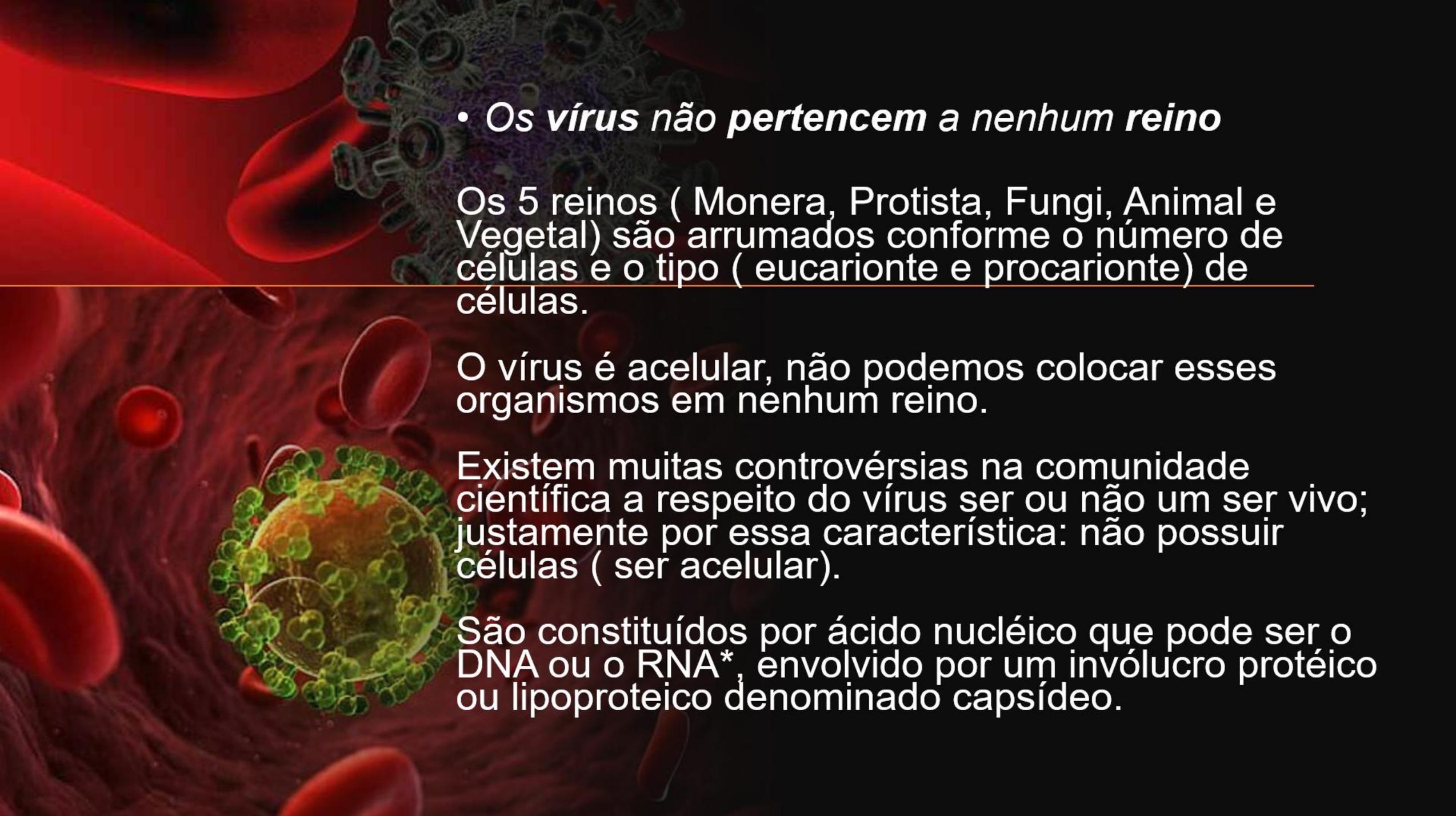
**sua meta é bem simples:
invadir as células de um ser vivo e usá-las para criar novas cópias de si mesmo, que vão repetir esse processo.**



- **Existem mais vírus do que estrelas no universo.**
- **Por que apenas alguns nos infectam?**
 - Há mais de um quadrilhão de vírus na Terra, mas a maioria não está preparada para infectar os humanos. Podemos, então, identificar a minoria?



- **NOSSO ENTENDIMENTO - O VIRUS NÃO É UM SER VIVO**
 - *Justificativa óbvia*
- A célula é a unidade fundamental dos seres vivos
 - Os Virus são seres **ACELULARES**, ou seja, **não** possuem célula.
 - Os vírus **não** pertencem a nenhum reino
 - Os vírus **não** possuem o conjunto de reações químicas que ocorrem dentro da célula, ou seja, **não** possuem metabolismo.



• ***Os vírus não pertencem a nenhum reino***

Os 5 reinos (Monera, Protista, Fungi, Animal e Vegetal) são arrumados conforme o número de células e o tipo (eucarionte e procarionte) de células.

O vírus é acelular, não podemos colocar esses organismos em nenhum reino.

Existem muitas controvérsias na comunidade científica a respeito do vírus ser ou não um ser vivo; justamente por essa característica: não possuir células (ser acelular).

São constituídos por ácido nucléico que pode ser o DNA ou o RNA*, envolvido por um invólucro protéico ou lipoproteico denominado capsídeo.

Os vírus **SÓ** são capazes de se replicar comandando o aparato reprodutivo das células e fazendo com que reproduzam a estrutura genética e as partículas do vírus **DENTRO DE UMA CÉLULA VIVA** .

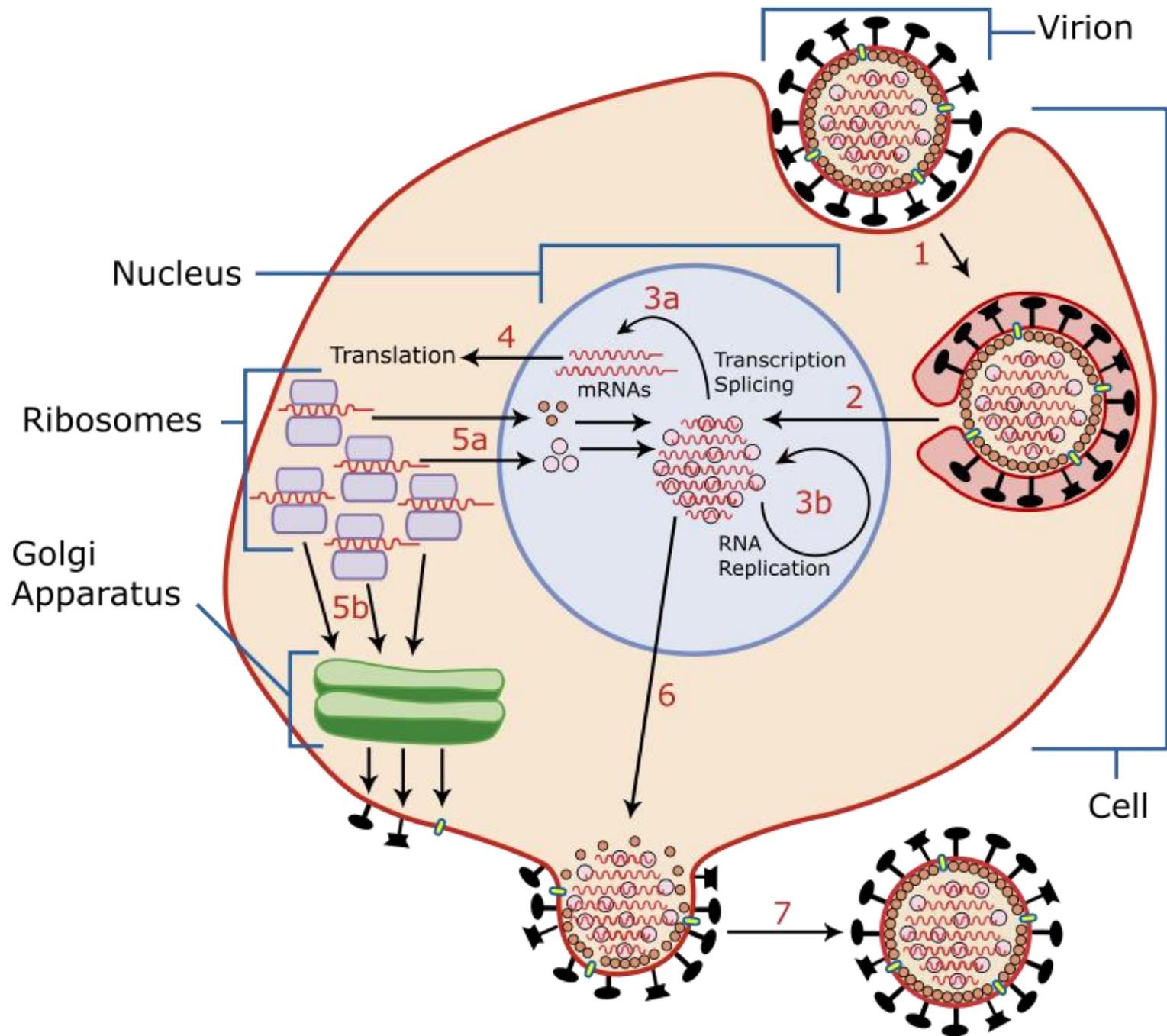
Como os vírus fazem isso depende principalmente do tipo de DNA ou RNA de ácido nucleico que eles contêm, que é um ou outro, mas nunca os dois.

Os vírus **NÃO PODEM** funcionar ou se reproduzir fora de uma célula e dependem **TOTALMENTE** dessa célula hospedeira para sobreviver.

A maioria dos vírus é específica da espécie, e os vírus relacionados geralmente infectam apenas uma gama estreita de plantas, animais, bactérias ou fungos.

Resumindo: Para que o vírus cause uma infecção, ele precisa **entrar** na célula do receptor, aí vai se reproduzir e, só assim, estabelecer um processo = **a infecção**.

O vírus entra nas células do organismo hospedeiro e usa os materiais dessas células para se reproduzir “matando” a célula do seu hospedeiro



A forma como um vírus entra em uma célula é diferente, dependendo do tipo de vírus.

Antes da entrada, o vírus se liga a uma célula hospedeira.

A ligação é alcançada quando proteínas específicas no capsídeo viral ou envelope viral se ligam a proteínas específicas chamadas proteínas receptoras na membrana celular da célula-alvo.

Primeiro o vírus se liga e depois entra na célula. O vírus entra “quebrando” a barreira natural da célula.

A célula é coberta por uma bicamada fosfolipídica, que é a barreira natural de uma célula para o mundo exterior. O processo pelo qual essa barreira é quebrada depende do vírus.

Os tipos de entrada são:

Fusão de membrana ou estado de hemifusão: a membrana celular é perfurada e feita para se conectar ainda mais com o desdobramento do envelope viral.

Endocitose : A célula hospedeira absorve a partícula viral através do processo de endocitose, essencialmente envolvendo o vírus como se fosse uma partícula de alimento.

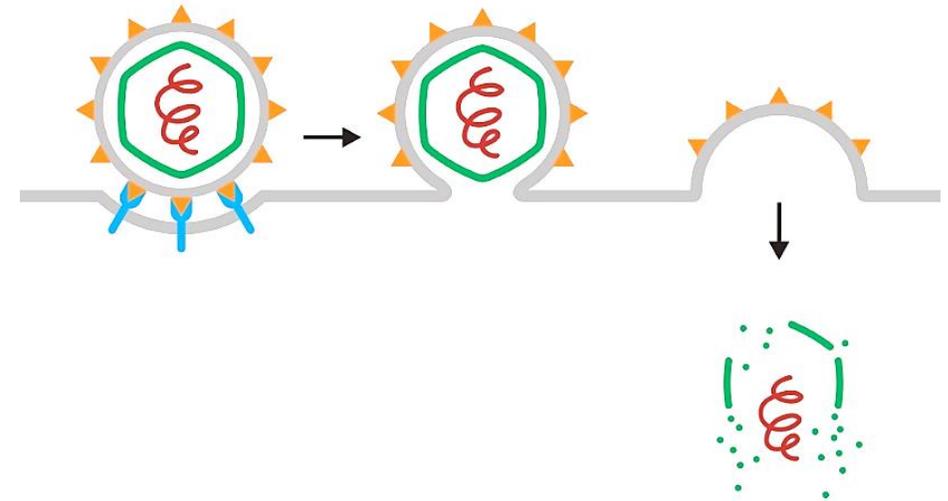
Penetração viral: o capsídeo ou genoma viral é injetado no citoplasma da célula hospedeira.

Por meio do uso da proteína verde fluorescente (GFP), a entrada e a infecção do vírus podem ser visualizadas em tempo real.

Depois que um vírus entra na célula, a replicação não é imediata e, na verdade, leva algum tempo (segundos a horas).
(ativação do RNA mensageiro do hospedeiro)

Entrada via fusão de membrana

O exemplo mais conhecido é através da fusão de membranas. Em vários vírus com envelope viral, os receptores virais se ligam aos receptores na superfície da célula e os receptores secundários podem estar presentes para iniciar a perfuração da membrana ou a fusão com a célula hospedeira. Após a fixação, o envelope viral se funde com a membrana da célula hospedeira, causando a entrada do vírus. Os vírus que entram em uma célula dessa maneira incluem HIV, KSHV e vírus herpes simplex.



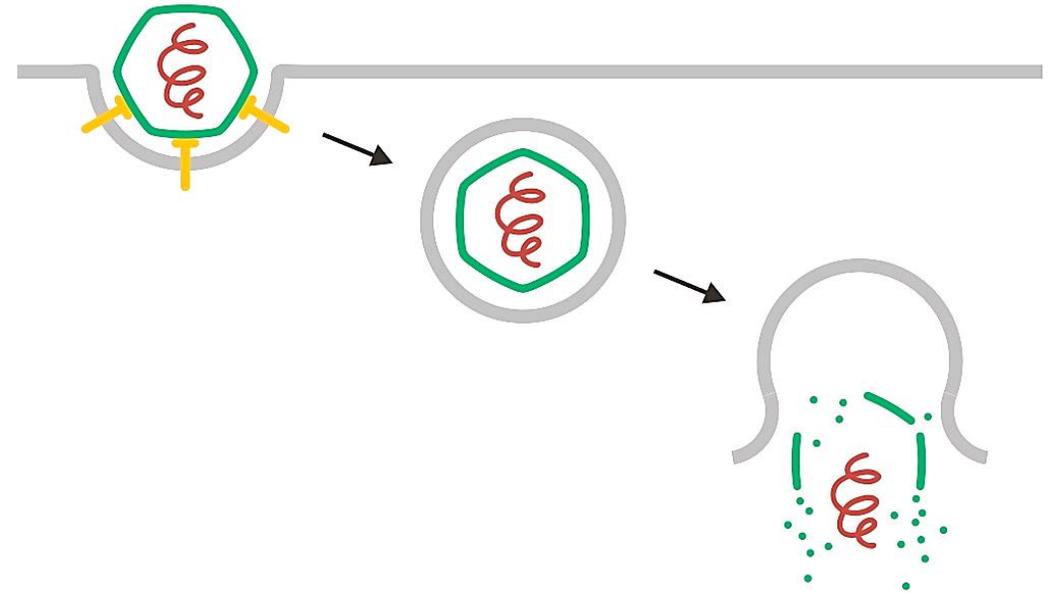
No SARS-CoV-2 e vírus semelhantes, a entrada ocorre através da **fusão da membrana** mediada pela **proteína spike**, seja na superfície celular ou nas vesículas. Os esforços de pesquisa se concentraram na interação da proteína spike com seu receptor de superfície celular, a enzima conversora de angiotensina 2 (ACE2). O alto nível evoluído de atividade para mediar a fusão célula a célula resultou em uma capacidade de fusão aprimorada. A inibição da infecção por SARS-2 tem como alvo as proteínas spike que abrigam a capacidade de fusão da membrana. [11] As vacinações são baseadas na inibição da glicoproteína spike (S) que medeia a fusão do vírus e suas membranas celulares hospedeiras. O mecanismo de fusão também é estudado como um alvo potencial para o desenvolvimento de antivirais.

Entrada via endocitose

Os vírus sem envelope viral entram na célula geralmente por endocitose; eles são ingeridos pela célula hospedeira através da membrana celular.

As células podem absorver recursos do ambiente fora da célula, e esses mecanismos podem ser usados pelos vírus para entrar na célula da mesma maneira que os recursos comuns.

Uma vez dentro da célula, o vírus sai da vesícula pela qual foi captado para ter acesso ao citoplasma. Exemplos incluem o poliovírus, o vírus da hepatite C, e o vírus da febre aftosa.



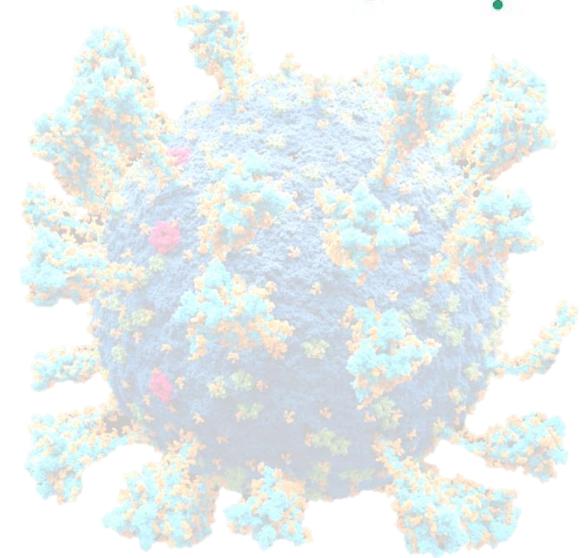
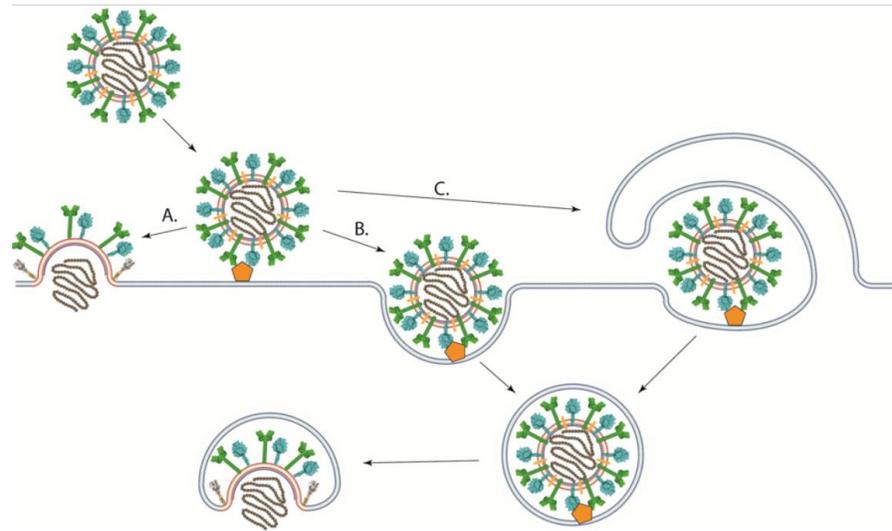
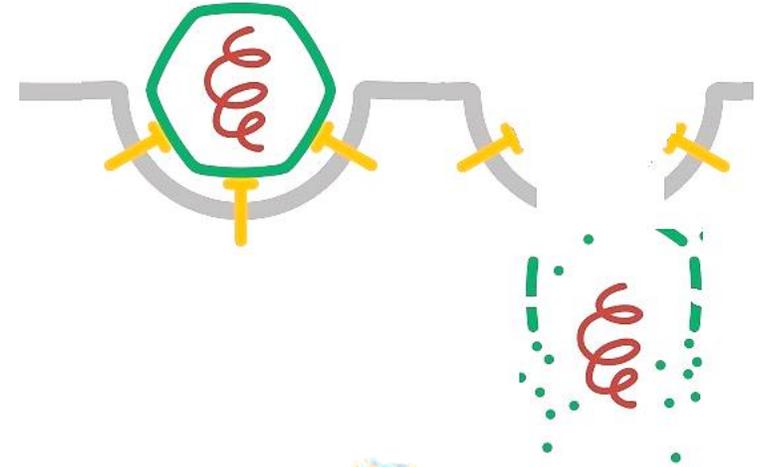
Muitos vírus envelopados, como o SARS-CoV-2, também entram na célula por endocitose.

A entrada pelo endossomo garante baixo pH e exposição a proteases necessárias para abrir o capsídeo viral e liberar o material genético em seu interior. Além disso, os endossomos transportam o vírus através da célula e garantem que nenhum vestígio do vírus seja deixado na superfície, o que poderia ser um substrato para o reconhecimento imunológico.

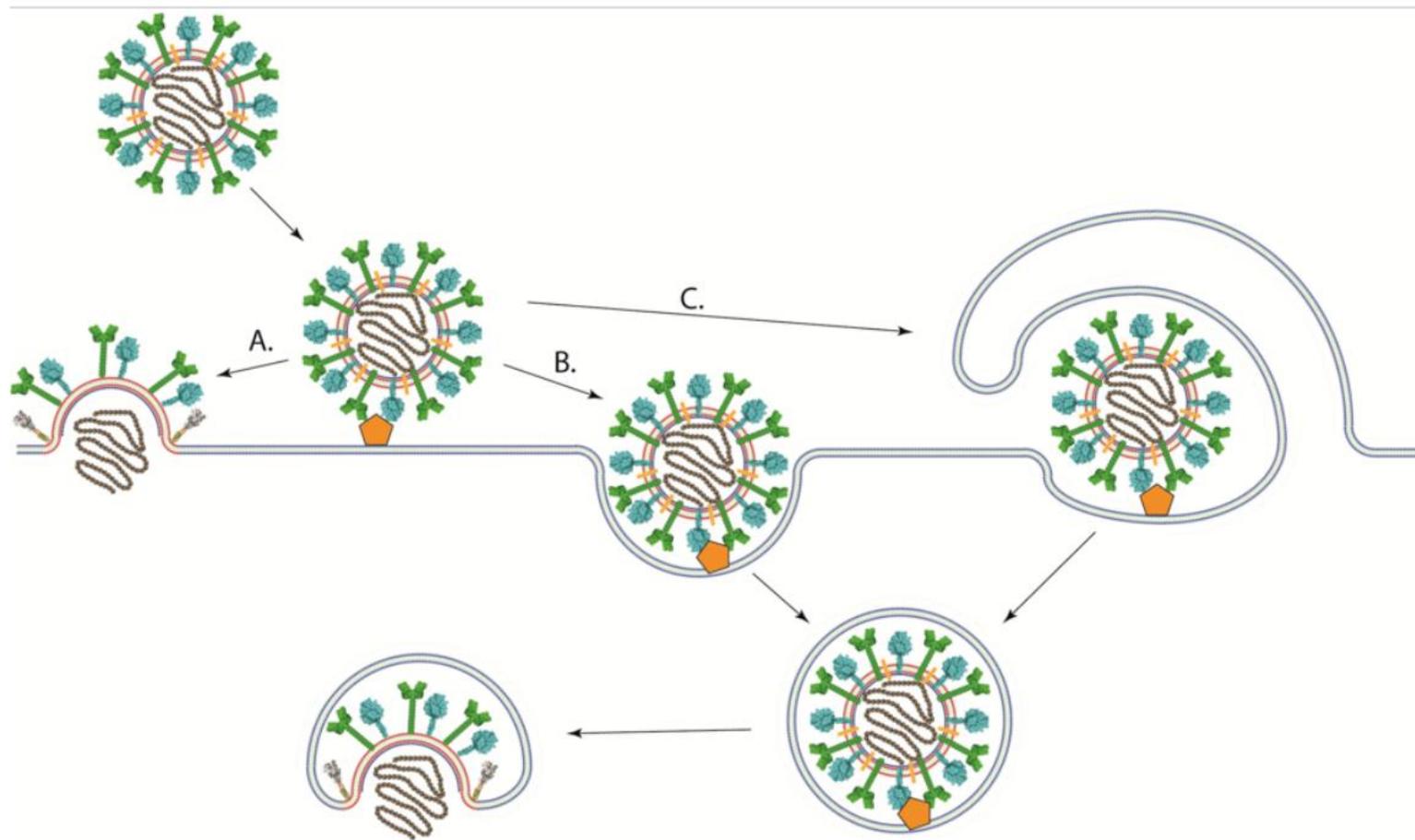
Entrada via injeção genética

Um terceiro exemplo, mais específico, é simplesmente anexar-se à superfície da célula por meio de receptores na célula e injetar apenas seu genoma na célula, deixando o resto do vírus na superfície. Isso é restrito a vírus nos quais apenas o genoma é necessário para a infecção de uma célula (por exemplo, vírus de RNA de cadeia positiva porque podem ser traduzidos imediatamente) e ainda mais restrito a vírus que realmente exibem esse comportamento.

O exemplo mais bem estudado inclui os bacteriófagos; por exemplo, quando as fibras da cauda do fago T2 pousam em uma célula, sua bainha central perfura a membrana celular e o fago injeta DNA do capsídeo da cabeça diretamente na célula.



Esquema de diferentes vias de entrada viral: (A) fusão de membrana , (B) endocitose e (C) macropinocitose



Esquema de diferentes vias de entrada viral: (A) fusão de membrana , (B) endocitose e (C) macropinocitose

Comentário - A entrada na célula por vírus envelopados é mais complicada.

Os vírus envelopados entram na célula ligando-se a um fator de ligação localizado na superfície da célula hospedeira. Eles então entram por endocitose ou um evento de fusão direta da membrana. O evento de fusão ocorre quando a membrana do vírus e a membrana da célula hospedeira se fundem, permitindo a entrada do vírus. Ele faz isso por fixação – ou adsorção – em uma célula suscetível; uma célula que contém um receptor ao qual o vírus pode se ligar. Os receptores no envelope viral efetivamente se conectam a receptores complementares na membrana celular. Essa ligação faz com que as duas membranas permaneçam em proximidade mútua, favorecendo mais interações entre as proteínas de superfície.

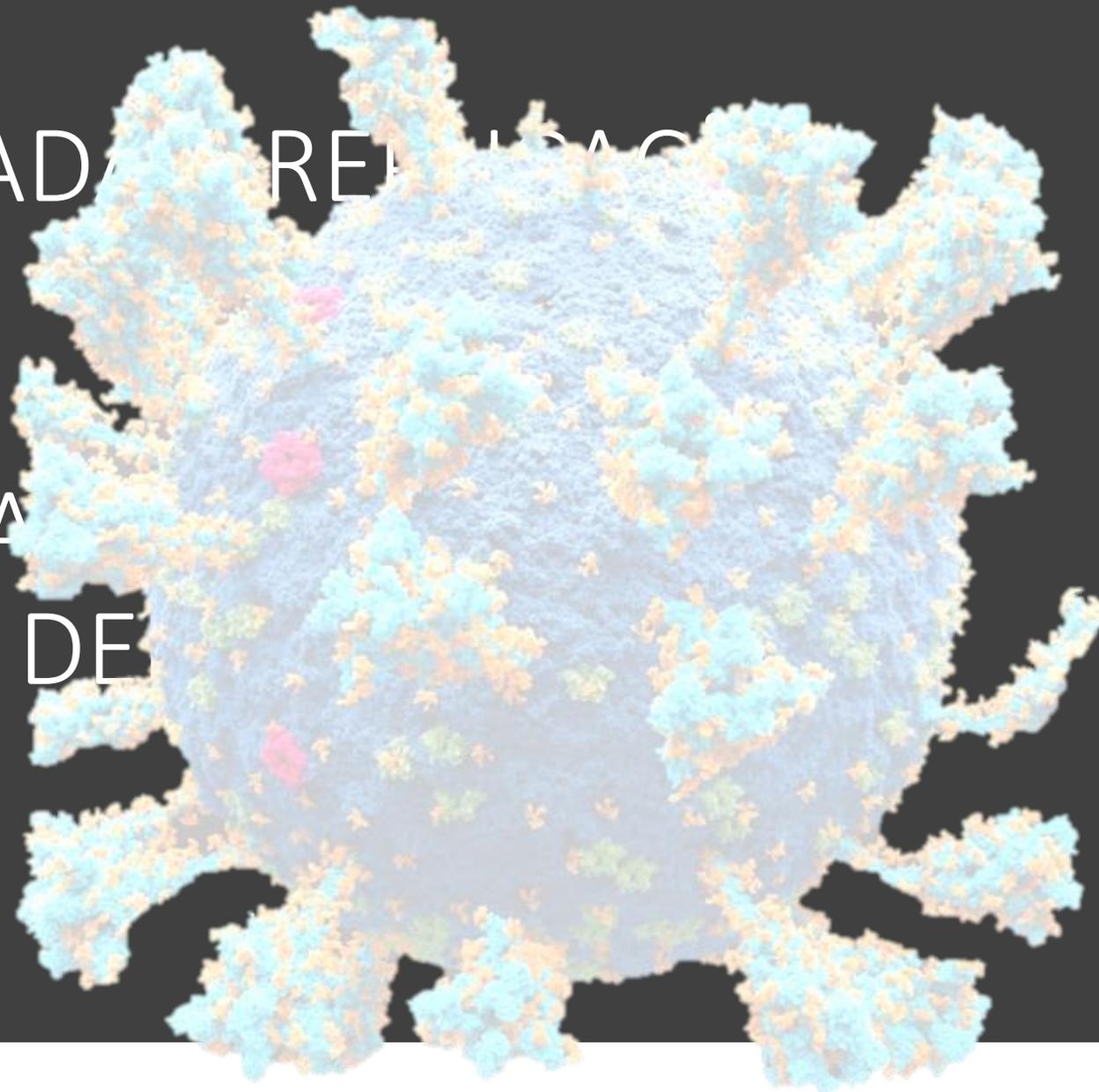
Este é também o primeiro requisito que deve ser satisfeito antes que uma célula possa ser infectada. A satisfação deste requisito torna a célula suscetível. Os vírus que exibem esse comportamento incluem muitos vírus envelopados, como o HIV e o vírus herpes simplex .

Essas ideias básicas se estendem aos vírus que infectam bactérias, conhecidos como bacteriófagos (ou simplesmente fagos). Os fagos típicos têm caudas longas usadas para se ligar a receptores na superfície bacteriana e injetar seu genoma viral.

É PRECISO CONHECER A ESTRUTURA DO VIRUS PARA PODER SABER COMO CONTORLA-LO DA MELHOR FORMA

ENTRADA REPLICAS

REPLICA
DE



Entrada



Replicação
Latência
Derramamento



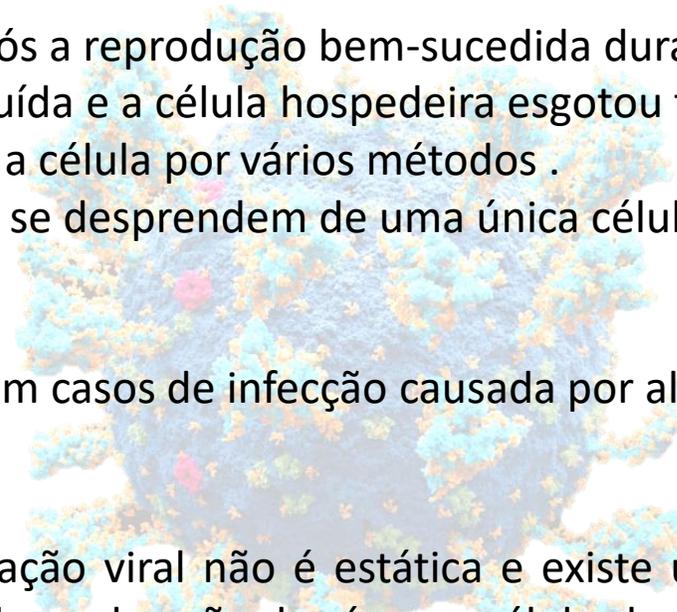
Infecção

A **replicação** viral é a formação de vírus biológicos durante o processo de infecção nas células hospedeiras alvo. Os vírus devem primeiro entrar na célula antes que a replicação viral possa ocorrer. Por meio da geração de cópias abundantes de seu genoma e do empacotamento dessas cópias, o vírus continua infectando novos hospedeiros. A replicação entre vírus é muito variada e depende do tipo de genes envolvidos neles. A maioria dos vírus de DNA se reúne no núcleo, enquanto a maioria dos vírus de RNA se desenvolve apenas no citoplasma.

A **latência** do vírus (ou latência viral) é a capacidade de um vírus patogênico permanecer dormente (latente) dentro de uma célula, denotada como a parte lisogênica do ciclo de vida viral. Uma infecção viral latente é um tipo de infecção viral persistente que se distingue de uma infecção viral crônica.

A latência é a fase do ciclo de vida de certos vírus em que, após a infecção inicial, cessa a proliferação de partículas virais. No entanto, o genoma viral não é erradicado. O vírus pode se reativar e começar a produzir grandes quantidades de progênie viral (parte do ciclo de vida viral) sem que o hospedeiro seja reinfectado por um novo vírus externo e permaneça dentro do hospedeiro indefinidamente. A latência do vírus não deve ser confundida com a latência clínica durante o período de incubação, quando o vírus não está dormente.

O **derramamento** viral é a expulsão e liberação da progênie do vírus após a reprodução bem-sucedida durante uma infecção da célula hospedeira . Uma vez que a replicação foi concluída e a célula hospedeira esgotou todos os recursos para produzir progênie viral, os vírus podem começar a deixar a célula por vários métodos . O termo é usado de forma variada para se referir a partículas virais que se desprendem de uma única célula, de uma parte do corpo para outra, e de um corpo para o ambiente, onde o vírus pode infectar outro. A excreção de vacina é uma forma de excreção viral que pode ocorrer em casos de infecção causada por algumas vacinas atenuadas (ou "vírus vivo") .



A replicação viral segue as seguintes etapas:

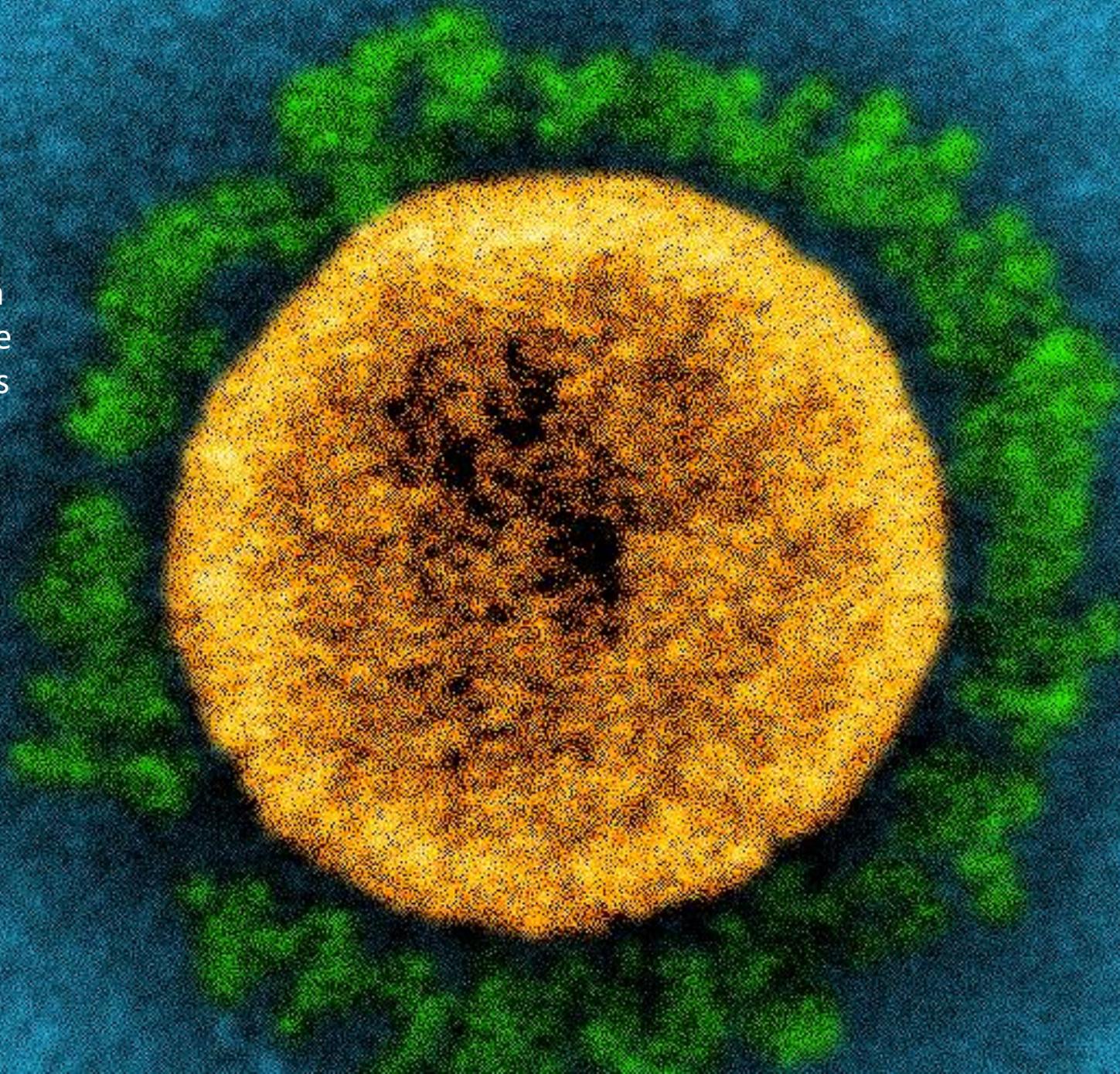
1. Adsorção (Spike/receptor);
2. Liberação genoma Viral p/ interior celular;
3. Tradução de enzimas do complexo; Replicação/Transcrição);
4. Transcrição do RNAm em segmentos de polaridade negativa;
5. Transcrição do RNAm em segmentos de polaridade +;
6. Tradução de proteínas estruturais;
7. Replicação do RNA gênomico;
8. Composição do novo vírion;
9. Liberação da partícula viral.

A replicação viral não é estática e existe um tempo que vai desde a adsorção do vírus as células hospedeiras até a liberação de novas partículas virais.

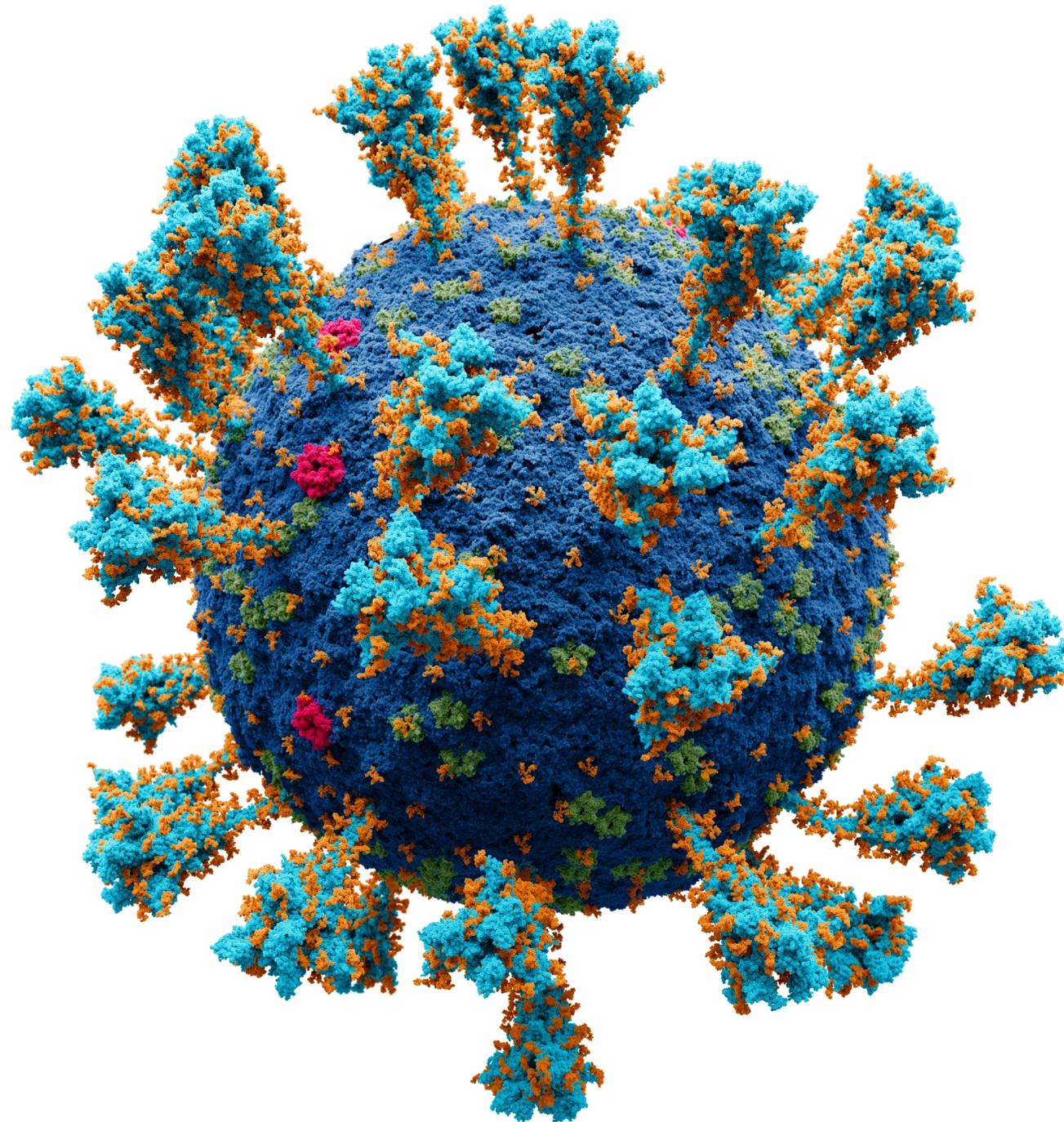
O SARS-Cov-19 é liberado da célula por brotamento, e não por lise celular. Após a saída da célula, o vírus adsove nas células vizinhas e, assim, sucessivamente.

Como ainda não há um estudo sobre o tempo da replicação do coronavírus desde a entrada do vírus na célula até a saída da nova partícula viral, o aparecimento de IgM e IgG ainda não está bem definido, embora desde dezembro de 2019, mais de 600 publicações tenham sido colocadas à disposição da Sociedade Científica.

Micrografia eletrônica de transmissão de um virion SARS-CoV-2 , mostrando a aparência característica de "corona" com as proteínas spike (verde) formando projeções proeminentes da superfície do virion (amarelo).

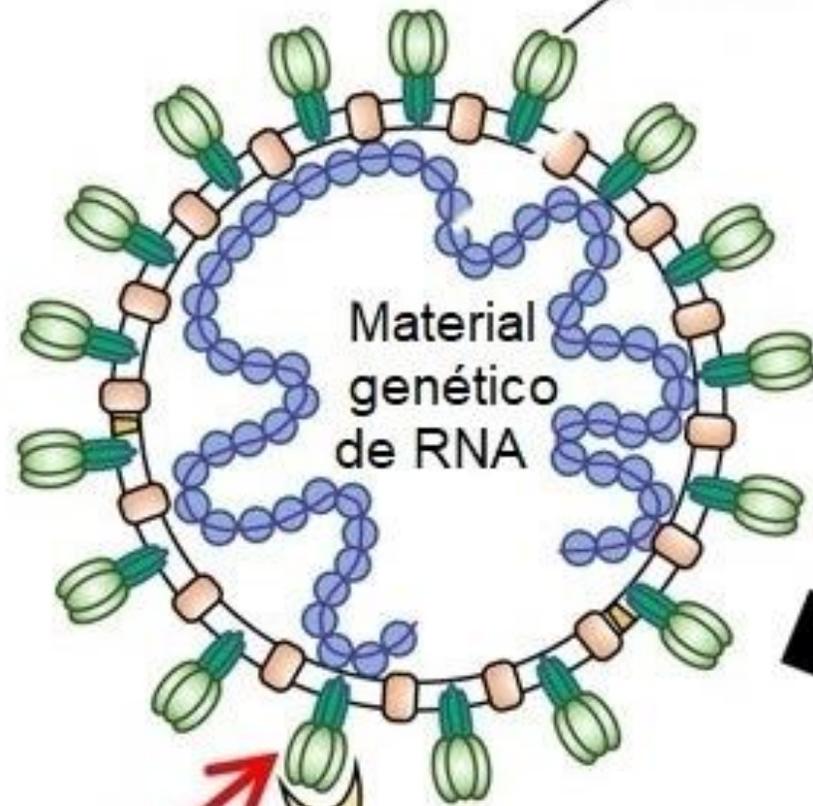


Modelo atômico
cientificamente
preciso da estrutura
externa do
CoronaVirus 2

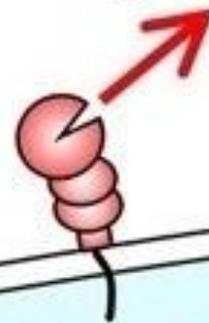
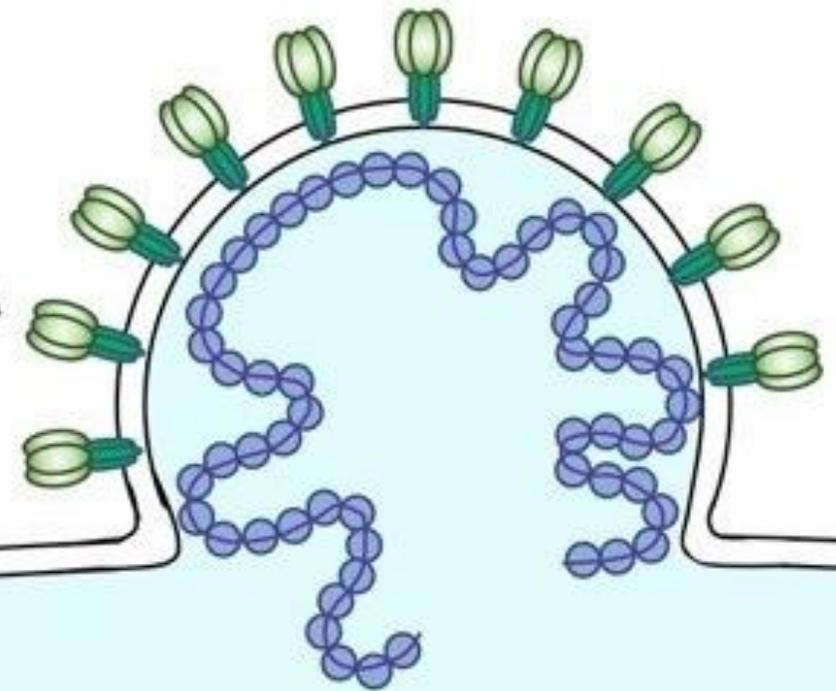


SARS-CoV-2

Proteína Spike



Fusão da membrana



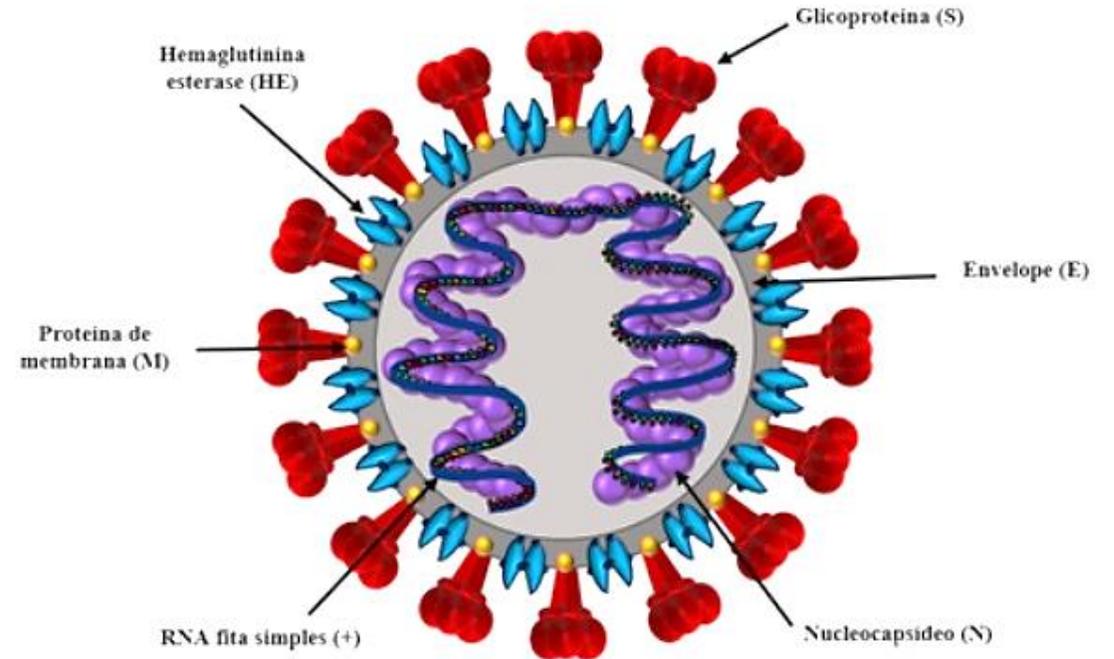
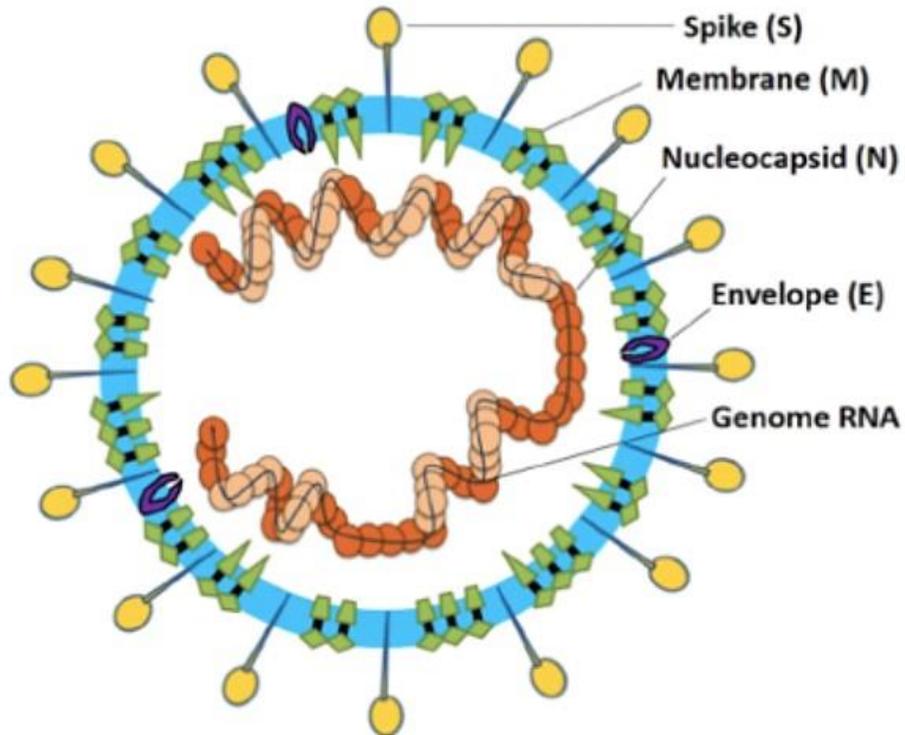
ACE2

Receptor da célula

TMPRSS2

Ativação da proteína spike por quebra proteolítica

Infecção



Estrutura da partícula viral de SARS-CoV-2.

O RNA do vírus está localizado no interior da partícula viral e encontra-se associado a proteínas denominadas nucleocapsídeos (N). Na superfície do envelope estão as proteínas de membrana (M), as glicoproteínas *spike* (S) e as proteínas hemaglutinina-esterase (HE).

A **proteína spike é responsável pela entrada viral na célula hospedeira**, uma etapa inicial necessária na replicação viral. É essencial para a replicação. Desempenha essa função em duas etapas, primeiro ligando-se a um receptor na superfície da célula hospedeira por meio de interações com a região S1 e, em seguida, fundindo as membranas viral e celular por meio da ação da região S2. A localização da fusão varia dependendo do coronavírus específico, com alguns capazes de entrar na membrana plasmática e outros entrando de endossomos após endocitose.

A **glicoproteína Spike (S)**, também chamada de **proteína spike**, é a maior das quatro principais proteínas estruturais encontradas nos coronavírus. A proteína spike se reúne em trímeros que formam grandes estruturas, chamadas spikes ou peplômeros, que se projetam da superfície do virion. A aparência distinta desses picos quando visualizados usando microscopia eletrônica de transmissão de mancha negativa, lembrando a coroa solar, [6] dá nome à família de vírus.

A **função da proteína spike é mediar a entrada viral na célula hospedeira**, primeiro interagindo com moléculas na superfície externa da célula e depois fundindo as membranas viral e celular. A proteína Spike é uma proteína de fusão classe I que contém duas regiões, conhecidas como S1 e S2, responsáveis por essas duas funções. A região S1 contém o domínio de ligação ao receptor que se liga aos receptores na superfície da célula.

Os coronavírus usam uma gama muito diversificada de receptores;

O SARS-CoV (que causa o SARS) e o SARS-CoV-2 (que causa o COVID-19) interagem com a enzima conversora de angiotensina 2 (ACE2). A região S2 contém o peptídeo de fusão e outras infraestruturas de fusão necessárias para a fusão da membrana com a célula hospedeira, uma etapa necessária para infecção e replicação viral. A glicoproteína de pico determina a gama de hospedeiros do vírus (quais organismos ele pode infectar) e o tropismo celular (quais células ou tecidos ele pode infectar dentro de um organismo). [4] [5] [7] [8]

A proteína de pico é altamente imunogênica . Anticorpos contra pico de glicoproteína são encontrados em pacientes recuperados de SARS e COVID-19. Anticorpos neutralizantes visam epítomos no domínio de ligação ao receptor. [9] A maioria dos esforços de desenvolvimento de vacinas para COVID-19 em resposta à pandemia de COVID-19 visa ativar o sistema imunológico contra a proteína spike. A proteína Spike é, supostamente, a principal determinante da patogenicidade do vírus frente a várias atuações da mesma nos processos, outras proteínas ainda precisam ser identificadas, mas suas mutações conferem ao vírus a capacidade de evadir a imunidade .

A proteína spike é muito grande, geralmente com 1200-1400 resíduos de aminoácidos ; são 1273 resíduos no SARS-CoV-2 .

É uma proteína transmembranar de passagem única com uma cauda C-terminal curta no interior do vírus, uma hélice transmembranar e um grande ectodomínio N-terminal exposto no exterior do vírus.

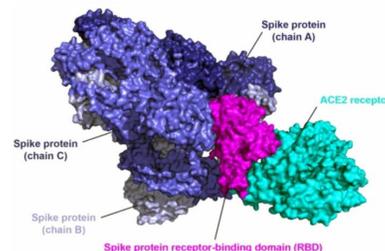
A glicoproteína Spike forma homotrímeros nos quais três cópias da proteína interagem através de seus ectodomínios. As estruturas dos trímeros foram descritas como em forma de pêra ou pétala. Cada proteína spike contém duas regiões conhecidas como S1 e S2, e no trímero montado as regiões S1 na extremidade N-terminal formam a porção da proteína mais distante da superfície viral, enquanto as regiões S2 formam um "haste" flexível contendo a maioria das interações proteína-proteína que mantêm o trímero no lugar. ceptor-binding domain (RBD)

Como já mencionado, a proteína S (glicoproteína spike) possui duas subunidades com funções diferentes: A primeira, denominada S1, reconhece o alvo do vírus, uma proteína transmembrana chamada enzima conversora de angiotensina-2 (ou ACE2) expressa na superfície de células dos pulmões, vasos sanguíneos, coração, rins, intestinos e testículos.

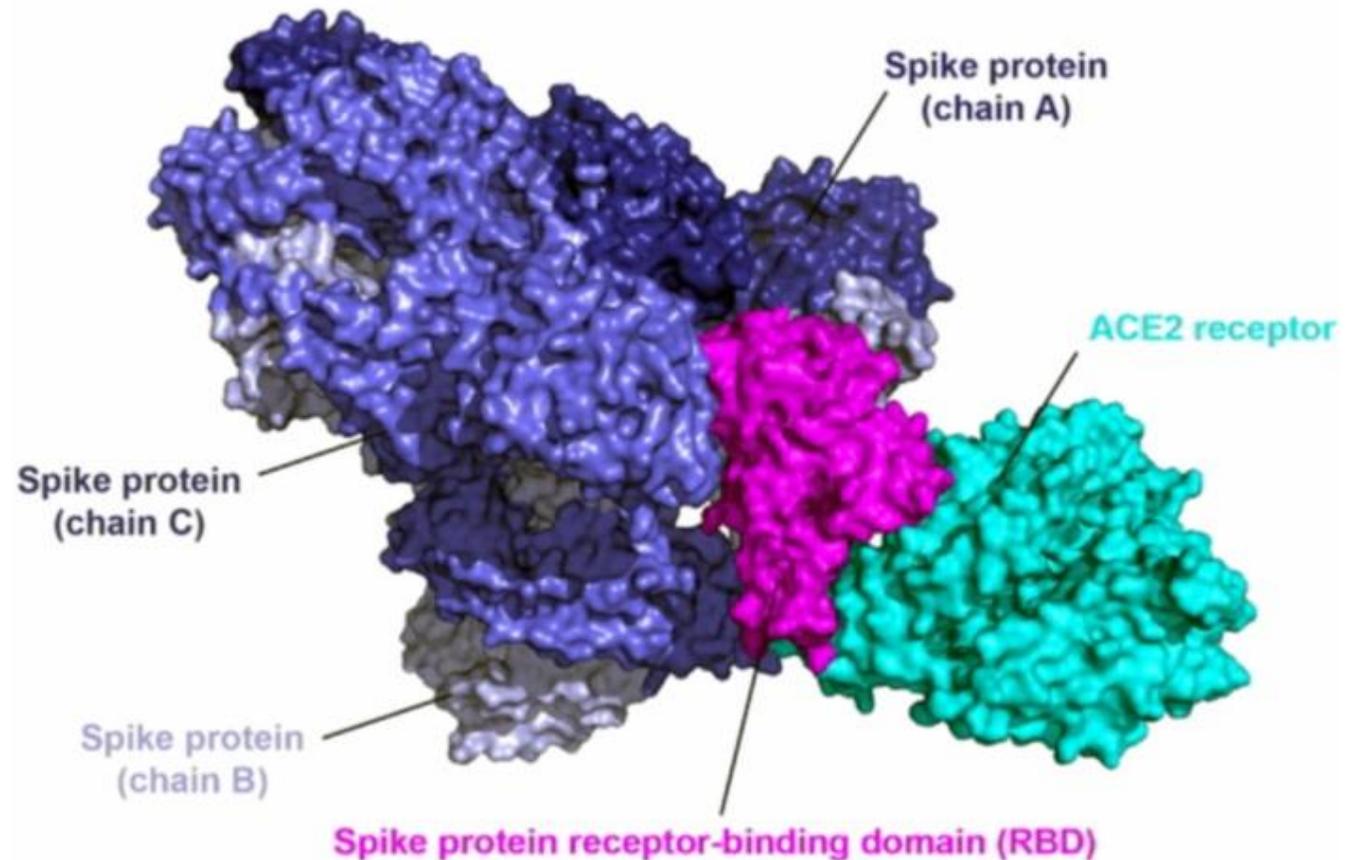
A segunda, S2, ajuda o vírus, uma vez ancorado à célula, a se fundir com a membrana da célula. Depois que a membrana externa do vírus se aglutina com a da célula afetada, o genoma viral é injetado na célula, sequestra sua estrutura de produção de proteínas e a força a gerar novos vírus.

A ACE2, descoberta no ano 2000, é muito semelhante em estrutura mas faz o papel inverso da ACE. Enquanto a última faz vasoconstrição e consequente aumento da pressão arterial, a ACE2 promove a vasodilatação e diminui a pressão.

Em pacientes com doenças crônicas a ACE2 geralmente é mais expressa, o que os torna mais suscetíveis a infecção pelo novo coronavírus. Além disso, o uso de medicamentos inibidores da enzima conversora de angiotensina (iECA) e dos bloqueadores dos receptores de angiotensina (BRA), comumente usados por pacientes com diabetes e hipertensão, pode resultar em um aumento ainda maior da expressão de ACE2 devido a um mecanismo compensatório.



- O SARS-CoV-2 inicia a infecção ligando-se a receptores nas células hospedeiras por meio da proteína viral spike (S). O receptor de entrada para o SARS-CoV-2 é a enzima conversora da angiotensina 2 da proteína da superfície celular humana (ACE2). O *domínio de ligação ao receptor (RBD)* dos "spikes" do vírus age como uma trava, ligando-se com alta afinidade à ACE2.



Apesar da ACE2 ser a porta de entrada do coronavírus nas células, a diminuição nos níveis dessa proteína pode causar ainda mais danos aos pulmões de quem está infectado, pois ocasiona o aumento da permeabilidade vascular, do edema pulmonar e do acúmulo de neutrófilos, além da piora na função pulmonar.

A infecção modula negativamente a expressão de ACE2 nos sistemas cardiovascular e pulmonar, predispondo a miocardite e insuficiência respiratória, respectivamente. Por outro lado, a produção de citocinas pró-inflamatórias é aumentada, levando a uma resposta inflamatória exacerbada.

Pesquisas mostram que a administração de ativadores de ACE2 antagoniza a tempestade de citocinas.

Estudos recentes sobre os efeitos vasculares da proteína S sozinha – não da infecção por coronavírus em si – sugerem que o fenômeno é muito provavelmente mediado por efeitos no endotélio vascular.

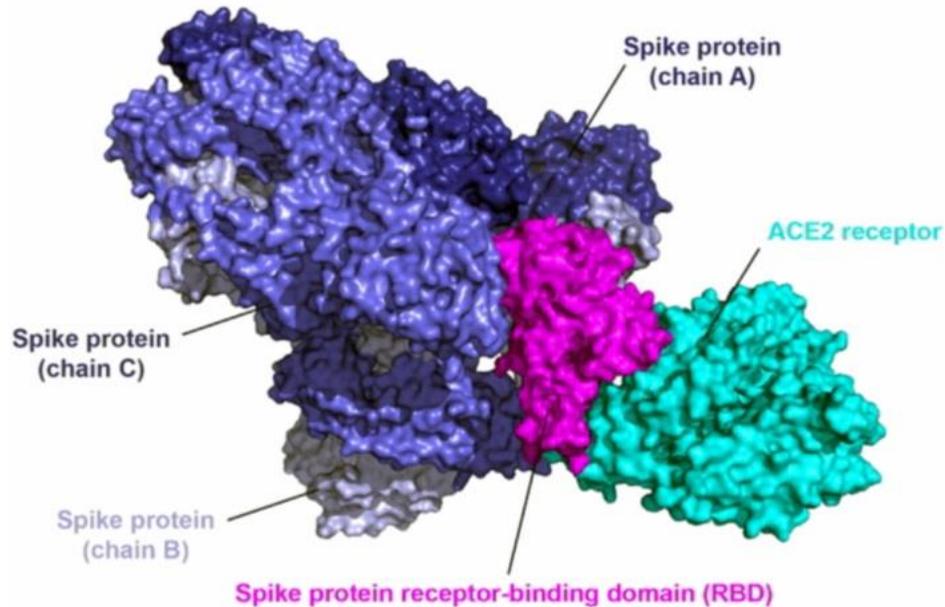
AS VACINAS PROMOVEM A PRODUÇÃO DE PROTEÍNA SPIKE!

Spike protein receptor-binding domain (RBD)

Em um estudo apresentado na reunião anual da Sociedade Americana de Farmacologia e Terapêutica Experimental, *Experimental Biology 2021*, os pesquisadores injetaram em ratos geneticamente modificados um pseudovírus que expressava a proteína spike de superfície do coronavírus SARS-CoV-2, enquanto um outro grupo de camundongos recebeu solução salina.

Os resultados mostram que os ratos que foram injetados com a proteína spike desenvolveram sintomas associados com covid-19, incluindo inflamação grave, um influxo de glóbulos brancos em seus pulmões, e evidência de uma tempestade de citocinas.

Os camundongos que receberam o placebo permaneceram normais.



"Nossas descobertas mostram que a proteína spike do SARS-CoV2 causa lesão pulmonar mesmo sem a presença do vírus intacto", disse Pavel Solopoy, professor assistente do Centro de Pesquisa Frank Reidy na Old Dominion University. "Este mecanismo até então desconhecido pode causar sintomas antes que ocorra uma replicação viral substancial".

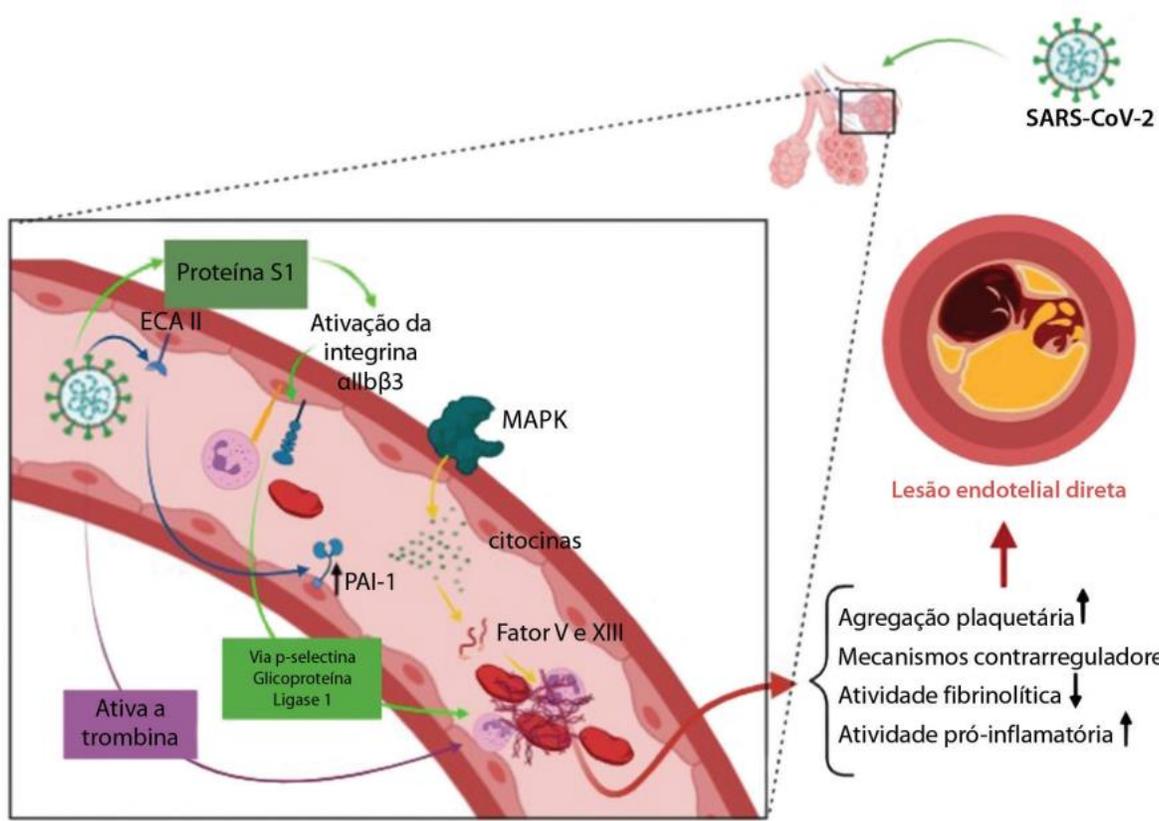
Quais são os mecanismos celulares relacionados aos eventos tromboembólicos em pacientes com COVID-19?

Lesão direta ao endotélio vascular

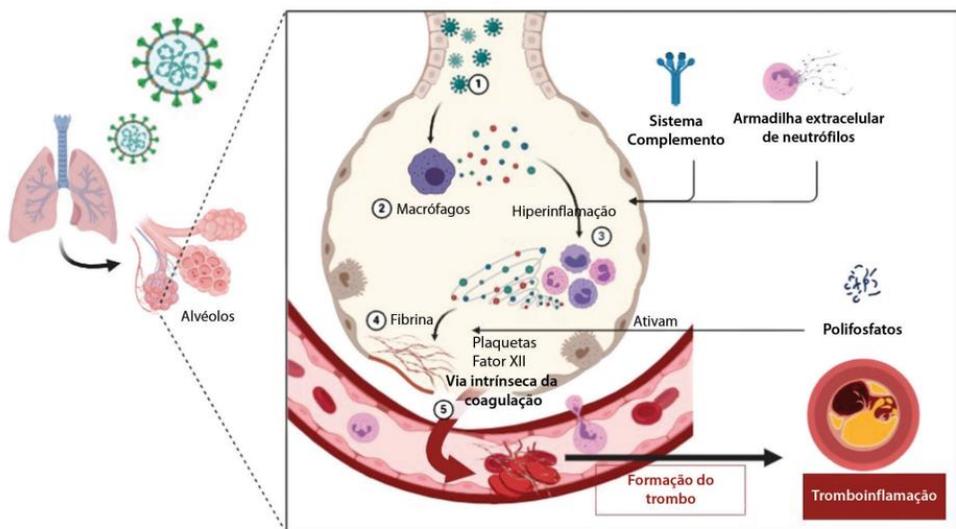
O SARS-CoV-2 pode levar diretamente a um processo de endotelite em vários órgãos, evento já estabelecido pela identificação de corpos virais dentro dessas células e da consequente resposta inflamatória resultante da morte celular³.

A endotelite explica as manifestações vasculares existentes nos casos graves da COVID-19, o que subsidia a possibilidade de novas abordagens terapêuticas, como, por exemplo, o uso de drogas estabilizantes do endotélio enquanto o sistema imune atua no processo de eliminação do vírus no organismo³. Foram postulados diferentes mecanismos (Figura 1) que explicam os processos de lesão direta. Entre esses, os mais estudados são: I - A proteína S aumenta de forma diretamente proporcional a agregação plaquetária e o consumo de adenosina trifosfato. De forma mais específica, a subunidade S1, mas não a S2, apresenta a capacidade de induzir o processo de coagulação mediada por plaquetas. A partir de análises em citometria de fluxo, foi descoberto também que a subunidade S1 induz a maior ativação da integrina $\alpha\text{IIb}\beta\text{3}$ e a maior expressão da P-selectina⁴.

A integrina $\alpha\text{IIb}\beta\text{3}$ é a principal proteína estrutural das plaquetas e a responsável pela agregação plaquetária ao passar do seu estado de repouso para o seu estado ativo, realizando, assim, ligação com outras integrinas. Sabe-se que essa proteína tem importante função na interação entre plaquetas e leucócitos pela via P-selectina glicoproteína ligante 1, resultando, dessa forma, em uma grande produção de agregados de leucócitos-plaquetas que apresentam forte papel na lesão endotelial e, por consequência, na formação de trombos.



Vias de lesão endotelial direta mediada pelo coronavírus 2 da síndrome respiratória aguda grave (SARS-CoV-2). ECAII = enzima conversora de angiotensina II; proteína S1 = proteína Spike 1; MAPK = proteína quinase ativada por mitógenos; PAI-1 = inibidor do ativador do plasminogênio tipo 1; fator V = proacelerina; fator XIII = fator estabilizador da fibrina.



Mecanismo de lesão endotelial indireta ocasionado pelo coronavírus 2 da síndrome respiratória aguda grave (SARS-CoV-2), mediado pela tempestade de citocinas pró-inflamatórias. 1 = SARS-COV-2; 2 = Macrófagos; 3 = Citocinas pró-inflamatórias levando ao processo de hiperinflamação vascular; 4 = Formação das redes de fibrina; 5 = Ativação da via intrínseca da coagulação que desencadeia a formação de trombos deslocando essa ação para uma tromboinflamação que acomete diversos vasos sanguíneos.



Vírus com genoma RNA de sentido positivo

Arteriviridae

Astroviridae

Caliciviridae

Hepeviridae

Coronaviridae

Picornaviridae

Flaviviridae

Togaviridae

Em 2013, cientistas descobriram que o morcego-de-ferradura intermediário (*Rhinolophus affinis*) pode carregar um coronavírus muito semelhante ao SARS-CoV-2.

