



EVROPSKÁ UNIE
Evropské strukturální a investiční fondy
Operační program Výzkum, vývoj a vzdělávání



Zpráva o řešení projektu reg. č.: CZ.02.2.69/0.0/0.0/16_015/0002362 za období 052020 - 072020

Autor: kolektiv autorů pod vedením prof. MUDr. Petra Zacha, CSc. z Ústavu Anatomie 3. LF UK

Příloha 3

Viry II

Interakce viru s buňkou

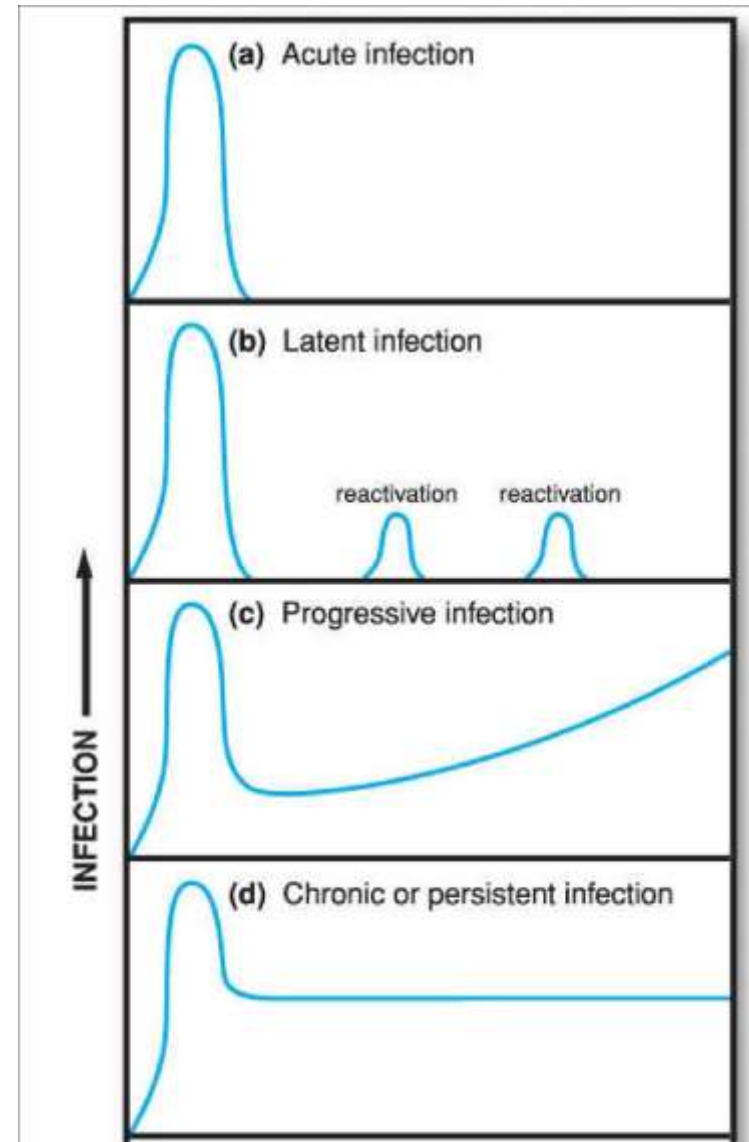
Přednáška 4029

Michael Jelínek

Obsah

- 1) Reprodukční cyklus virů
- 2) Významné virové skupiny
- 3) Působení antivirotik

- Virulence - relativní schopnost viru způsobit onemocnění (viry s vysokou virulencí - variola, papillomaviry, další rychle se replikující viry)
- Invazivita - schopnost pronikat do tkání
- Lokální infekce vs. systémová infekce

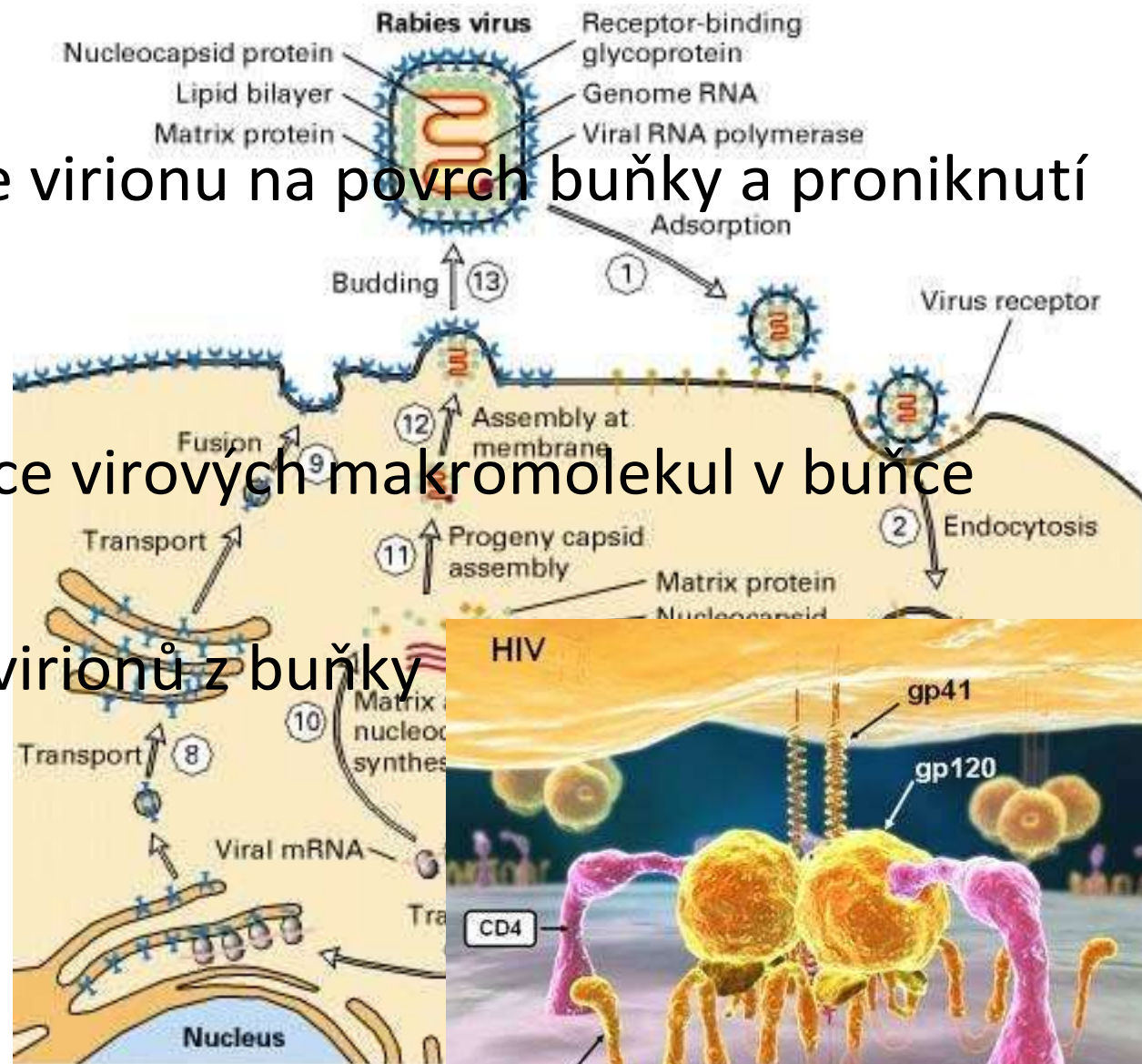


Reprodukční cyklus virů

1. Adsorpce virionu na povrch buňky a proniknutí

2. Reprodukce virových makromolekul v buňce

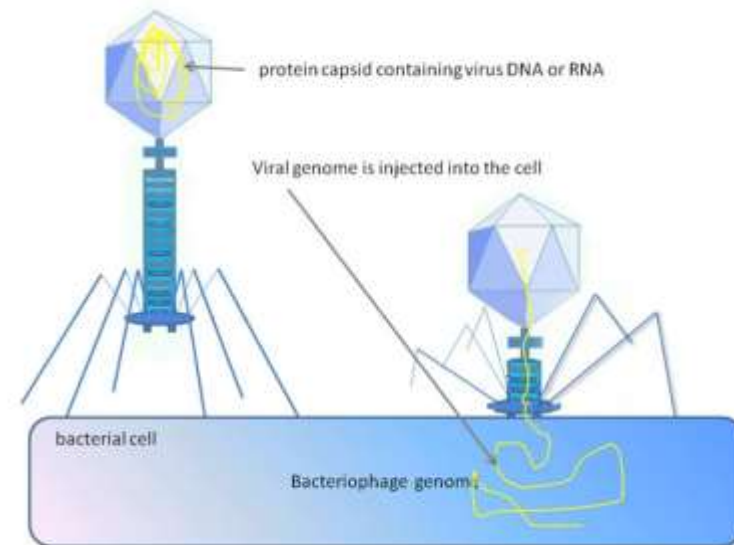
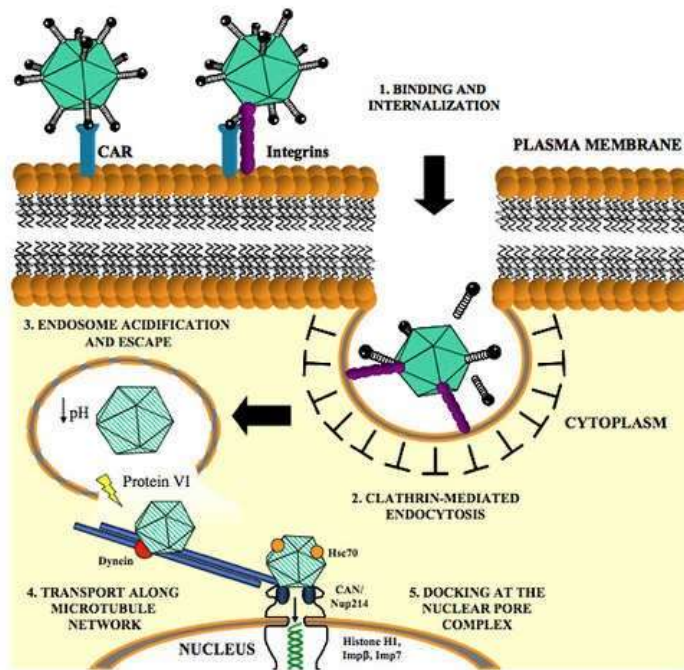
3. Uvolnění virionů z buňky



dovnitř

Průnik přes buněčnou membránu

1. Fúze membrán, nukleokapsida uvolněna do buňky
2. Receptorem zprostředkovaná endocytóza
3. Injekce DNA do cytoplazmy - bakteriofágy



Reprodukce virů

Reprodukční (lytický) cyklus - virus se v buňce namnoží a uvolní se do okolí
horizontální přenos

Virogenie (u bakteriofágů jako lyzogenie) - genom viru se integruje do genomu buňky (integrovaná NA je provirus), replikace s genomem buňky - vertikální přenos

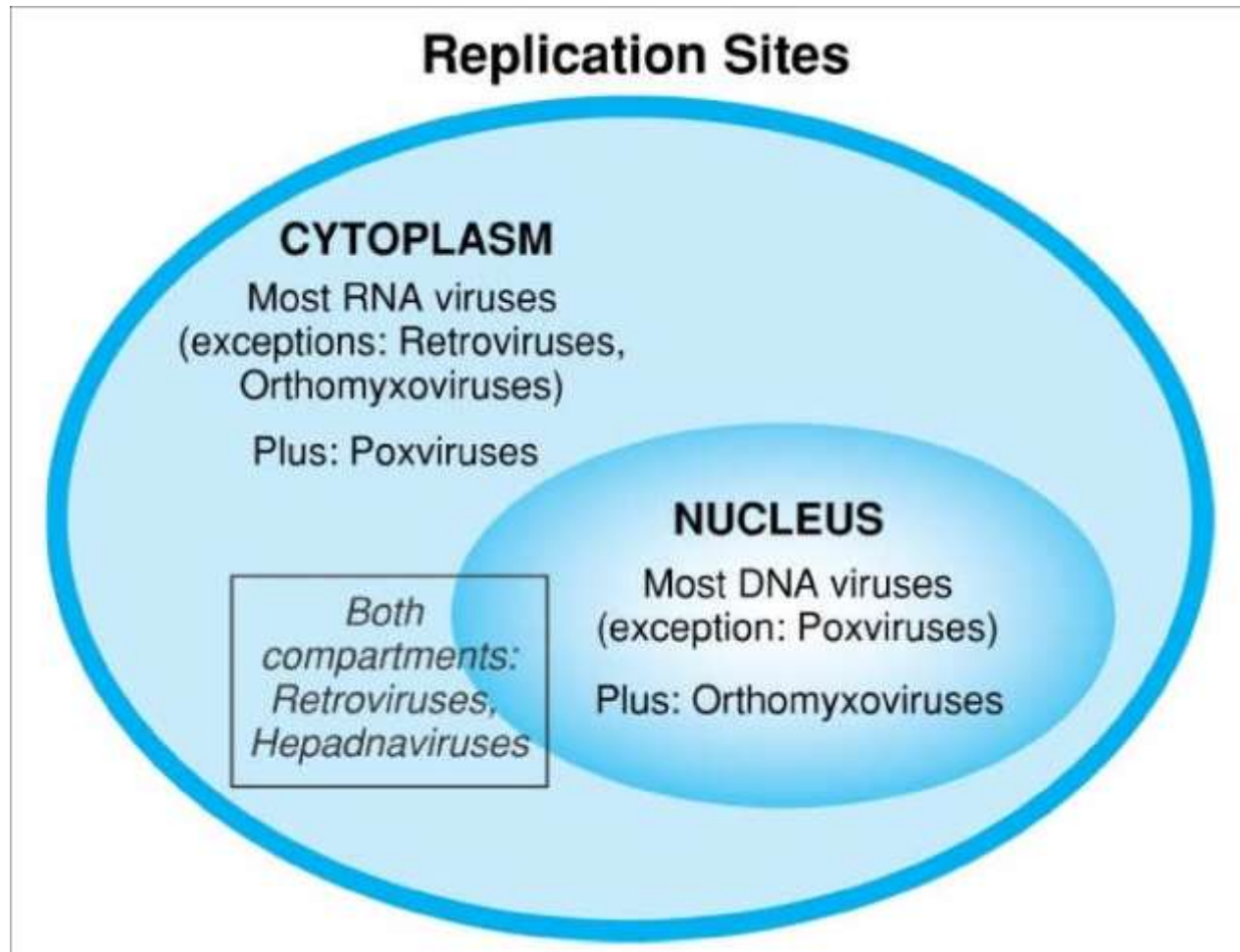
- Fáze reprodukce:
- 1) Uvolnění nukleové kyseliny z kapsidy
 - 2) Syntéza časných proteinů
 - 3) Replikace nukleové kyseliny
 - 4) Syntéza pozdních, zejména strukturních, proteinů
 - 5) Maturace virionů - autoagregace

Latence - genom viru je v buňce, ale proteiny viru se neprodukují, nebo pouze ve velmi malém

množství Perzistence - genom viru je v buňce, ale exprimuje se pouze velmi nízká hladina virových proteinů, nebo pouze malé

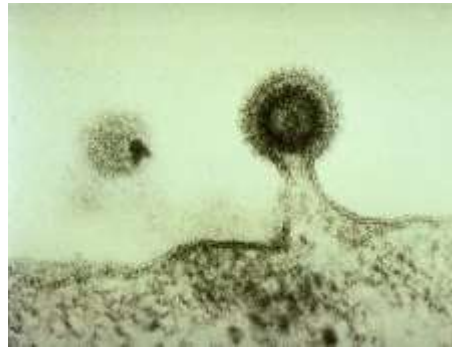
množství virových částic

Kde se replikují virové nukleové kyseliny?



Uvolnění virionů z buněk

- Pomocí rozkladu buňky - pomocí proteinů viru, autolytických procesů poškozené hostitelské buňky
- Exocytóza virionů - pučení - viriony putují k membráně, kde se obalují buněčnou membránou a poté se z buňky uvolní exocytózou.



Důsledky virové infekce

- Buněčná smrt - nekróza (virové proteiny, důsledek pučení, poškození lyzozomů...) apoptóza
- Cytopatický efekt - poškození buňky, tkáně, orgánu, poškození může být reverzibilní, možnost nádorové transformace
- Přežívání buňky - virus se v buňce množí, ale přímo ji nepoškozuje

Obsah

1. Reprodukční cyklus virů

2. Významné virové skupiny

3. Působení antivirotik

Klasifikace virů

- Možno podle nemoci, hostitele, obalu atd.
- Dnes se používá většinou tzv. Baltimorovo schéma

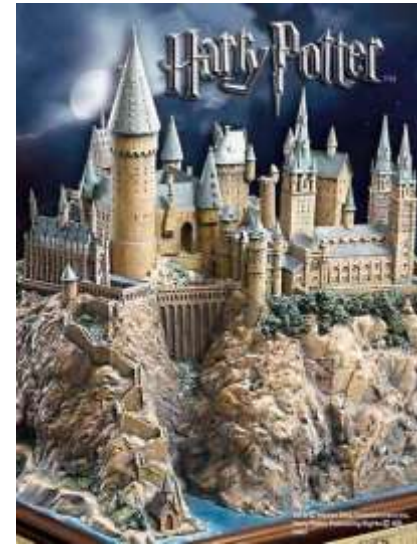
- Viry se nedělí pouze podle nukleové kyseliny, ale především podle své replikační strategie
- Pro přehlednost se viry dále dělí do skupin

dsDNA viry

- Papilomaviry - bradavice, nádor děložního čípku
- Polyomaviry - nádory u zvířat
- Adenoviry - respirační, gastrointestinální a oční infekce
- Herpesviry - Virus herpes simplex 1, virus varicella-zoster, EBV (virus Epstein-Barrové)

- Poxviry - Virus pravých neštovic/variola

Replikační strategie je podobná procesům probíhajícím přirozeně v buňkách. Některé viry využívají buněčné polymerázy, jiné používají vlastní.



Papilomaviry

- Více než 100 druhů (40 přenosných pohlavně, asi 15 onkogenních)
- Výrazně druhově specifické, infekce kůže a sliznic, kde způsobují tvorbu bradavic nebo nádorů
- Nejčastější sexuálně přenosná infekce

- Nejčastější příčinnou celosvětového výskytu karcinomu děložního hrdla jsou HPV typu 16 (53 – 70 %) a 18 (13 – 26 %).
- rakovina děložního čípku se objevuje přibližně u 0,1% infikovaných žen
- Obvykle ale zcela potlačeno imunitním systémem, nedojde k rozvoji nádoru, rizikové jsou chronické infekce.

Herpesviridae

α -herpesvirinae

Simplexvirus

HSV-1 (HHV1)

HSV-2 (HHV2)

Varicellovirus

(Varicella zoster,
HHV3)

α - relativně krátký reprodukční cyklus, destrukce produktivně infikovaných kožních buněk, latence v gangliích

β -herpesvirinae

Cytomegalovirus

HCMV (HHV5)

γ -herpesvirinae

Lymphocryptovirus

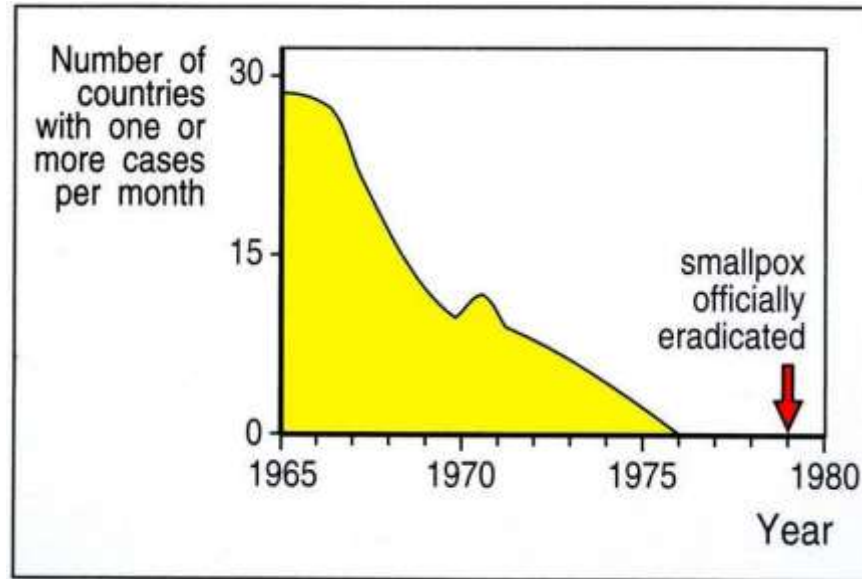
EBV (HHV 4)

β - dlouhý reprodukční cyklus, infikované buňky zvětšeny (cytomegalia),
latence v sekrečních žlázách, infekční mononukleóza γ - specifita pro T a B
lymfocyty, latence v lymfoidních tkáních, Burkittův lymfom

Variola - eradikována 1979

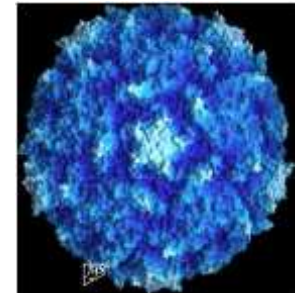
Podmínky úspěšné eradikace:

- Jediný přirozený hostitel je člověk.
- Nemá v přírodě zvířecí rezervoár.
- Nevyvolává latentní ani chronickou infekci.
- U těch, kteří přežili, vyvolá doživotní imunitu.
- Existence viru je závislá na nepřetržitém přenosu z jedné osoby na druhou v husté lidské populaci.

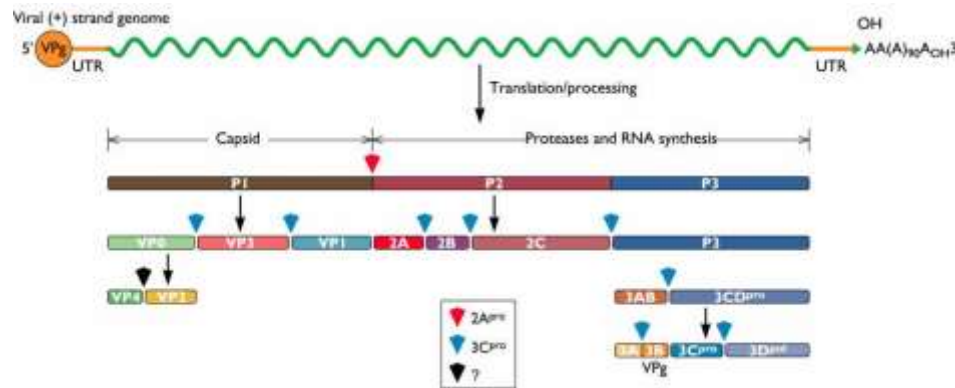
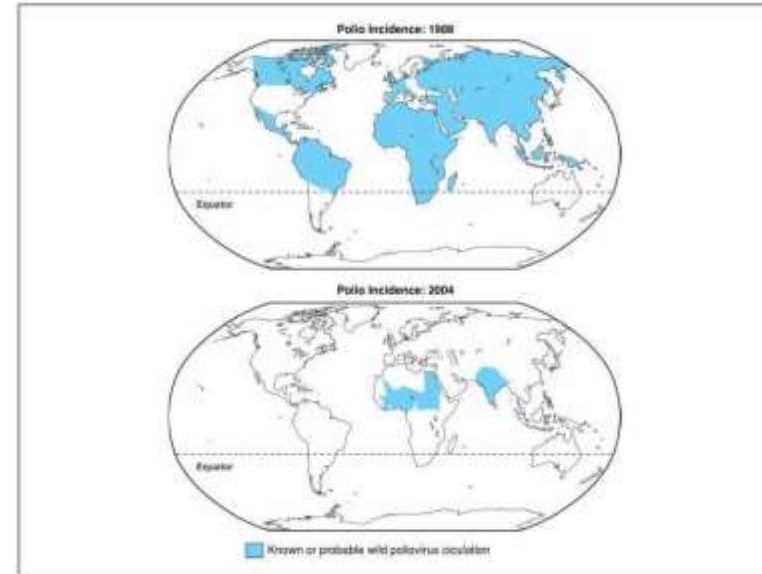
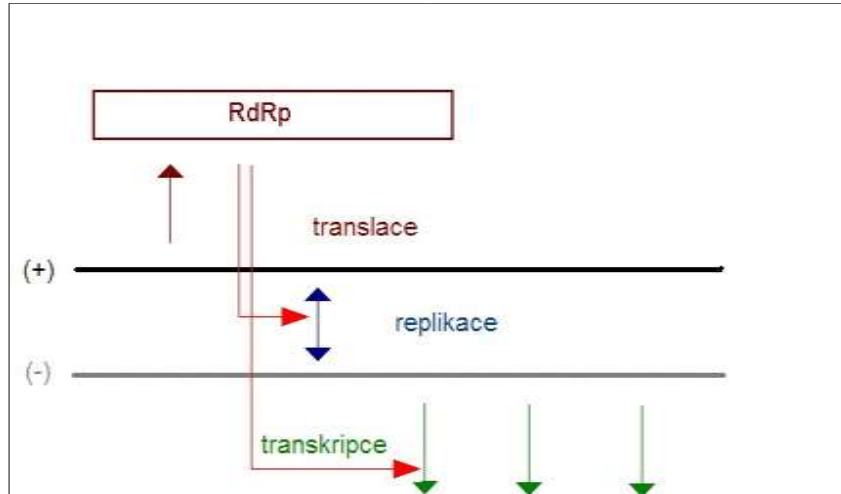


+ ssRNA viry

- Neobalené viry - Pikornaviry, virus poliomyelitidy (obrny), virus hepatitidy A, rhinoviry, virus slintavky a kulhavky
- Nenesou v kapsidě RNA polymerázu, prvním krokem reprodukce je



translace.



Vakcinace proti obrně

Salkova - živá vakcína
1955

Sabinova - atenuovaný
virus 1962

Obalené + ssRNA viry

- Flaviviry - např. klíšťová encefalitida, virus hepatitidy C, žlutá horečka, šířeny hmyzem - klíšťaty, komáry



Horečka dengue - nejzávažnější virová nákaza přenosná hmyzem - až 500 tis případů ročně, mortalita cca 5%

- Togaviry - rubeolla, zarděnky, patří mezi termosensitivní viry



- Coronaviry

HCV

- Chronická perzistentní infekce může vést i u dospělých imunokompetentních pacientů (70 – 85% pacientů) až k hepatocelulárnímu karcinomu

- Přenos krví - nesterilní injekční jehly, krevní transfúze, uživatelé drog, sexuálně?
- Léčba - Interferon α , ribavirin (částečně toxické)
- 130 000 000 HCV pozitivních osob: 0,1% (UK), 20% (Egypt), Pakistán (4.8%) a Čína (3.2%), více než 350 000 lidí umírá ročně na jaterní poškození asociované s HCV
- Vakcína je stále ve stadiu testování.
- Prevence - kontrola krve a krevních derivátů, jednorázové sterilní jehly

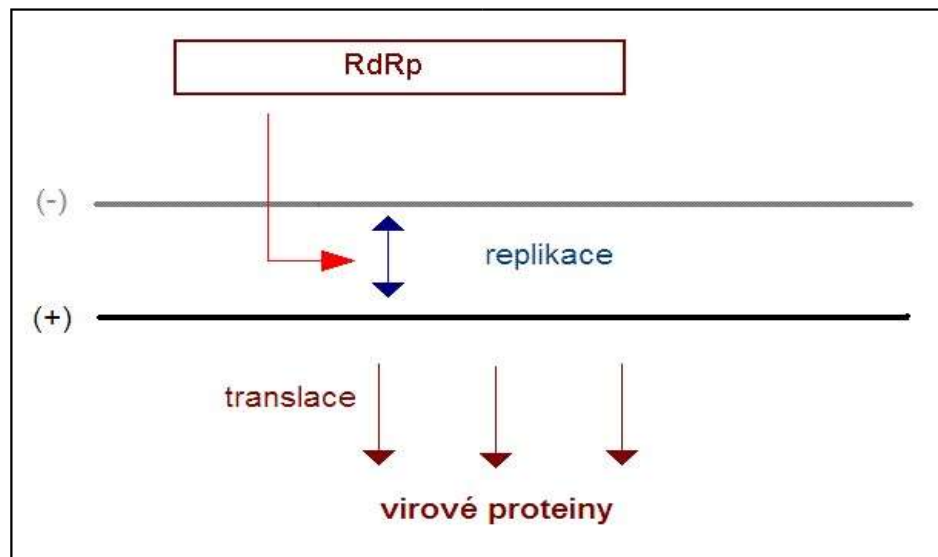
- ssRNA viry

Jsou téměř vždy obalené. Součástí kapsidy je RNA polymeráza, prvním krokem je transkripce.

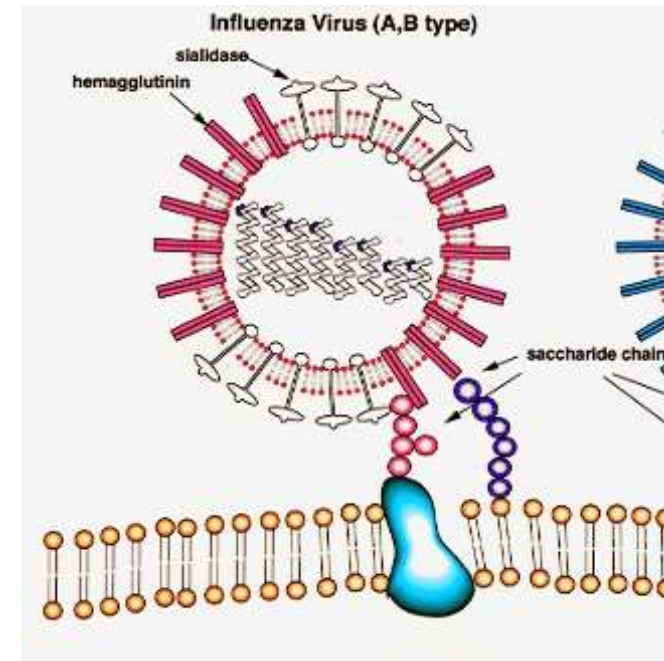
- Orthomyxoviry - chřipky A, B, mají segmentovaný genom, rekombinací fragmentů může docházet k vývoji nových typů viru

- Paramyxoviry - spalničky, příušnice

- Filoviry - ebola, hemoragické horečky



- Rabdoviry - virus vztekliny



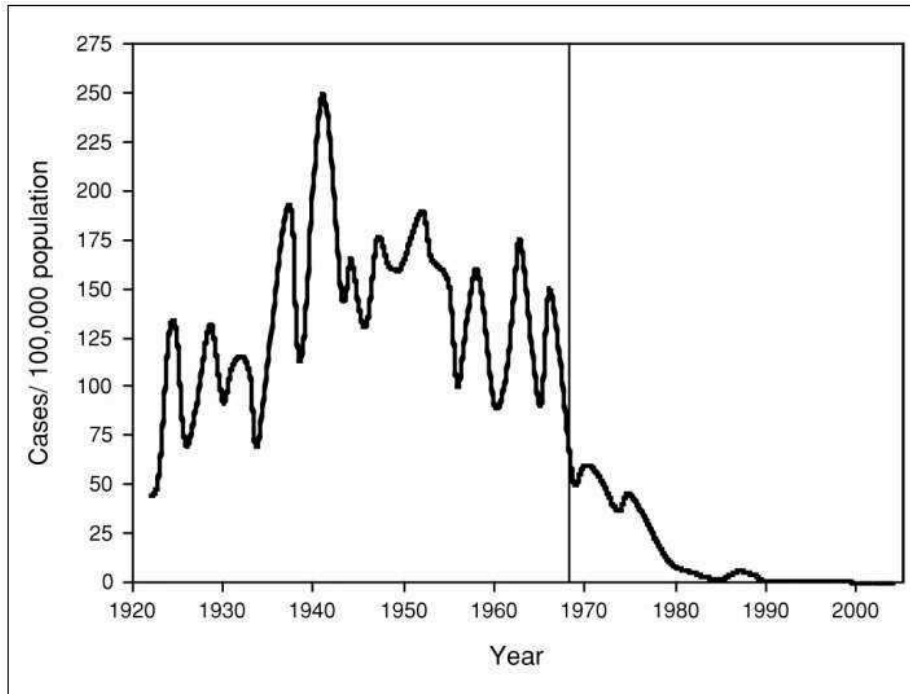


Figure 43.5 Mumps cases per 100,000 population in United States from 1922 to 2004. Vertical line indicates year of vaccine introduction (1967).

Účinnost očkování proti příušnicím v USA...

Účinná terapie proti vzteklině neexistuje. Systém preexpoziční a postexpoziční a vakcinace je však dokonale vypracován, je vysoce účinný.

= Better safe than sorry

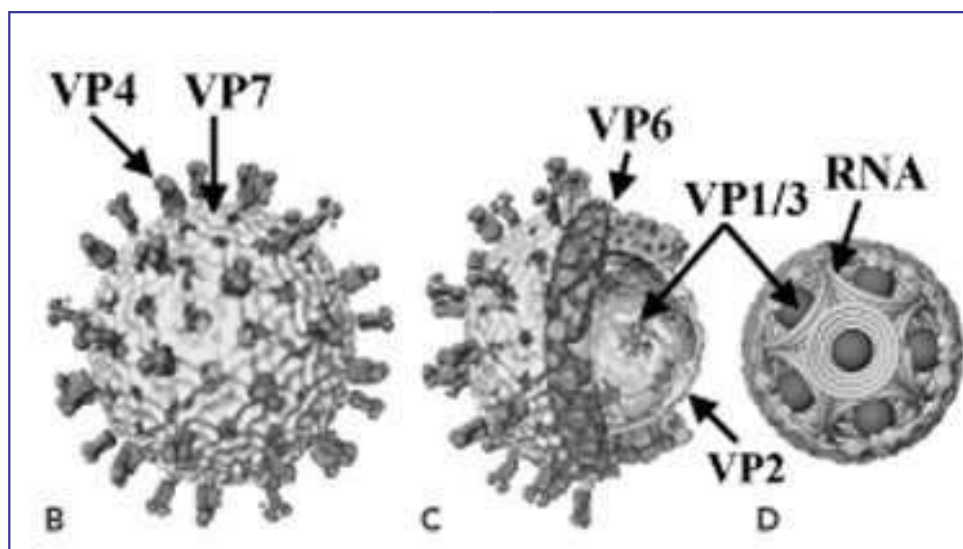
Výskyt vztekliny u zvířat v ČR před perorální vakcínací lišek



Po šesti letech očkovací akce



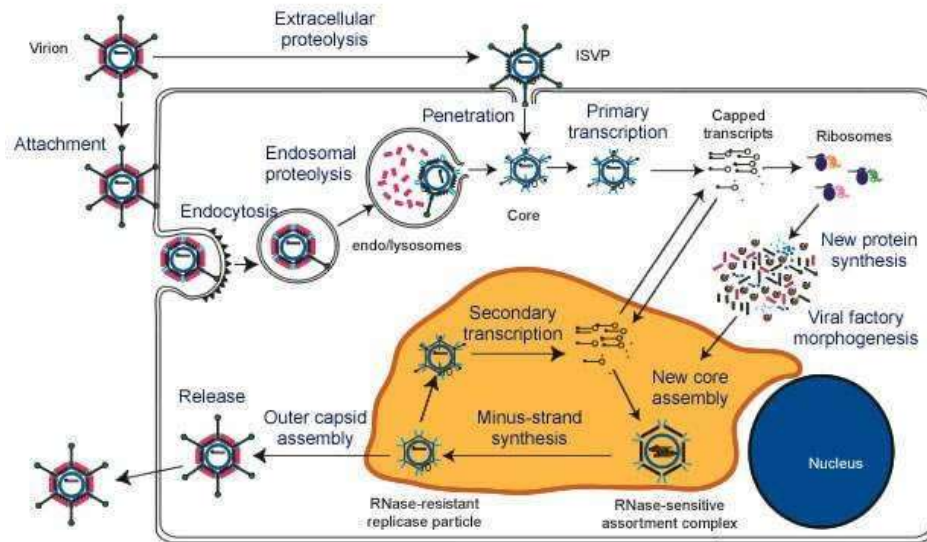
dsRNA - Reoviry



Replikační strategie podobná minus RNA virům

např. Rotavirus velmi časté

dětské průjmy

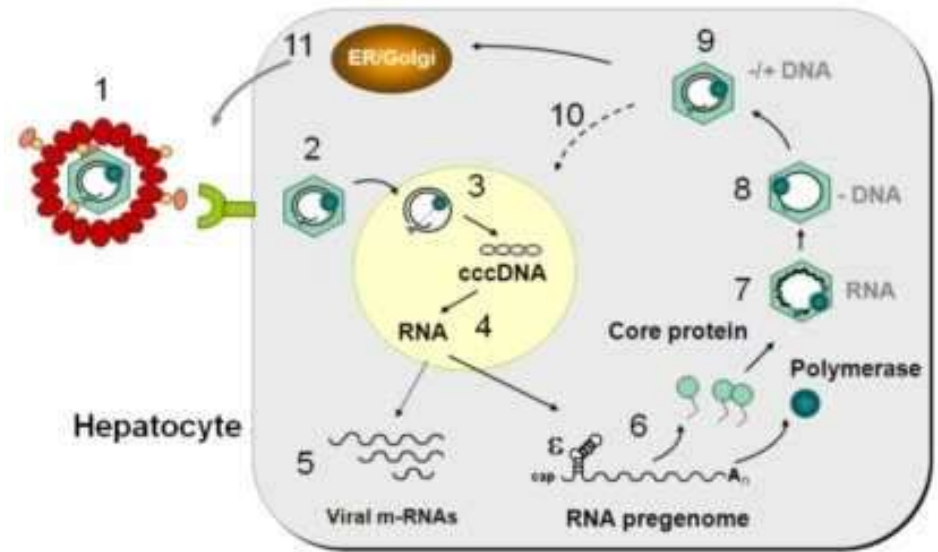
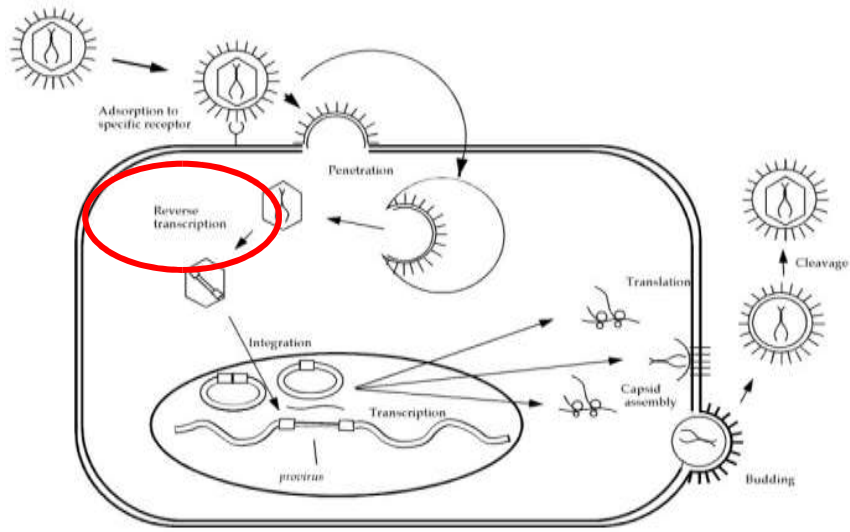


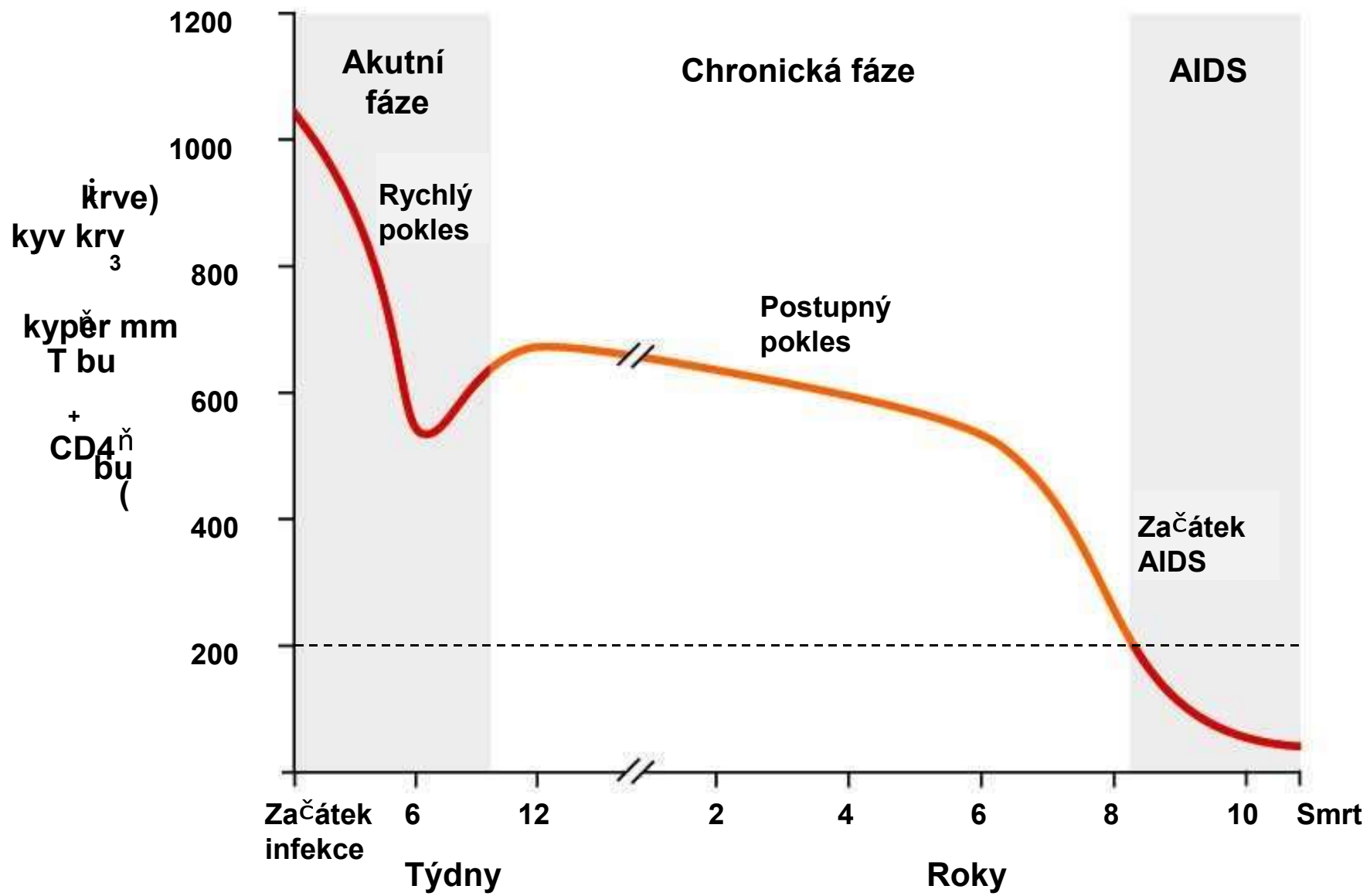
Typické útvary v cytoplazmě napadených buněk - virosféry - místa produkce virových proteinů

Retroviry a hepadnaviry

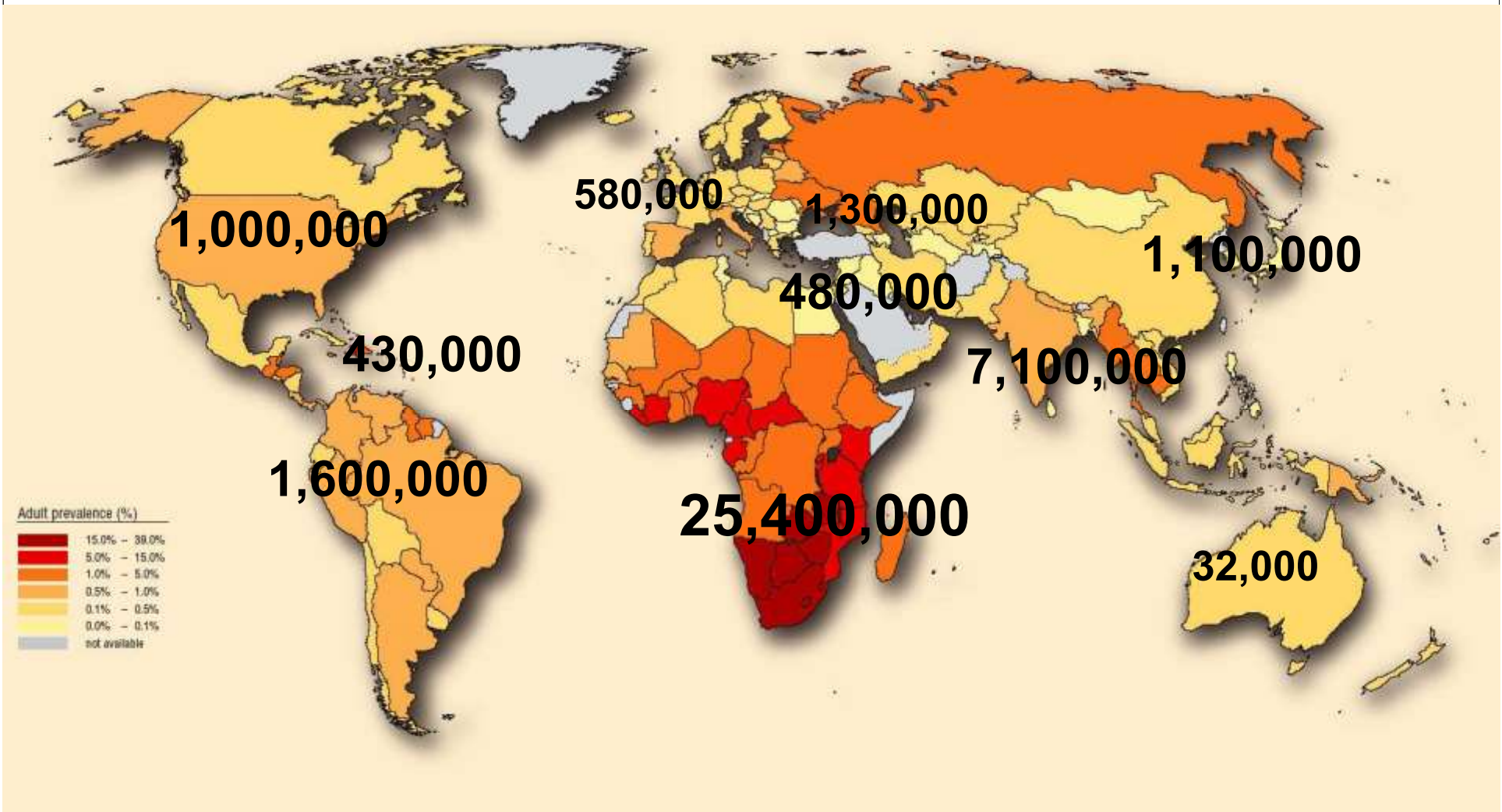
Mají obalené kapsidy.

- Retroviry - součástí kapsidy je i reverzní transkriptáza, genomová RNA se přepisuje do DNA a zpět do RNA, např. viry HIV, HTLV1
- Hepadnaviry - virová DNA se přepisuje do RNA a pomocí reverzní transkriptázy zpět do DNA, nejdůležitější je virus hepatitidy B





HIV-1 PANDEMIC



2005

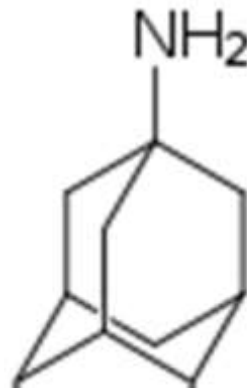
Hepatitida B

- Ve 20% případů přechází hepatitida B do chronické fáze
- Za několik desítek let může infekce dospět do stádia hepatocelulárního karcinomu
- V 95% případů je tvorba nádoru spojena s dlouhodobým nepřírozeným úbytkem hepatocytů. Ty jsou kvůli infekci odstraněny imunitním systémem.
- Během obnovy jaterní tkáně získají neustále dělící se hepatocyty mutace, které vedou k buněčné transformaci
- až 350 mil. HBV infikovaných celosvětově
- Přenos krví, injekčně (drogy, ale i tetování nebo piercing, nemocnice) a sexuálně
- Účinné kombinované vakcíny proti žloutence typu A a B

PŘÍKLADY ANTIVIROTIK

Blokátory rozbalení viru

- Influenza virus - A Amantadin - blokování iontovýchkanálů na povrchu viru
- Virus vnikne do buňky, ale nemůže se „rozbalit“



- Rozšířená rezistence

PŘÍKLADY ANTIVIROTIK

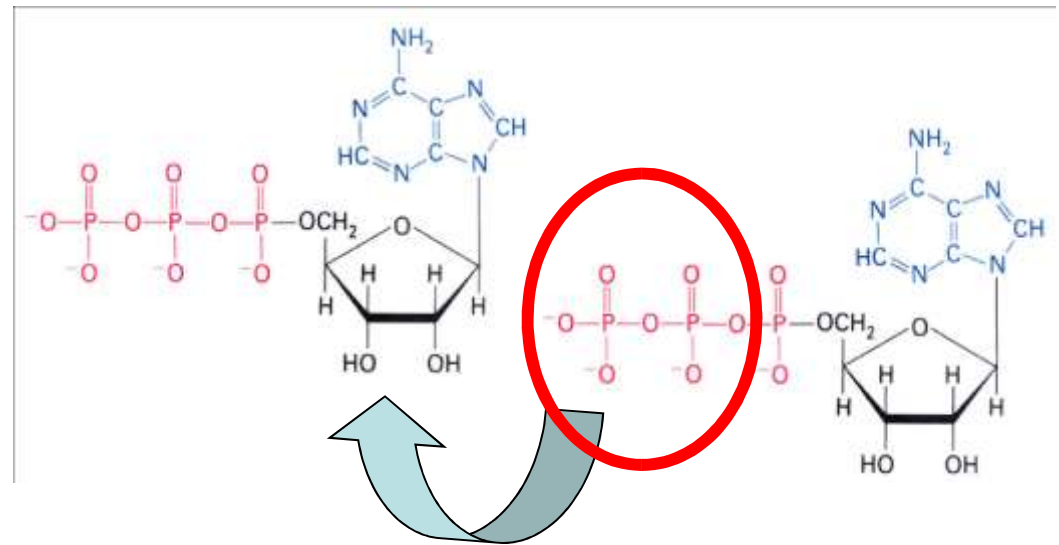
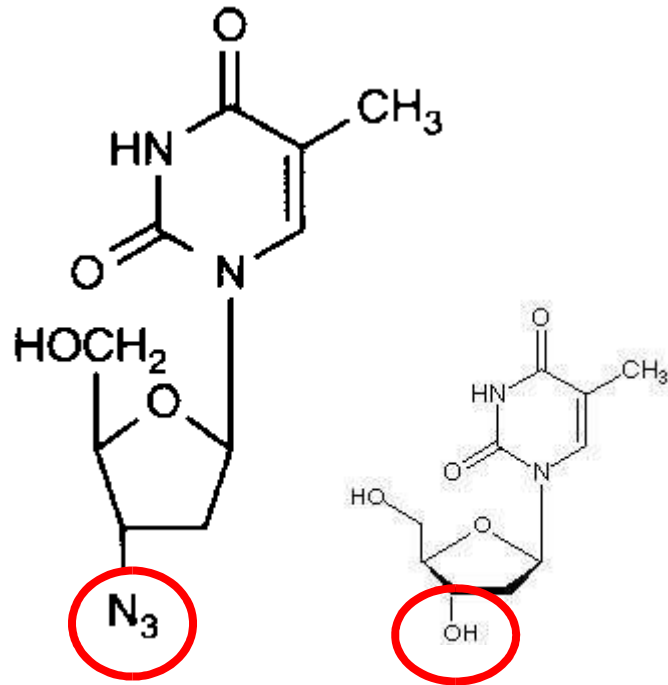
Inhibice replikace - většinou analogy nukleosidů

- Inhibice reverzní transkriptázy
- Inhibice virových DNA polymeráz
- Virové polymerázy jsou blokovány s vyšší specifitou než buněčné, částečně jsou však blokovány i buněčné polymerázy - značná toxicita

PŘÍKLADY ANTIVIROTIK

Inhibitory reverzní transkriptázy

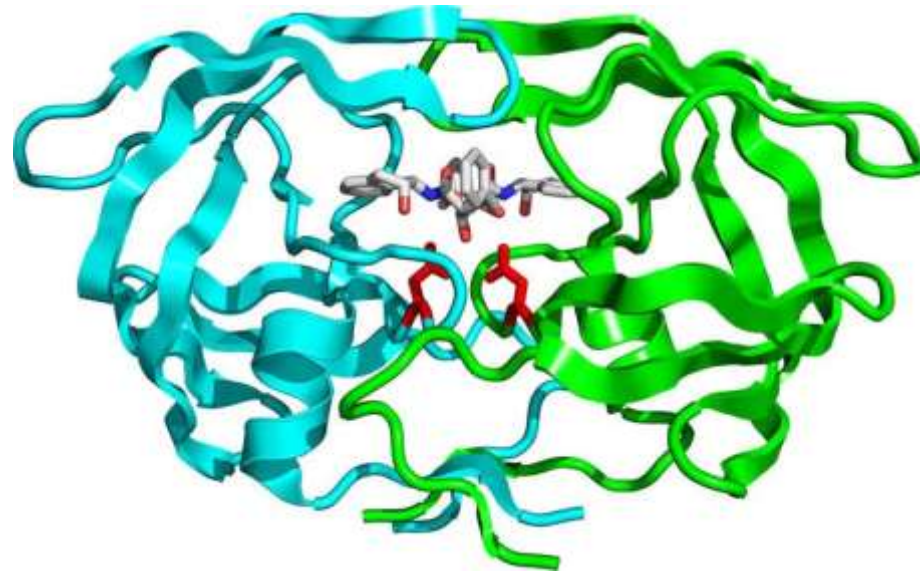
- Azidothymidine (Zidovudine; AZT), důležité léky proti virům HIV a HBV



PŘÍKLADY ANTIVIROTIK

Inhibitory proteáz

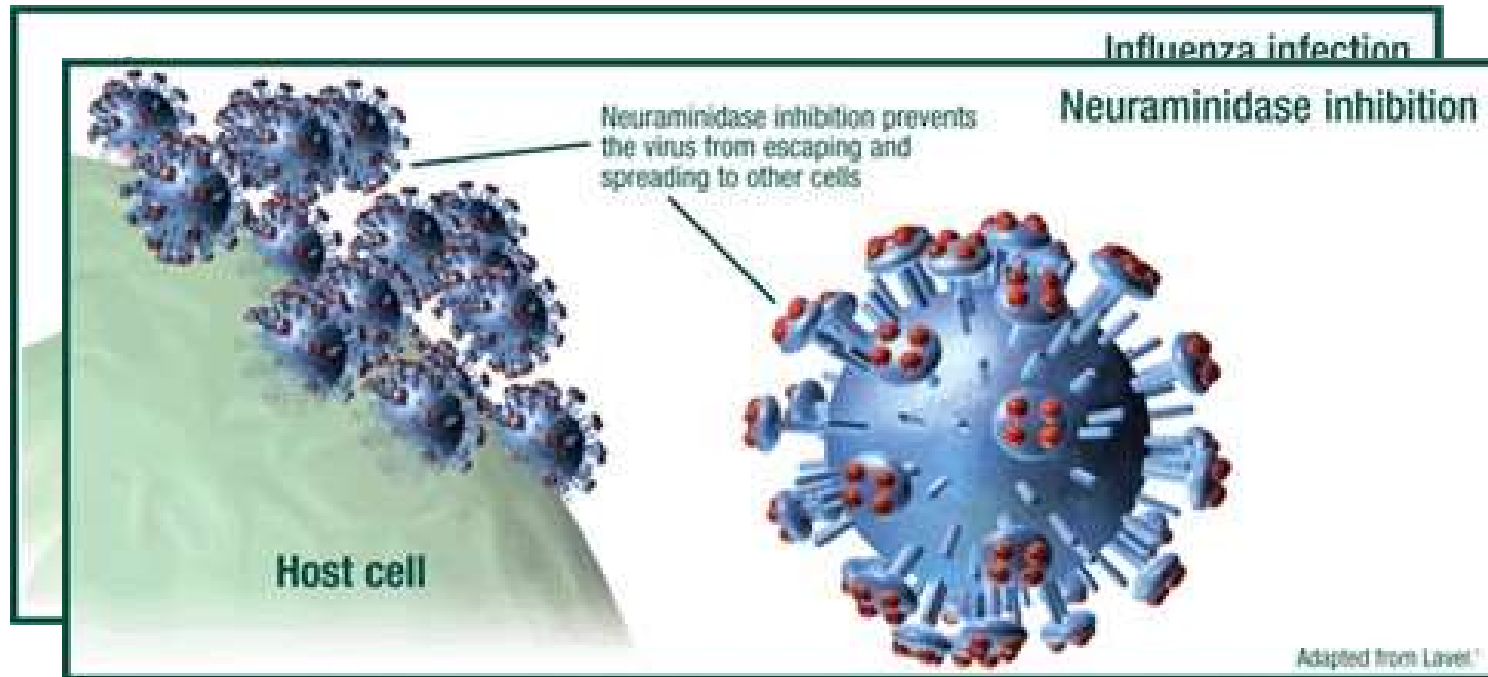
- HIV proteáza - nutná pro „dozrání“ viru
- Štěpí virový polyprotein na funkční proteiny, které tvoří HIV virion



PŘÍKLADY ANTIVIROTIK

Inhibice uvolnění virionu z buněk

- Influenza A a B, zanamivir - tamiflu



Viruses II

Interaction of virus with a cell

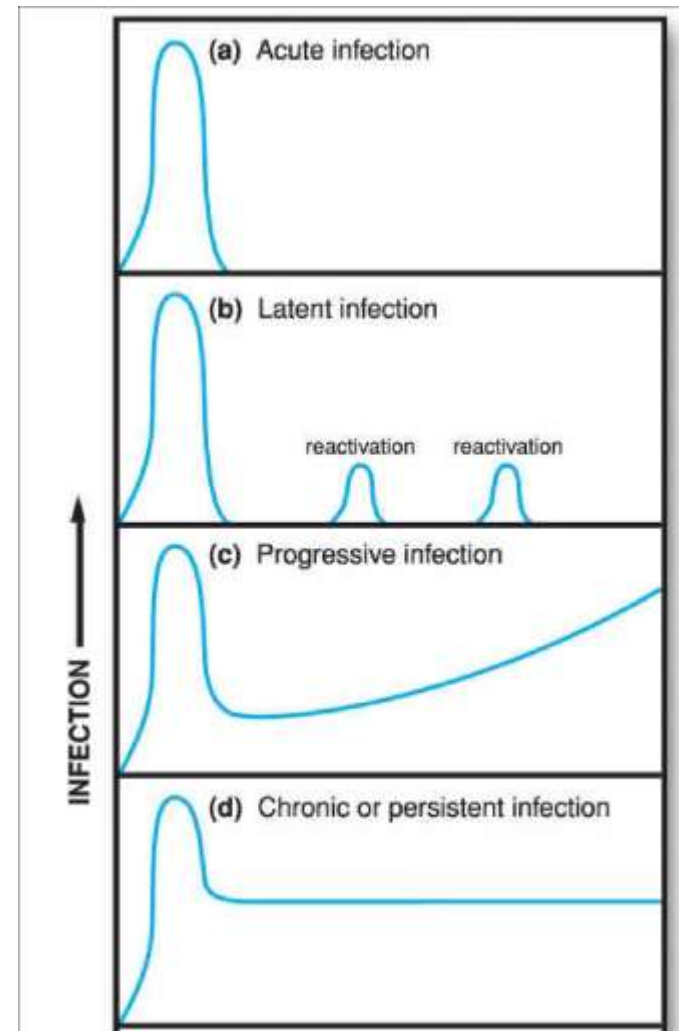
Lecture 4029

Michael Jelínek

Contain

1. Reproduction cycle of viruses
2. Important viral groups
3. Effect of antiviral drugs

- Virulence - relative ability of the virus to cause disease (viruses with higher virulence - variola, papillomaviruses, generally quickly dividing viruses...)
- Invasivity - ability to penetrate through tissue
- Local vs. systemic infection

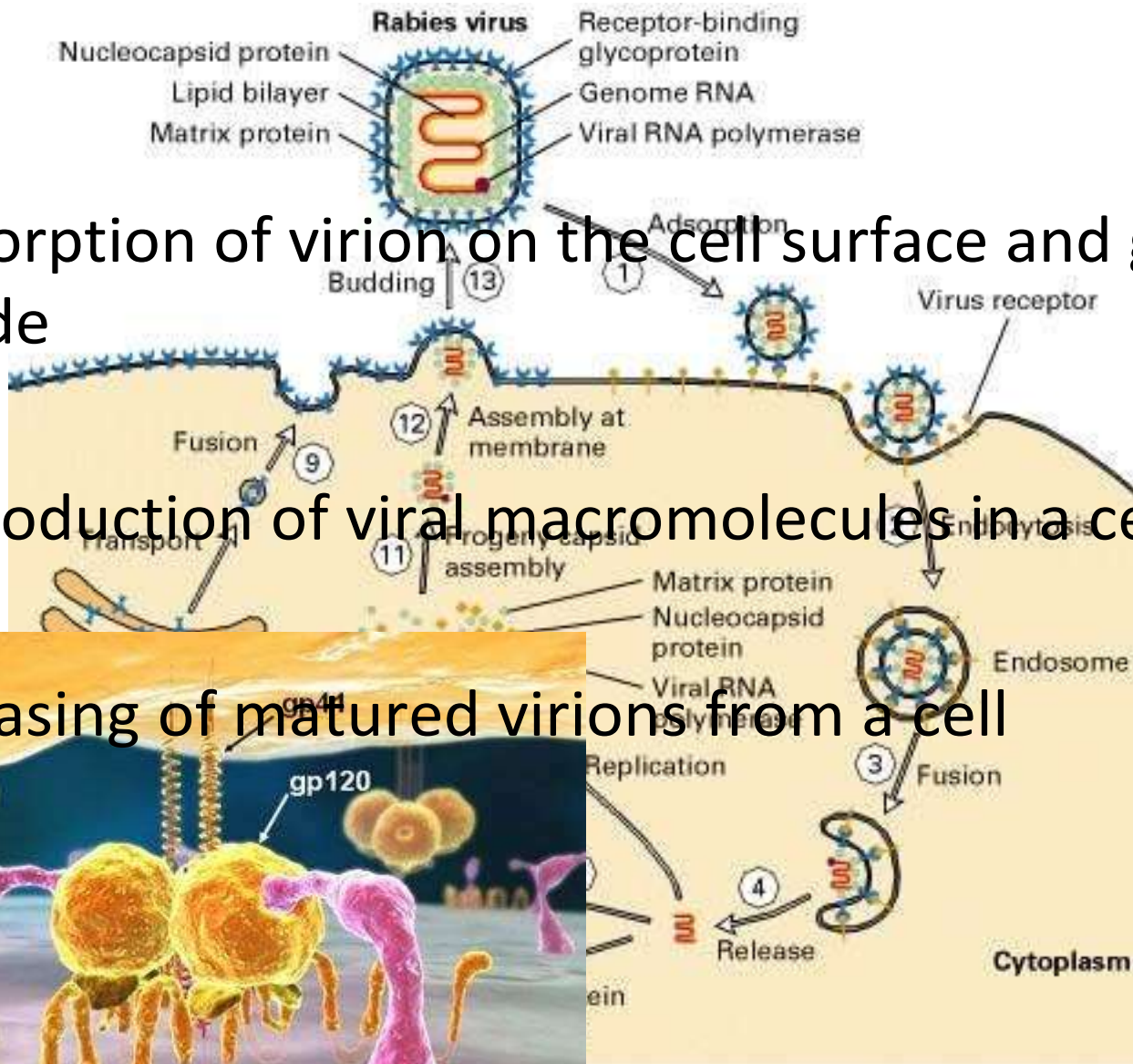


Reproduction cycle of viruses

1. Adsorption of virion on the cell surface and getting inside

2. Reproduction of viral macromolecules in a cell

3. Releasing of matured virions from a cell

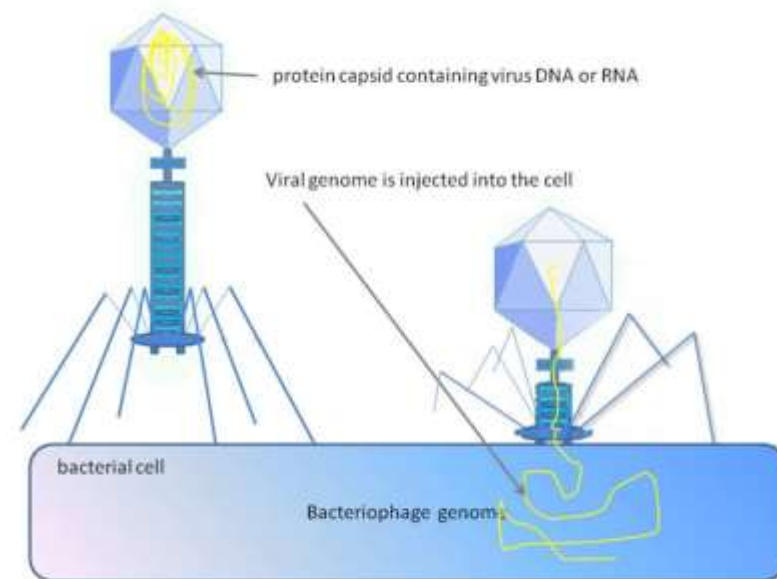
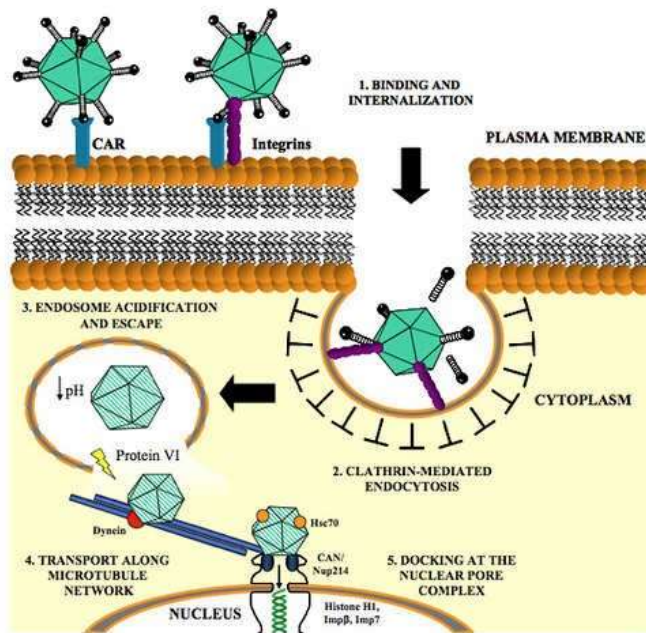


Crossing of cellular membrane

1. Fusion of membranes, nucleocapsids are released to a cell

1. Receptor-mediated endocytosis

2. Injection of DNA to cytoplasm - bacteriophages



<http://www.stanford.edu/group/virus/retro/2005gongishmail/HIV.html> , <http://www.stanford.edu/~rabriggs/hiv/hiv.html>

Reproduction of viruses

Reproduction (lytic) cycle - virus multiplies in a cell and spreads to environment
- horizontal transmission

Virogeny (for bacteriophages lysogeny) - integration of the viral genome to the genome of a cell (integrated NA is called provirus), replication with cellular genome - vertical transmission

Phases of reproduction 1) Releasing of nucleic acid from capsid

2) Synthesis of early proteins

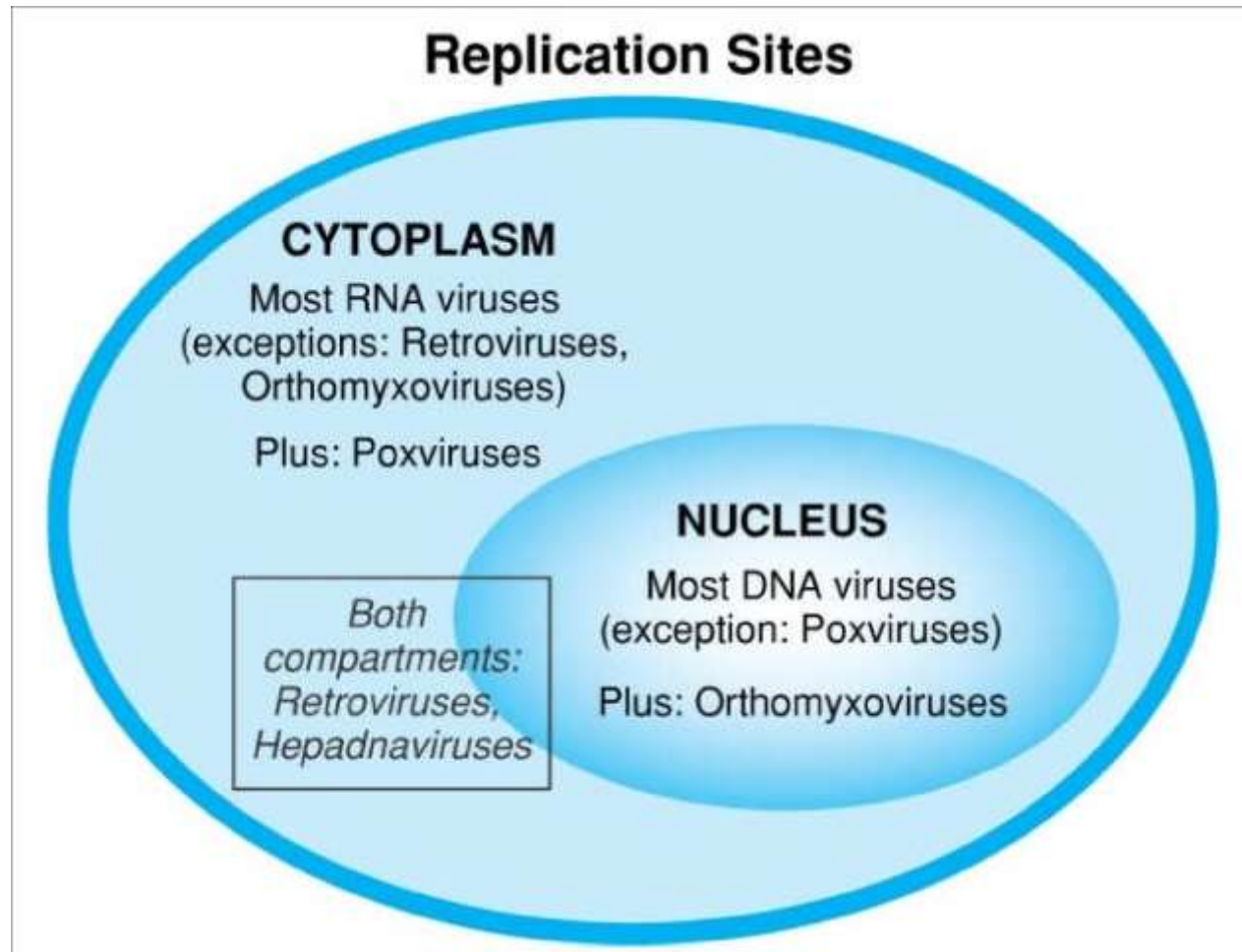
3) Replication of nucleic acid

4) Synthesis of late, mainly structural, proteins

5) Maturation of virions - auto-aggregation

Latency - a genome of a virus is in Persistence - a genome of a virus is in the cell, but viral proteins are not cell but only a low level of viral proteins expressed, or in very low level or viral particles is produced

Where are viral nucleic acids replicated?



Releasing of virions from cells

- By cell lysis - induced by viral proteins, or by autocatalytic processes of damaged cell
- Exocytosis of virions - budding - virions move to membrane, there are coated by plasma membrane and released from cell by exocytosis.



Consequence:

- Death of cell - necrosis (viral proteins, result of budding, damage of lysosomes) apoptosis
- Cytopathic effect - damage of a cell, a tissue, an organ, damage can be reversible, possibility of cell transformation

- Without cell injuring - virus is multiplied in the cell but it does not damage the cell directly

Contain

1. Reproduction cycle of viruses

2. Important viral groups

3. Effect of antiviral drugs
Classification of viruses

- There were systems of classification by diseases, hosts, envelope, etc.
- So-called Baltimore scheme is used today
- Viruses are not divided only according to their nucleic acid but mainly according to the replication strategy
- Because of clarity, viruses are next classified to groups

dsDNA viruses

- Papillomaviruses - warts, cervix carcinoma

- Polyomaviruses - tumors of animals
- Adenoviruses - respiratory, gastrointestinal and eye infection
- Herpesviruses - Virus herpes simplex 1, virus varicella-zoster, EBV (Epstein-Barr virus)
- Poxviruses - Small pox/variola

The replication strategy is similar to processes naturally occurring in cells. Some viruses use cell polymerases, some use their own.

Papillomaviruses

- More than 100 species (about 40 using sexual transfer, over 15 have oncogenic potential)

- Strongly species specific infection of skin and mucous membrane where can induce formation of warts or tumors
- Most common sexual transmitted infection
- Most common cause of world-wide incidence of cervical carcinoma are HPV types 16 (53–70 %) and 18 (13–26 %)
- Cervical carcinoma is developed in approximately 0.1% infected women
- Usually totally suppressed by immune system, no tumor is developed, chronic infections are high risky.

Herpesviridae

α - herpesvirinae

Simplexvirus

β -herpesvirinae

Cytomegalovirus

γ -herpesvirinae

Lymphocryptovirus

HSV-1 (HHV1)

HCMV (HHV5)

EBV (HHV 4)

HSV-2 (HHV2)

Varicellovirus

(Varicella zoster,
HHV3)

α - relatively short reproductive cycle, destruction of infected skin cells, latency in ganglia

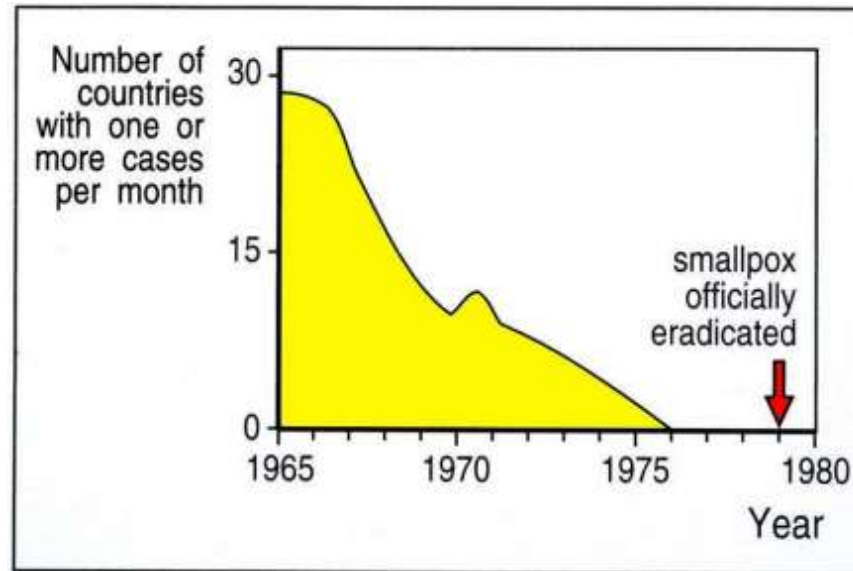
β - long reproductive cycle, infected cells large (cytomegalia), latency in secrete glands, infectious mononucleosis

γ - specificity for T a B lymphocytes, latency in lymphoid tissue, Burkitt lymphoma

Variola - eradicated in 1979

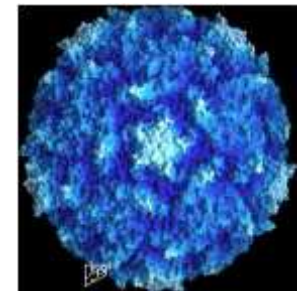
Conditions of successful eradication:

- Only one natural host is human.
- There is no animal reservoir in the nature.
- Does not induce latency or persistency.
- Stable immunity in surviving patient
- Its existence depends on continuous transmitting from person to person in dense human population

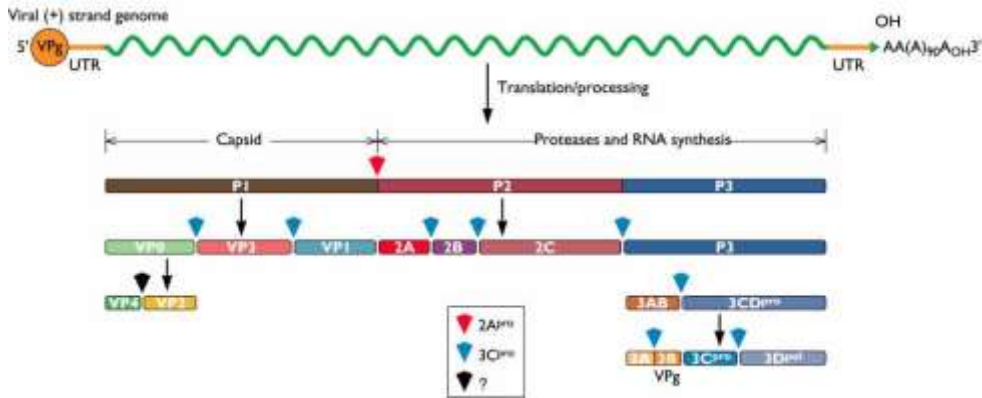
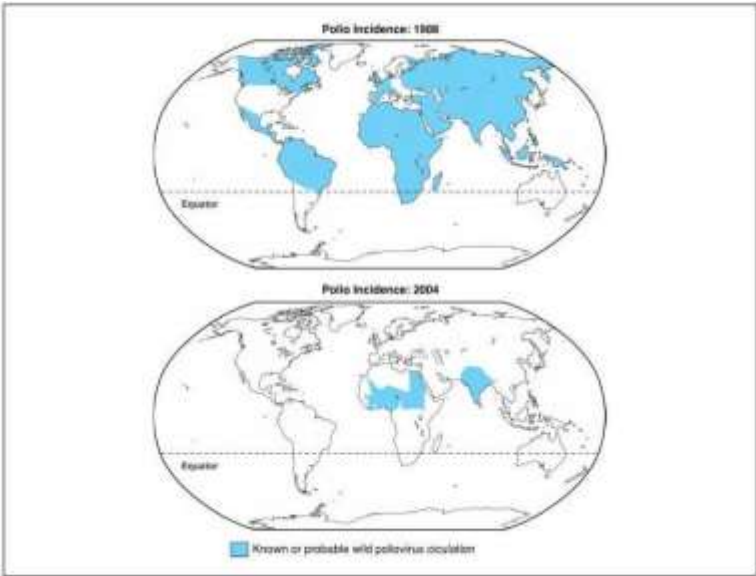
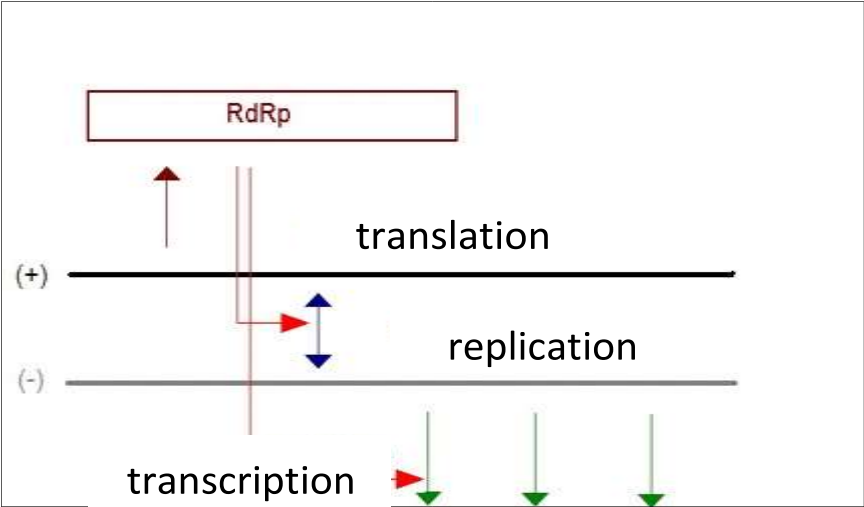


+ ssRNA viruses

- Non-enveloped viruses - Picornaviruses - poliomyelitis virus (polio), hepatitis A virus, rhinoviruses, foot and mouth virus



- They have no RNA polymerase in their capsids, the first step of reproduction is translation.



Vaccination against polio:

Salk - inactivated virus 1955

Sabin - attenuated virus 1962

Enveloped + ssRNA viruses

- Flaviviruses - e.g. ticks born encephalitis, hepatitis C virus, yellow fever, spread by insect; ticks or mosquito



Dengue fever - most serious viral infection transmitted by insect - to 500 000 cases a year, mortality about 5%

- Togaviruses - rubella virus, rubella, belongs among thermolabile viruses

Situation in numbers (by WHO Region)		
Total (new cases in last 24 hours)		
Globally	4 731 458 cases (112 637)	316 169 deaths (4 322)
Africa	63 521 cases (2 358)	1 796 deaths (48)
Americas	2 082 945 cases (65 134)	124 668 deaths (3 059)
Eastern Mediterranean	356 749 cases (18 189)	10 149 deaths (170)
Europe	1 909 592 cases (19 125)	167 998 deaths (825)
South-East Asia	148 761 cases (7 168)	4 780 deaths (198)
Western Pacific	169 178 cases (663)	6 765 deaths (22)

- Coronaviruses

HCV

- Chronical persistent infection can lead to hepatocellular carcinoma even in adult immunocompetent patient (70 – 85% patients)
- Transmission by blood - nonsterile injection needles, blood transfusion, drug users, sexual?
- Treatment: Interferon a, ribavirin (partially toxic)
- 130 000 000 HCV positive persons: 0,1% (UK), 20% (Egypt) Pakistan (4.8%) and China (3.2%), more than 350 000 people die for HCV-related liver diseases each year
- Vaccination - still in the testing phase.

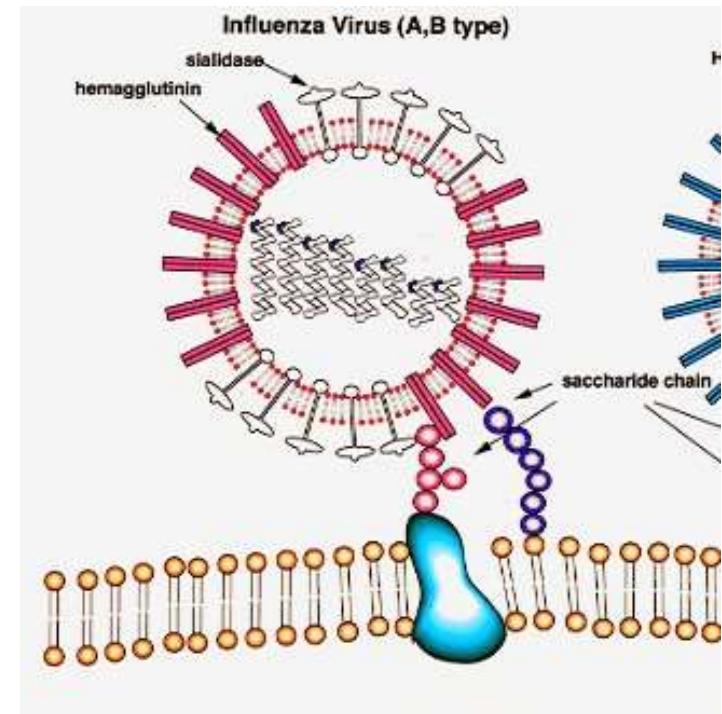
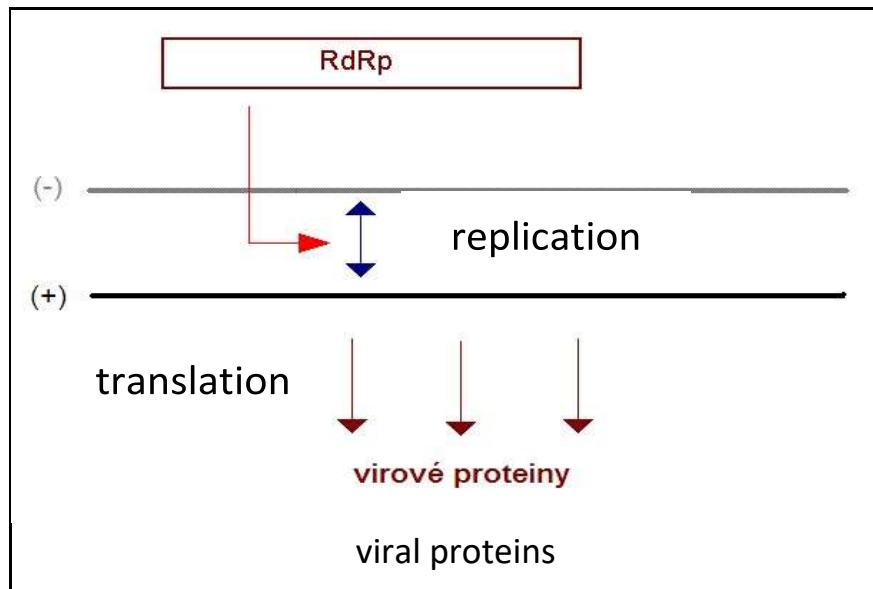
- Prevention - control of blood and blood derivate, disposable sterile needles

- ssRNA viruses

They are nearly always enveloped. RNA polymerase is a component of capsid; first step of reproduction is transcription.

- Orthomyxoviruses - influenza A, B, they have segmented genome, new types of viruses can be created by the recombination of fragments

- Paramyxoviruses - measles, mumps
- Rabdoviruses - rabies virus
- Filoviruses - ebola, haemorrhagic fevers



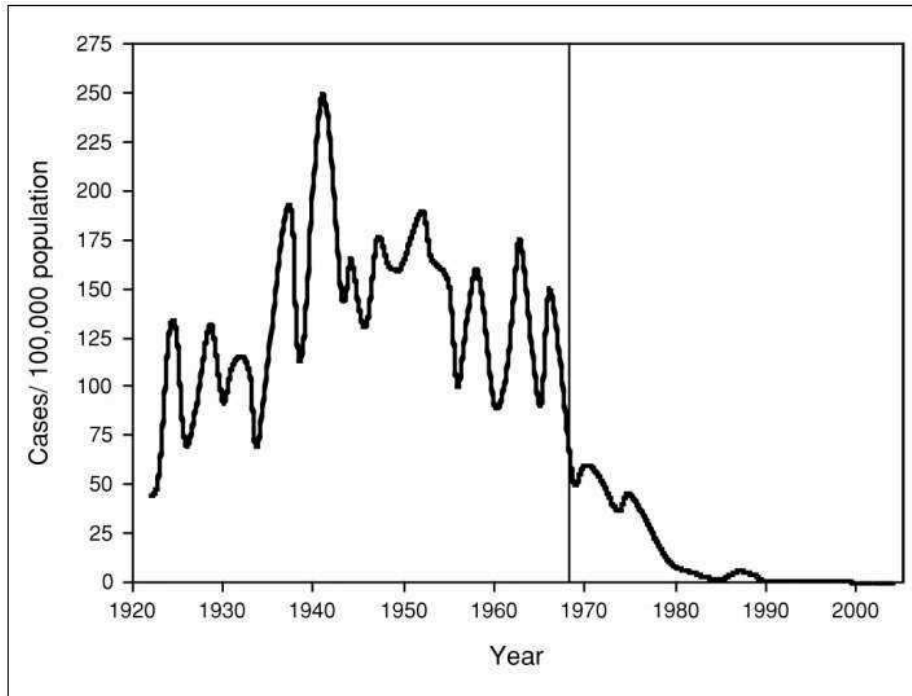
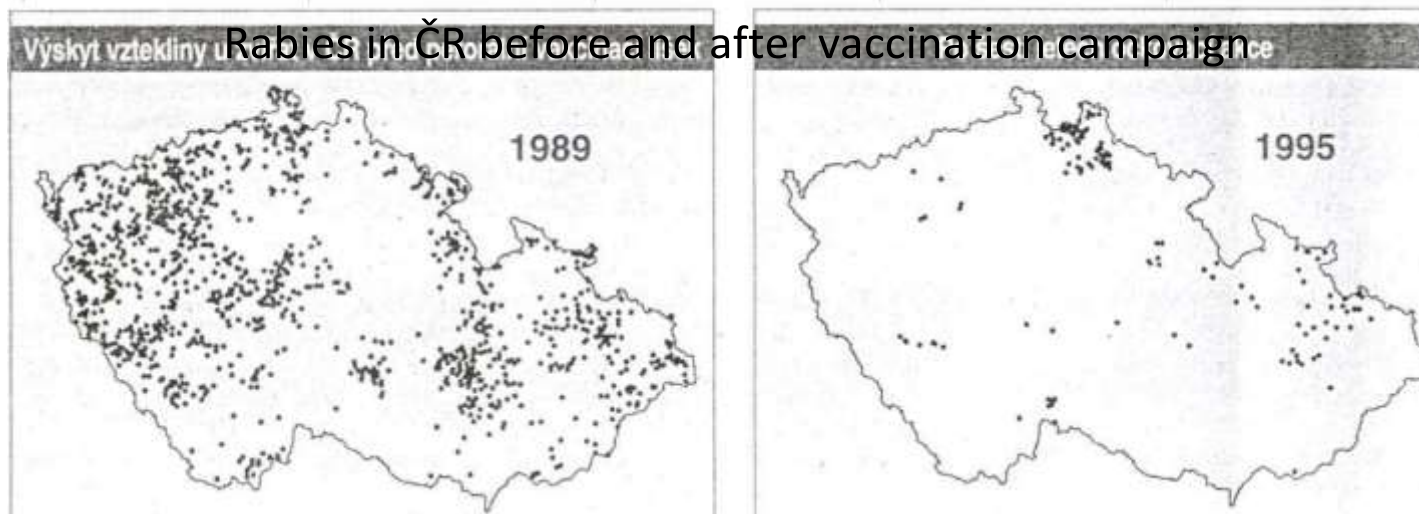


Figure 43.5 Mumps cases per 100,000 population in United States from 1922 to 2004. Vertical line indicates year of vaccine introduction (1967).

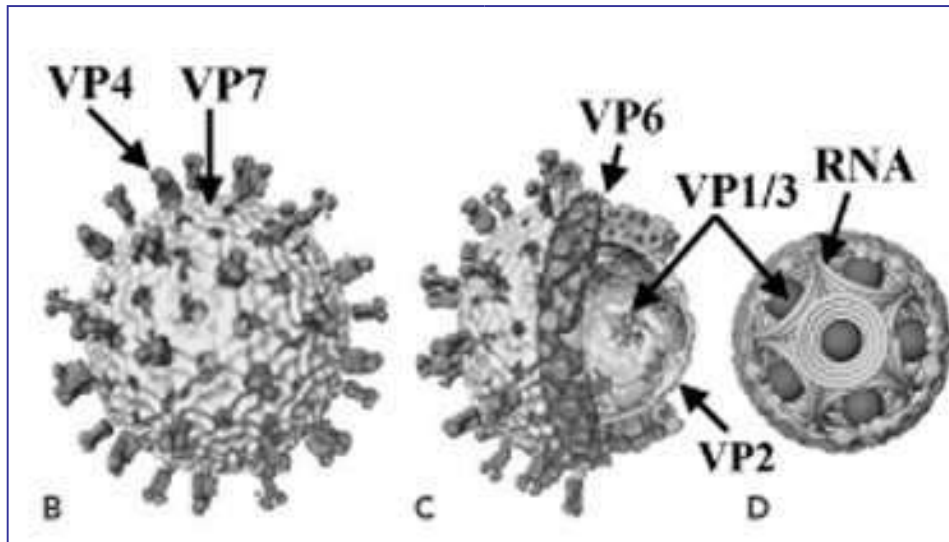
The effect of vaccination against mumps in USA...

Efficient therapy against rabies does not exist. But system of pre- and a post-exposition vaccination is perfectly developed and effective.

Better safe than sorry



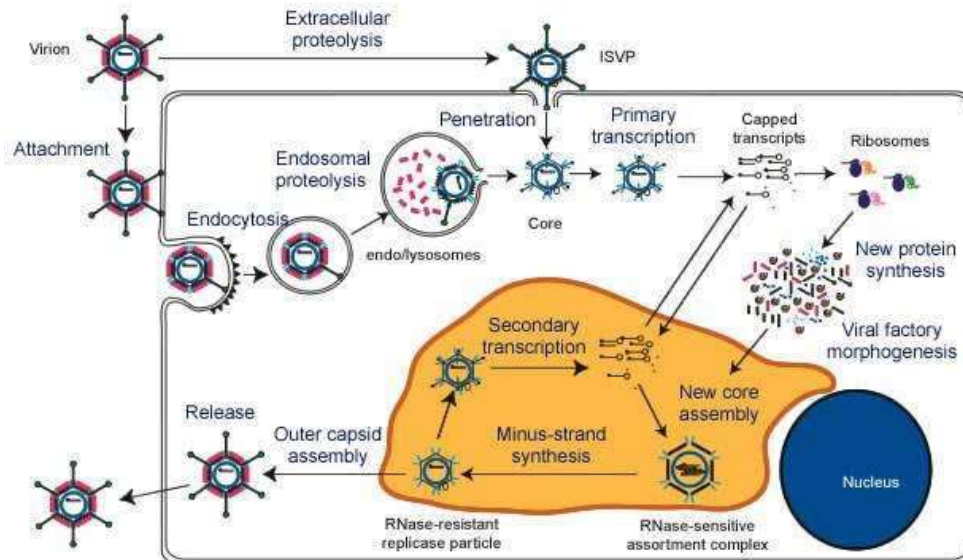
dsRNA - Reoviruses



Replication strategy similar to minus RNA viruses

E.g. Rotavirus

Very common children diarrhea

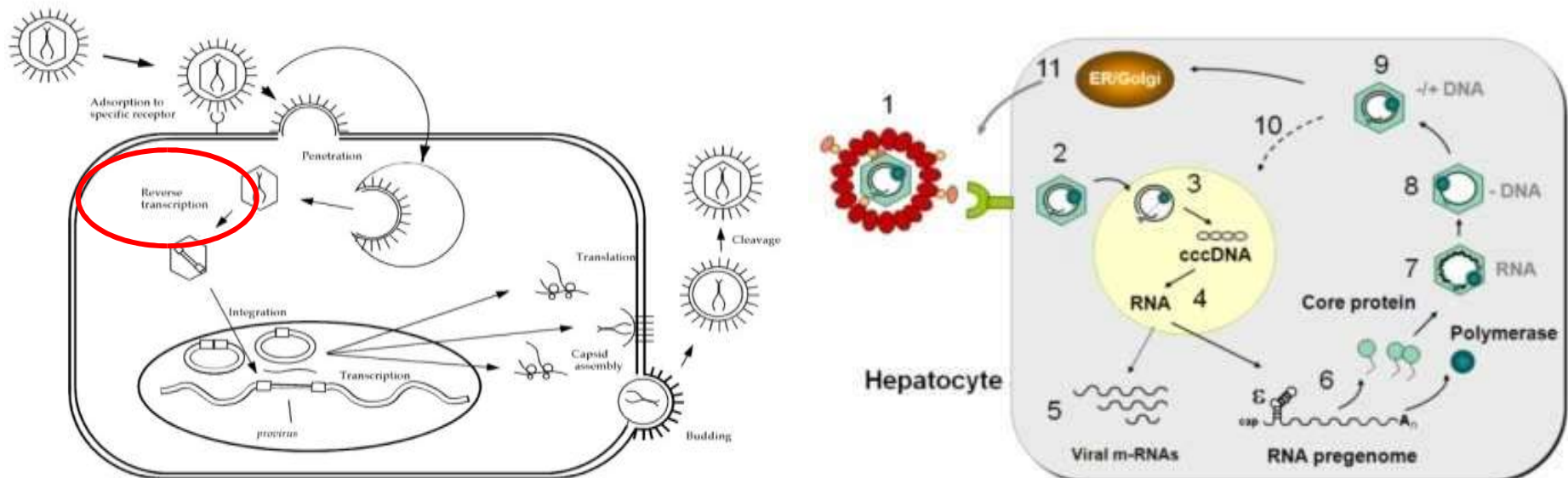


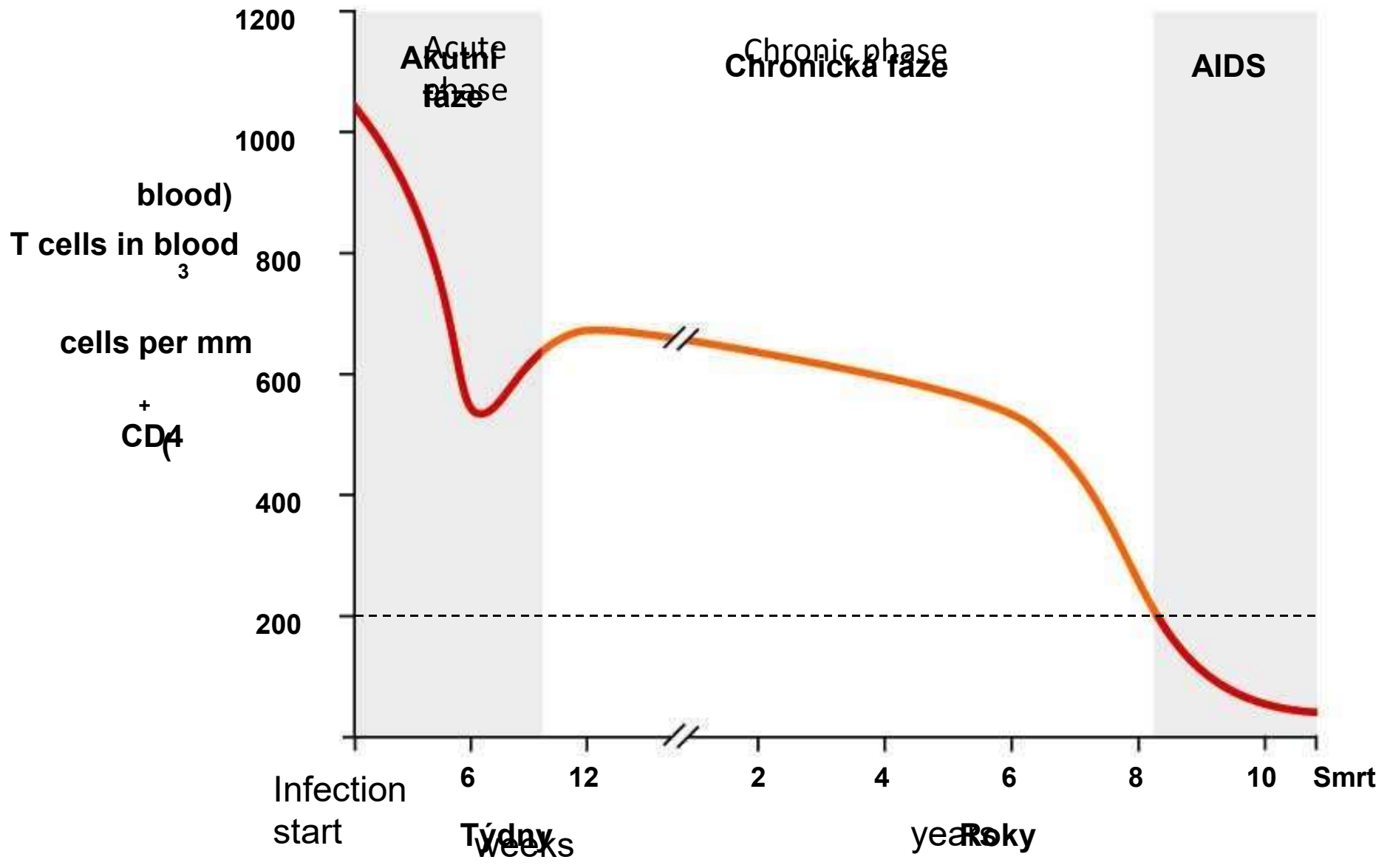
Typical complexes in cytoplasm of infected cells - virospheres sites of production of viral proteins

Retroviruses a hepadnaviruses

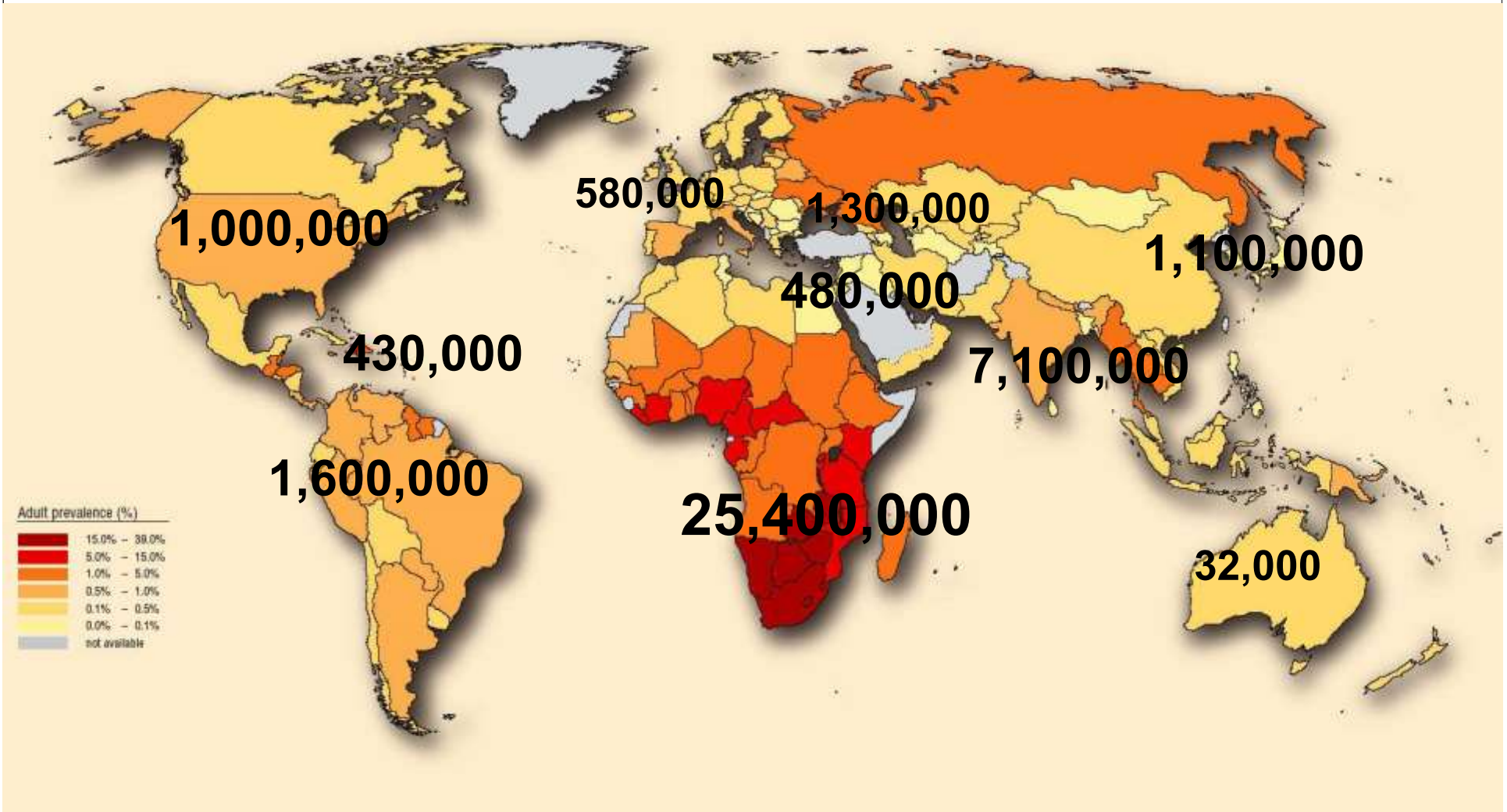
They have enveloped capsids.

- Retroviruses - reverse transcriptase is a component of capsid, genomic RNA is transcribed to DNA and back to DNA; HIV, HTLV1 virus
- Hepadnaviruses - viral DNA is transcribed to RNA and by reverse transcriptase back to DNA; hepatitis B virus





HIV-1 PANDEMIC



2005

Hepatitis B virus

- In 20% cases, hepatitis B goes to chronic phase.
- The hepatocellular carcinoma can be developed as a result of infection in decades.
- The development of tumor is associated with abnormal loss of hepatocytes in 95% of cases. They are removed by immune system due to the infection.
- The damaged liver tissue recover and so permanently proliferating hepatocytes gain mutations that lead to the cell transformation.
- There are 350 mil. HBV infected worldwide
- Transmission by blood, through injections (drugs, tattoo, hospitals) and sexual
- There is efficient combined vaccine against HBV and HAV.

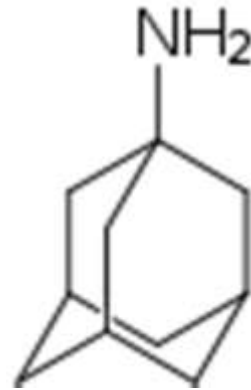
Contain

1. Reproduction cycle of viruses
2. Important viral groups
3. Effect of antiviral drugs
EXAMPLES OF
ANTIVIRALS

Blocking of decomposition of virus

- Influenza virus - A Amantadin - blocking of ionchannel on surface of capsid
- Virus enters a cell, but can not „unpack“ itself

- Common resistance



EXAMPLES OF ANTIVIROTICS

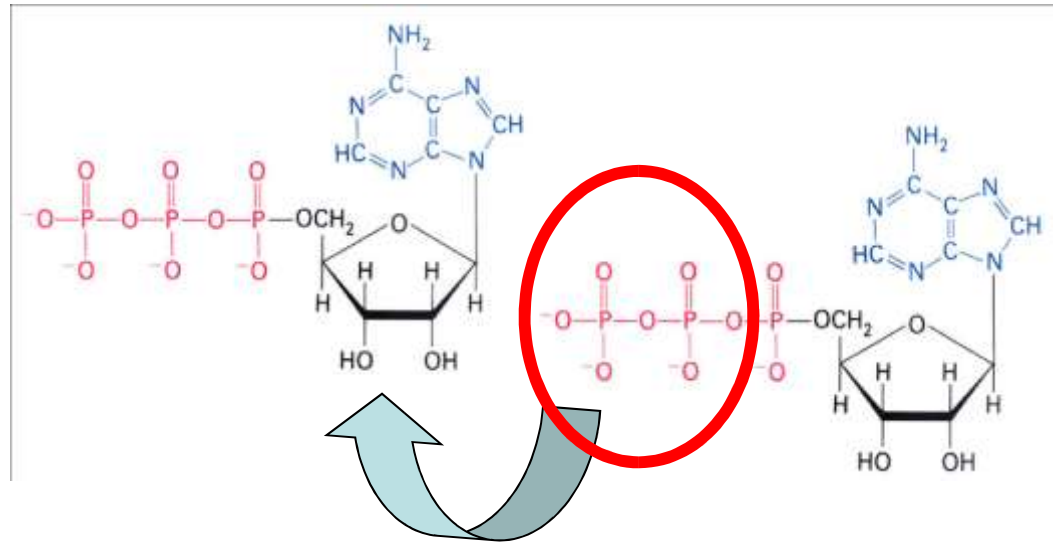
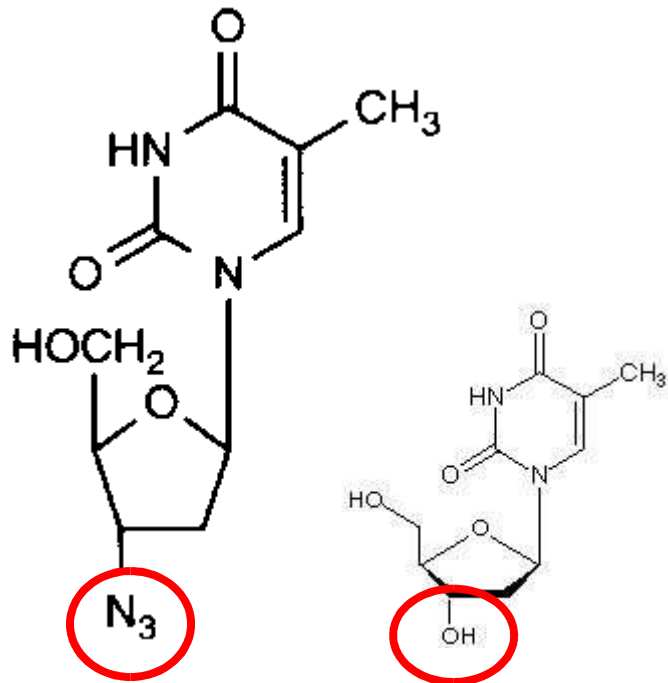
Inhibition of replication - mostly analogs of nucleosides

- Inhibition of reverse transcription
- Inhibition of viral DNA polymerase
- Viral polymerase is blocked with higher specificity than cellular ones, in any case cell polymerase are also partially suppressed - significant cytotoxicity

EXAMPLES OF ANTIVIROTICS

Inhibitors of reverse transcriptase

- Azidothymidine (Zidovudine; AZT), important medication of HIV and HBV viruses

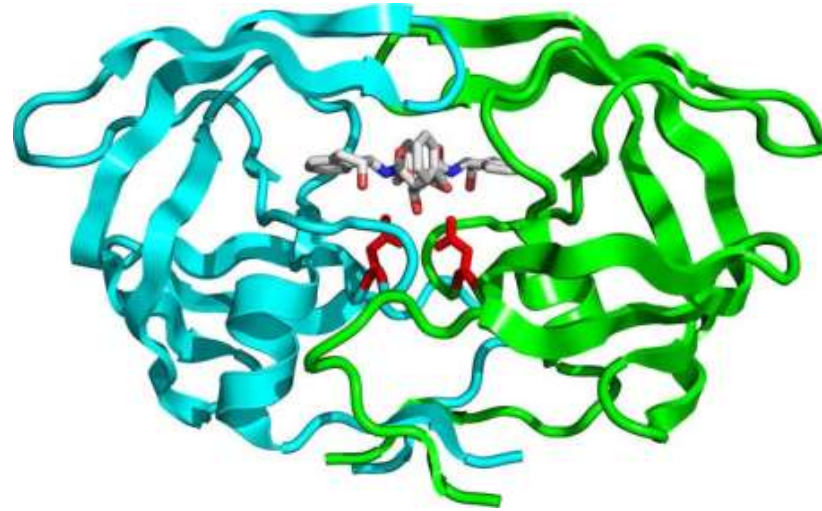


EXAMPLES OF ANTIVIROTICS

Inhibitors of proteases

- HIV proteases - needed for maturation of virus

- They cleave viral polyprotein on functional proteins, that forms HIV virion



EXAMPLES OF ANTIVIROTICS

Inhibition of releasing of virions from cells

- Influenza A a B, zanamivir - tamiflu

