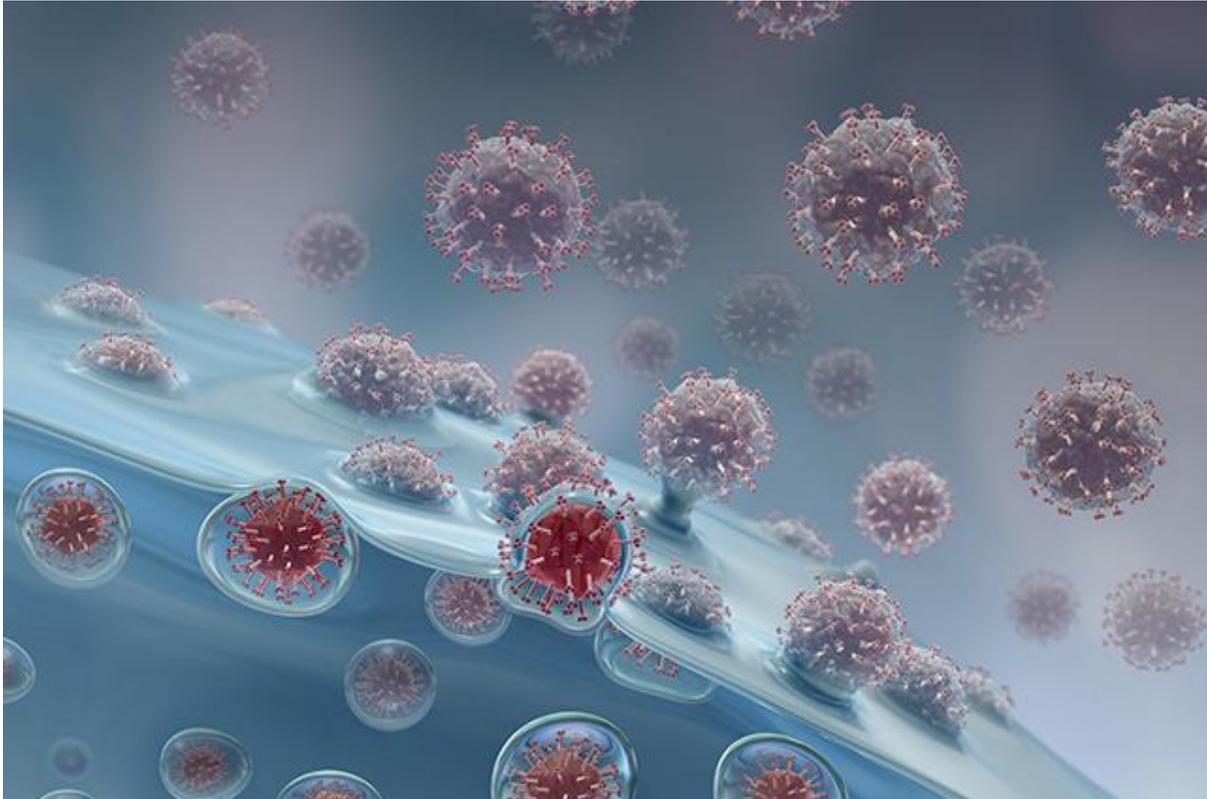


SARS-COV-2

Tomado de Avance No 9 Sobre Covid 19

TQ FARMA

18/08/2020



1

AGOSTO 18, 2020

Ante un nuevo virus... desconocido, urge la necesidad de adentrarse en su estructura, la conformación de su genoma y el ciclo de vida dentro de la célula.

Ante un nuevo virus, desconocido, y sin olvidar que cada día se eleva el número de casos y de muertes a nivel global, urge la necesidad de adentrarse en su estructura, la conformación de su genoma y el ciclo de vida del virus dentro de la célula, en busca de blancos terapéuticos, nuevas mutaciones o cambios que lleven a variaciones en el comportamiento viral que afecten tanto su patogenicidad como

su capacidad de contagio o hasta, en alguna medida, la especificidad de las pruebas diagnósticas.

Los coronavirus son una familia muy extensa de virus, del orden de los Nidovirales, que incluye cuatro familias: las alfa, los beta, los gamma y los delta coronaviridae. En general, en el ser humano han sido por años fuente frecuente de enfermedades respiratorias leves, causadas principalmente por el HCoV-229E, el HCoV-NL63, el HCoV-OC43 y el HCoV-HKU1, estos dos últimos del género de los betacoronavirus, al cual pertenece el SARS-CoV-2 (*Nature Reviews Microbiology, March 2019*).

Existen antecedentes de otros coronavirus que, como este SARS-CoV-2, han causado grandes epidemias, pero nunca como la que actualmente se extiende por todo el planeta. En el año 2002, el coronavirus del Síndrome Respiratorio Agudo (SARS-CoV) se propagó a más de treinta países, causó una enfermedad respiratoria aguda y se le asoció una letalidad de entre el 10 y el 11 por ciento. Diez años después, en el Oriente Medio, específicamente en Arabia Saudita, apareció el MERS-CoV. Esta epidemia también estuvo asociada a cuadros respiratorios severos, llegando a una mortalidad hasta del 35 por ciento. Estas infecciones todavía no se consideran erradicadas y continúan en el ambiente con brotes muy esporádicos y aislados (*Nature, March 12, 2020*).

Pero donde más se han estudiado es en salud animal. Los coronavirus son causantes de una gran variedad de enfermedades en animales tanto de criaderos como de granjas, tales como aves, porcinos y ganado, e incluso en animales de compañía como perros y gatos. Ejemplo de algunas de ellos son el virus de la gastroenteritis transmisible (TGEV) o la diarrea epidémica porcina, causada por el PEDV (*Porcine Epidemic Diarrhea Virus*) que lleva a una gran mortalidad entre los criaderos, y que en algunas oportunidades ha cruzado fronteras ocasionando grandes pérdidas económicas, y el virus de la hepatitis murina (MHV), que se ha asociado con algunas patologías humanas y riesgo de recombinación y transmisión (*Coronaviridae: 100,000 years of emergence and reemergence, Elsevier 2020*).

Sobre la base de análisis genómicos evolutivos, actualmente sabemos que la gran mayoría de coronavirus, que afectan tanto a humanos como a algunos animales, han tenido origen en hospederos intermediarios; pero trazando el origen, se ha encontrado en casi la totalidad de los virus que su punto de partida ha sido el murciélago, como es el caso del SARS-CoV-2.

El Virus

El nuevo SARS-CoV-2 es un virus de los coronaviridae, con un diámetro aproximado de 125 nm, estructura esférica y una envoltura compuesta por una bicapa de fosfolípidos y unas proteínas de membrana denominadas "M", "E", y una

glucoproteína en forma de espiga (Spike) llamada "S", característica del virus y que denota su nombre "Coronavirus". En la nucleocápside o interior del virus se encuentra el material genético del virus, compuesto por una simple cadena de ARN positivo en un arreglo helicoidal con las proteínas de la nucleocápside "N" (**Figura 1**).

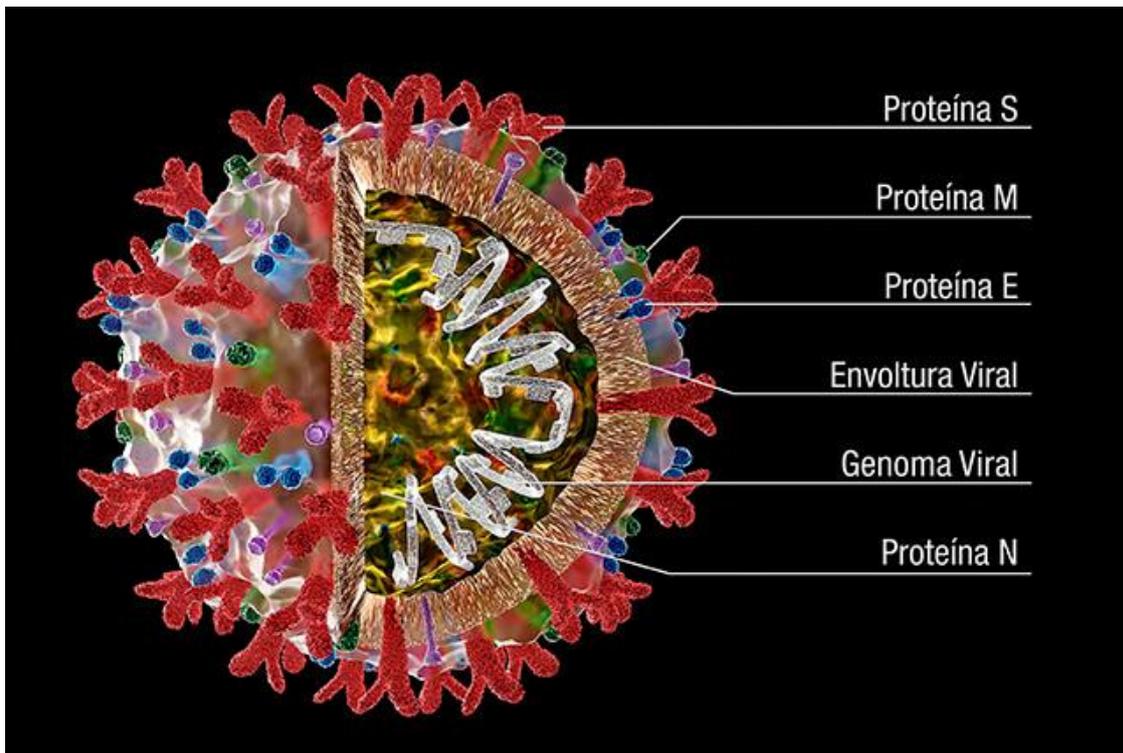


Figura 1. El virus está compuesto, como la mayoría de los virus, por una envoltura y una nucleocápside. En el caso del SARS-CoV-2 la envoltura está compuesta por una bicapa de fosfolípidos y unas proteínas de membrana "M", "E", y además se encuentran en la envoltura las glucoproteínas "S" en forma de espigas (spikes) características del virus, que son las responsables de la unión o adhesión a las células hospederas.

La proteína S espiga o "Spike", como lo hemos mencionado, es distintiva y le da la característica al virus. Está compuesta por un trímero de la glucoproteína S, que es una proteína de fusión, contiene dos subunidades **y media la unión o adhesión del virus al receptor de la Enzima Convertidora de la Angiotensina 2 (ACE2) de la célula "blanco" u hospedera.**

Adicionalmente, contiene la proteína "M" en su envoltura, que le da la forma y por ser la más abundante se le considera la proteína estructural por excelencia, adquiriendo variaciones conformacionales como también uniones con las

proteínas de la nucleocápside. Adicionalmente, encontramos la proteína “E”, que se encuentra en menor número en la superficie del virus y si bien se desconocen muchos aspectos de su función, **se sugiere que facilita el ensamblaje de los viriones a nivel del retículo endoplásmico y la patogénesis de estos en cierto tipo de células o tejidos.**

Organización del genoma

El genoma del virus, como el de la mayoría de los coronavirus, se encuentra entre los genomas más largos de los virus ARN (aproximadamente 30 kb). El información de las proteínas estructurales, principalmente de la envoltura (**Figura 2**).

La región de la replicasa está conformada por dos marcos abiertos de lectura u ORFs (*Open Reading Frames*), el ORF1a y el ORF1b, y que en pocas palabras son segmentos de material genético que codifican la información para la síntesis de proteínas sin tener espacios no codificantes o intrones. **Estos ORFs del genoma del virus codifican dos poliproteínas llamadas pp1a y pp1ab, las cuales, a su vez, generan las 16 proteínas no estructurales o Nsp (*Non structural proteins*)** que son esenciales para la replicación del virus a nivel intracelular. Entre ellas, encontramos las proteasas, que son unas de las proteínas mejor caracterizadas del virus, entre las cuales se destacan la Mpro (Proteasa “M” o 3CLpro) y una a dos PLpro (*Papain-Like proteasa*), que son esenciales para procesar las poliproteínas, reconociendo y cortando en lugares específicos y de esta forma generando la totalidad de las Nsp. **Varias de las Nsp se ensamblan y conforman el complejo Replicasa-Transcriptasa “RTC” (*Replicase-Transcriptase Complex*), el cual se encarga de la replicación y transcripción del ARN viral.**

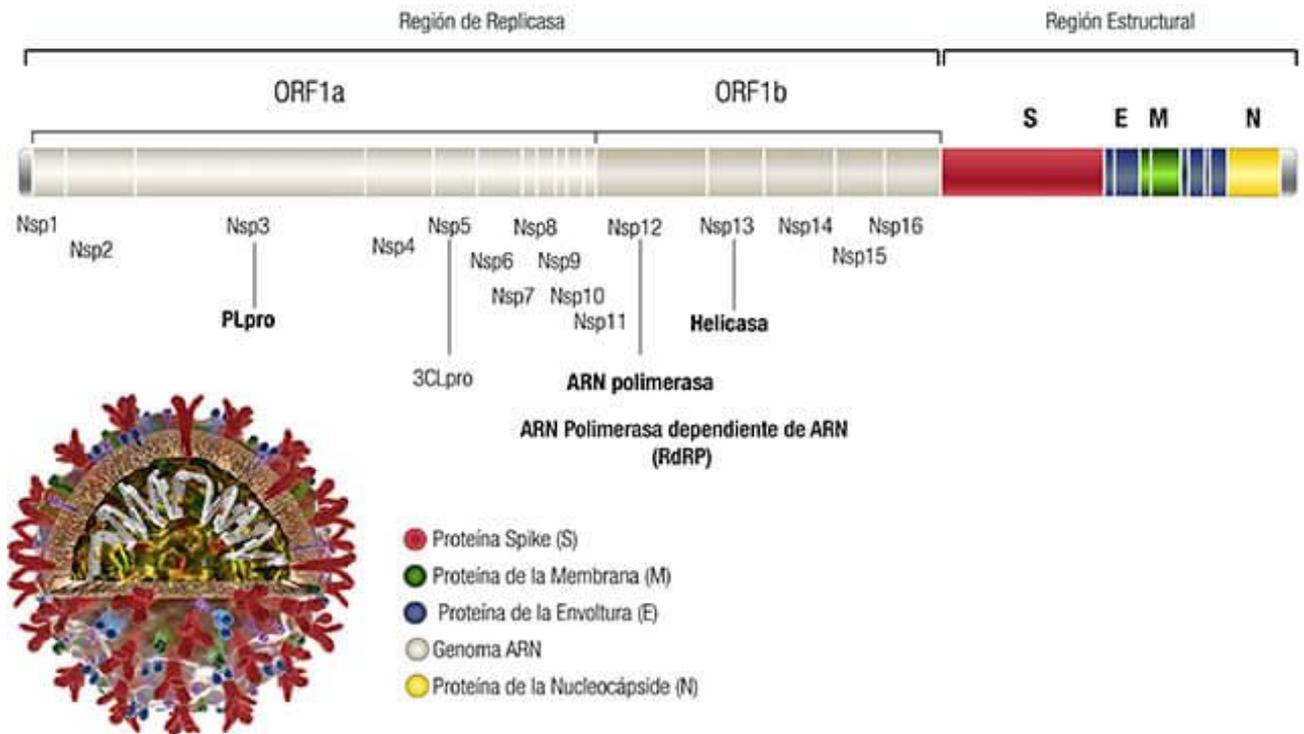


Figura 2. Estructura y organización del genoma del SARS-CoV-2 en relación con el virus. El genoma está compuesto por dos ORFs, que llevan la información de las poliproteínas 1a y 1ab, requeridas para la replicación viral, seguidos por los genes de las proteínas estructurales de las proteínas Spike (S), la Envoltura (E), la Membrana (M) y la Nucleocápside (N), y de varias proteínas accesorias entre estas últimas. ORFs (Open Reading Frames), Mpro (Proteasa “M” o 3CLpro, PLpro (Papain-Like proteasa), Nsp (Non structural proteins) y RdRP (ARN Polimerasa dependiente de ARN).

Ciclo viral

El ciclo viral inicia con la llegada del virus a la célula blanco, a la cual se adhiere mediante la unión de la proteína S al receptor ACE2. La proteína S, como lo comentamos previamente, sobresale de la envoltura viral y está conformada por tres glucoproteínas idénticas en una conformación “entrelazada” o trímero. Una vez la proteína S se adhiere al receptor, esta es cortada por ciertas proteasas de la membrana de la célula como la Furina o la TMPRSS en dos subunidades separadas llamadas S1 y S2. La subunidad S1 contiene el motivo o dominio específico de reconocimiento del receptor “RBD” (*Receptor Binding Domain*) que se une al receptor ACE2, mientras que la subunidad S2 forma el puente que permite la fusión de la membrana del virus con la de la célula, formando un endosoma.

Una vez en el interior de la célula, el endosoma se reorganiza con el retículo endoplasmático rugoso, formando una vesícula de doble membrana que le permite al virus resguardarse de la respuesta inmune innata de la célula, y mediante el proceso proteolítico y la reorganización de las proteínas no estructurales, forman en conjunto un complejo de Replicasa-Transcriptasa (RTC) donde se da la replicación de ARN viral, generando múltiples copias, y se sintetizan las proteínas estructurales del virus, las cuales una vez formadas se insertan en el retículo endoplasmático. Más adelante, y con la combinación del ARN viral y las proteínas "N", se forma la nucleocápside y en el complejo Retículo Endoplasmático / Aparato de Golgi o ERGIC (*Endoplasmic Reticulum - Golgi Intermediate Compartment*) las partículas virales maduran y al final todas las vesículas contienen nuevos viriones, se fusionan con la membrana plasmática de la célula y son liberadas, con la consecuente apoptosis o muerte celular (**Figura 3**).

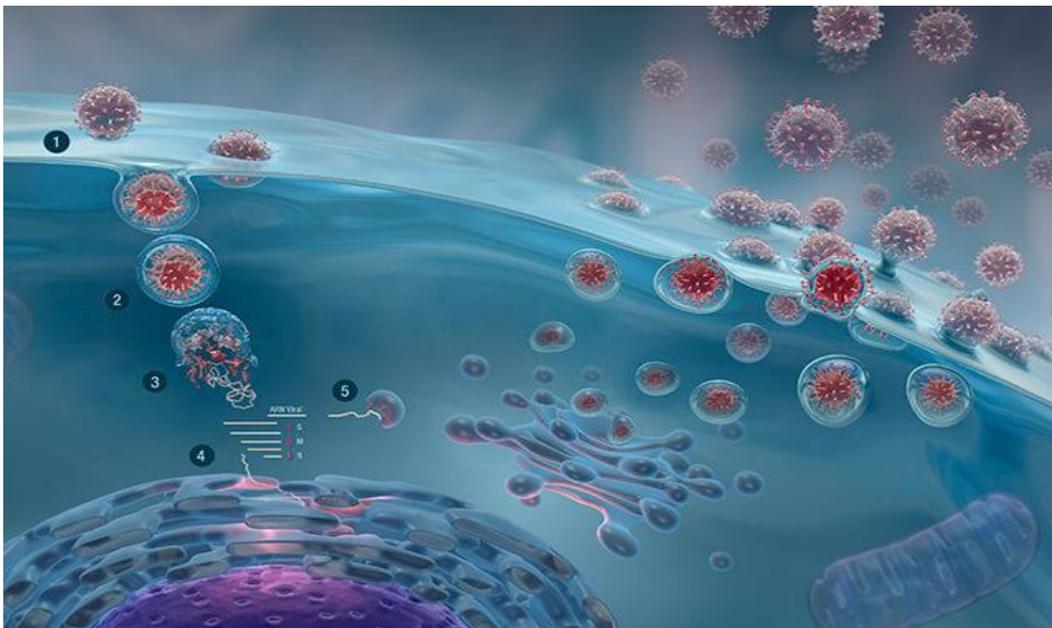


Figura 3. Ciclo de vida del SARS-CoV-2 a nivel celular. (1) El virus a través de su proteína S se une al receptor ACE2 de la superficie celular y media la fusión de la membrana viral y celular **ingresando a la célula en forma de endosomas.** (2) En la fusión y en medio de una disminución del pH, se desencadena la liberación de la nucleocápside. El genoma viral se traduce para producir las poliproteínas 1a y 1ab, las cuales, mediante las proteasas, reconocen y cortan en lugares específicos y de esta forma generan la totalidad de las proteínas no estructurales. (3) Varias de estas se ensamblan y conforman el complejo Replicasa-Transcriptasa, el cual se encarga de la replicación y transcripción del ARN viral. (4) En este proceso el ARN genómico se replica y el ARN subgenómico forma las proteínas estructurales (S, E, M y N). Los productos virales se insertan en el retículo endoplasmático y luego

pasan al sitio de ensamblaje viral, complejo Retículo Endoplasmático/Aparato de Golgi. (5) La nucleocápside se forma en este complejo, adquiriendo una membrana que contiene las proteínas de la envoltura, y de esta forma se estructuran las partículas virales que se transportan en vesículas y posteriormente se liberan de la célula por exocitosis a medida que éstas se unen a la membrana plasmática.

La inmunidad innata

La inmunidad innata de las células es la primera línea de defensa contra la invasión viral, siendo el interferón I (IFN α / B) una de las citoquinas más potentes para contrarrestar las infecciones virales.

Para la producción del interferón, las vías RIG-1/MDA5 y JAK/STAT son las más importantes. El Interferon I actúa induciendo la transcripción de varios genes ISGs (*Interferon - Stimulated Genes*) que codifican múltiples proteínas con funciones antivirales, tanto en las células infectadas como en las células vecinas, y que van desde la detección del patógeno, del ARN viral como "extraño", la producción de varias moléculas efectoras que inhiben la entrada del virus a la célula, su traducción, replicación, y en las etapas avanzadas del ciclo viral inhibe el ensamblaje como la liberación de las partículas virales.

Entre las diferentes proteínas Nsp del virus, se encuentran varias que se han asociado con la capacidad de los virus de evadir esta inmunidad innata celular, y entre ellas, las principales son la Nsp1, la 3 y la 16. La primera o Nsp1 suprime la expresión de los genes involucrados en la síntesis del IFN I, como también promueven la degradación de su ARN mensajero, su traducción hasta el antagonismo del IFN en la célula. Otra de sus funciones es promover que la célula entre en el ciclo de reposo. ***Las otras Nsp se han vinculado con la evasión de la inmunidad de la célula, antagonizando el IFN y evadiendo la detección de la célula hospedera.***

Adicionalmente, y ante la progresión de la enfermedad, se ha encontrado que sumado al proceso inflamatorio que genera linfopenia T (CD4 y CD8), la inducción y sobreexpresión de múltiples citoquinas proinflamatorias tales como las IL-1, IL-2, IL-6, IL-18 y el TNF- α , entre otras y diferentes quimiocinas como las CCL2, CCL3, CCL5, etc., que llevan a un ataque progresivo inmune sobre los tejidos, desencadenando al final el síndrome de dificultad respiratoria agudo producto de la tormenta inmune que conduce adicionalmente a falla multisistémica y muerte del paciente. De ahí la importancia de la respuesta inmune innata de las células desde las etapas iniciales del proceso infeccioso y evitar su progresión

inflamatoria... lo que al final nos habla del delgado equilibrio entre la respuesta inmune y la inflamación.

Mauricio Pérez G., M.D.
Director Médico Científico
Tecnoquímicas S.A.