

# LA PATOGÉNESIS DE LA INFECCIÓN POR CIRCOVIRUS PORCINO TIPO 2

Carolina Rodríguez-Cariño\*. 2012. PV ALBEITAR 14/2012.

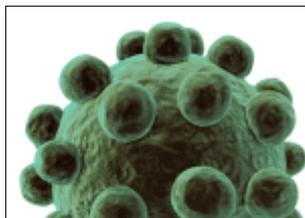
\*CReSA (UAB) y Universidad Central de Venezuela.

[www.produccion-animal.com.ar](http://www.produccion-animal.com.ar)

Volver a: [Enf. infecciosas de los porcinos](#)

## INTRODUCCIÓN

La circovirus porcina (CP) fue descrita por primera vez en los años 90. El circovirus porcino tipo 2 (PCV2) se relacionó rápidamente con la CP y es, hasta el presente, el virus más pequeño conocido que infecta a mamíferos (Allan et al., 1998; Hamel et al., 1998; Meehan et al., 1998). Desde entonces se han llevado a cabo numerosos estudios en los que se explica el desarrollo de la CP y otras enfermedades relacionadas con el PCV2. Sin embargo, sólo pocos de ellos refieren hallazgos ultraestructurales. Estos estudios han mostrado inclusiones virales en células como macrófagos, células epiteliales y hepatocitos, los cuales contienen virus icosaédricos de un tamaño promedio de 17 nm de diámetro (Ellis et al., 1998; Kiupel et al., 1998). También se han descrito partículas virales en restos apoptóticos de macrófagos infectados experimentalmente (Kiupel et al., 2001). En todos los casos previamente citados, las descripciones ultraestructurales han formado parte complementaria de otras investigaciones.



La CP se caracteriza clínicamente por un importante retraso del crecimiento, pérdida de peso, dificultad para respirar, fiebre y diarrea, entre otros signos. También puede acompañarse de muerte en las etapas de transición o engorde (Segalés et al., 2005). Los hallazgos histopatológicos que definen la CP son la depleción linfocitaria y la infiltración histiocítica o la presencia de células gigantes multinucleadas en los tejidos linfoides; en algunos casos, se acompañan de inclusiones virales intranucleares e intracitoplasmáticas en los macrófagos (Segalés et al., 2005).

Las partículas virales de PCV2 se han estudiado ultraestructuralmente (imagen 1), describiéndose como un virus sin envoltura, con 12-23 nm de diámetro (Allan et al., 1998; Crowther et al., 2003; Rodríguez-Cariño y Segalés, 2009).

Uno de los enfoques clásicos que se describe para dilucidar cualquier ciclo de replicación y morfogénesis viral en diferentes tipos celulares incluye estudios de microscopía electrónica. Sin embargo, al inicio de los trabajos realizados por el grupo de investigación del CReSA, que se describen en el presente artículo, se disponía de poco conocimiento sobre la localización subcelular del PCV2 en células infectadas *in vitro* y, aun más, en los tejidos provenientes de cerdos naturalmente afectados y diagnosticados de CP. La interacción del virus con los diferentes elementos celulares en sus diferentes fases de replicación proporciona importantes conocimientos que podrían ser de gran utilidad de cara al control de la infección.

Desde la aparición de la CP, diferentes investigaciones han explicado parcialmente la morfogénesis del PCV2 y su relación con las células, en particular los realizados por el grupo de investigación de la Universidad de Ghent (Bélgica), quienes proponen, a través de otras metodologías, la internalización del virus a través de vesículas endocíticas una vez que el mismo se ha adherido a la superficie celular. Se sostiene que esta primera fase celular puede tardar de 0 a 6 horas y en ella, probablemente, participan organelas como los lisosomas. Se observaron inclusiones intracitoplasmáticas contentivas de partículas virales.

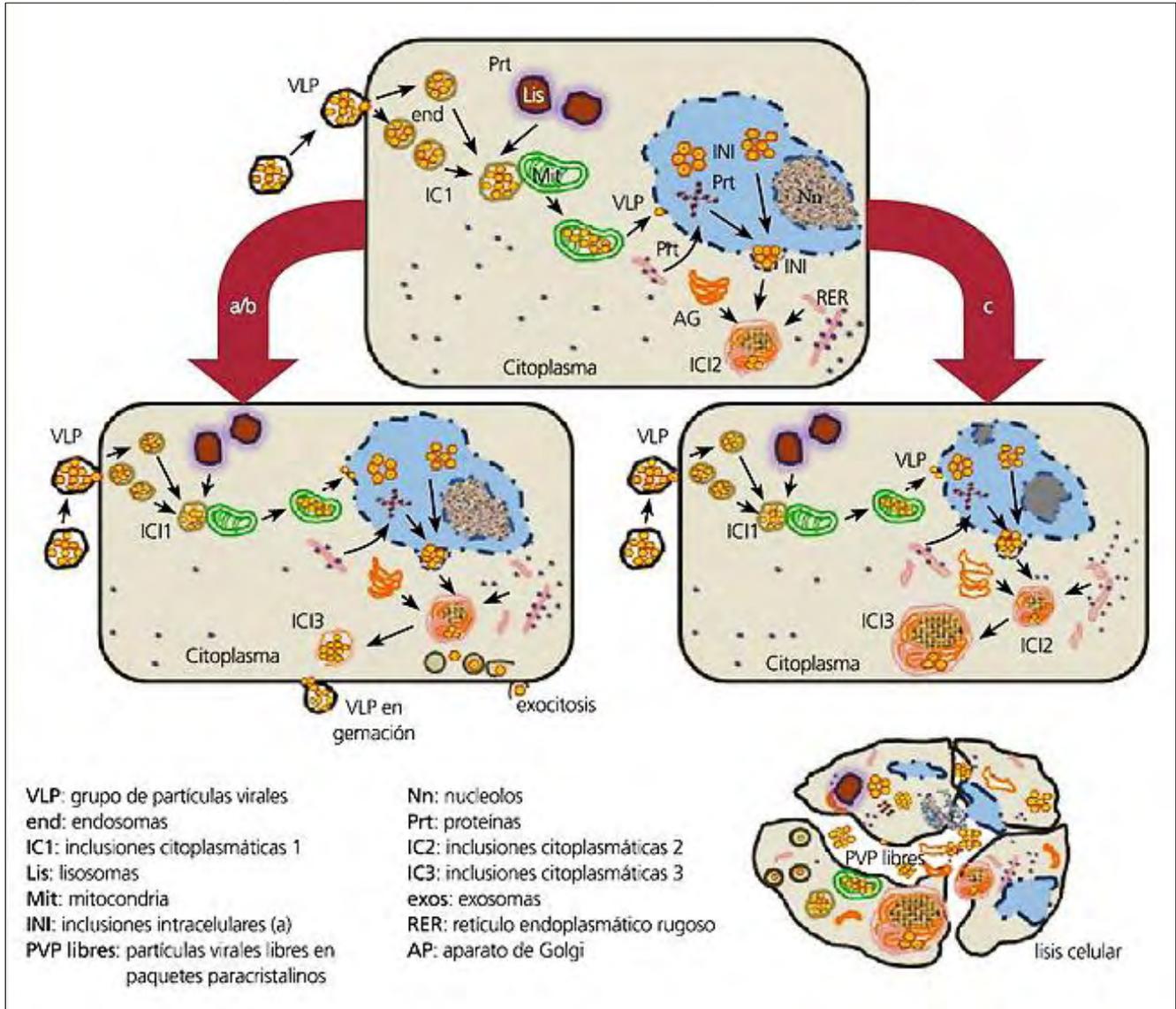
## MODELO DE MORFOGÉNESIS VIRAL PARA EL PCV2

En la figura se representa el esquema propuesto para la morfogénesis de la infección por PCV2. En la primera fase citoplasmática (0 a 12 horas post infección, hpi), una vez que el virus entra por endocitosis, se forman inclusiones intracitoplasmáticas (ICI1). En este periodo, las partículas virales pueden adherirse a la mitocondria y entrar en ella para luego alcanzar el núcleo. En esta fase nuclear, se observaron diferentes inclusiones intranucleares (INI). En torno a las 24 hpi, las INIs se localizan cercanas a la membrana nuclear, ensamblándose y encapsidándose nuevos viriones, con participación de elementos nucleares no determinados, membrana nuclear y proteínas

procedentes del citoplasma. Una vez que estos nuevos viriones “inmaduros” egresan del núcleo, ocurre una segunda fase citoplasmática en asociación con orgánulos como el aparato de Golgi (AG) y el retículo endoplásmico rugoso (RER). En este punto se forman nuevas inclusiones intracitoplasmáticas (ICI2), que pueden tomar diferentes rutas para favorecer la salida de los nuevos viriones de la célula y concluir la replicación viral:

- a): transformación en formaciones más simples de ICI3’, donde los viriones maduros se acercan como “paquetes” a la membrana celular y salen como una unidad por gemación.
- b): Alternativamente, los ICI2 pueden desagregarse, librar los viriones maduros que pueden salir por exocitosis.
- c): Se conforman ICIs grandes y complejos, (ICI3’), aunado a importantes alteraciones subcelulares, que concluye en la lisis celular y la liberación de viriones maduros e inmaduros.

Morfogénesis viral para el PCV2 (Fuente: Rodríguez-Cariño et al., in press)



### DESCRIPCIÓN DE LOS CAMBIOS SUBCELULARES IN VITRO

A través de estudios ultraestructurales de infecciones experimentales in vitro llevados a cabo por el grupo de investigación del CReSA (Rodríguez-Cariño et al., in press), se ha propuesto la participación de la mitocondria en las primeras fases citoplasmáticas de replicación viral en la célula. Estas investigaciones han demostrado la presencia de partículas virales que conforman conglomerados o factorías virales (VF) en estas organelas, lo cual no había sido previamente descrito con ningún otro virus conocido (Novoa et al., 2005). Además, las mitocondrias muestran importantes alteraciones morfológicas cuya disfunción se ha relacionado con procesos inflamatorios.

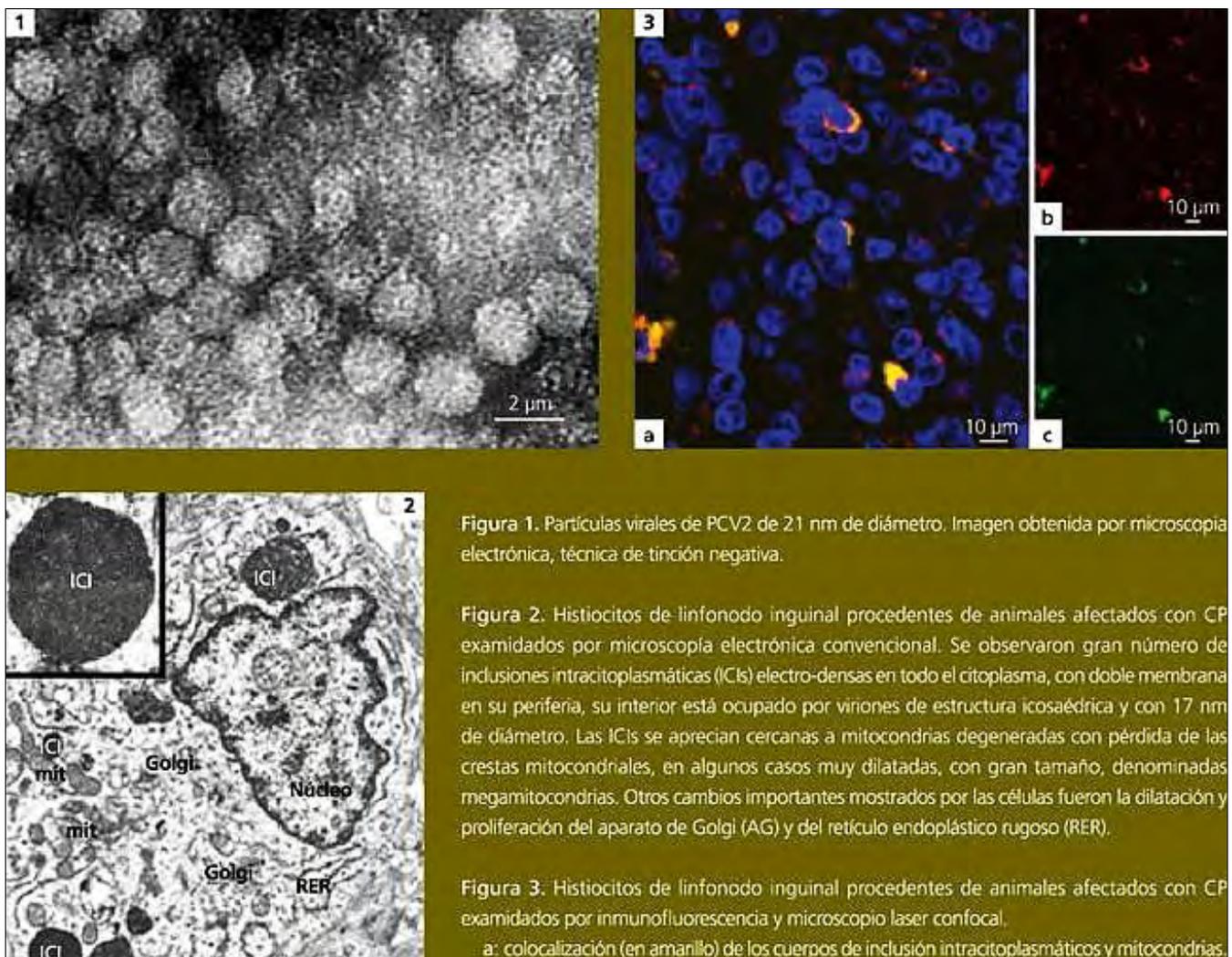
Aunque no es un hecho frecuente, la patogénesis de algunos virus ADN y ARN, como el de la hepatitis B y el virus de la inmunodeficiencia adquirida, ha mostrado interacción entre virus y mitocondria. Hasta la fecha no ha sido dilucidada cuál es la participación activa de la mitocondria en la replicación del PCV2 ni de otros orgánulos en el proceso de replicación viral, lo que sí ha sido demostrado en otras infecciones virales (Gómez-Villamandos

et al., 1997; Mettenleiter, 2002; Mhamdi et al., 2007; Salanueva et al., 2003). Es importante puntualizar que la mitocondria posee elementos moleculares y estructurales que pudieran facilitar la replicación viral.

El estudio *in vitro* ha permitido mostrar que hay cambios conformacionales de las partículas virales en su fase nuclear, la cual se ha señalado como una fase importante de la replicación viral, lo que se corresponde con lo referido en investigaciones previas (Finsterbusch y Mankertz, 2009). De igual forma, se describió una segunda fase citoplasmática en la que parecía que participan activamente otros orgánulos en el ensamblaje, encapsidación y transporte viral (Novoa et al., 2005; Risco et al., 2002; Rodríguez-Cariño et al., *in press*). Es importante acotar que durante esta infección experimental se observó en mayor grado el número de células muertas/apoptóticas a medida que pasaban las horas postinfección.

## HALLAZGOS MORFOLÓGICOS EN CÉLULAS DE LINFONODOS

Se han evaluado ultraestructuralmente linfonodos inguinales y mediastínicos procedentes de animales clínicamente afectados con CP y que cumplían con los criterios diagnósticos de la enfermedad (Segalés et al., 2005). Al igual que en otras investigaciones realizadas por el grupo de investigación del CReSA (Pérez-Martín et al., 2007), en este tejido se demostró la presencia de VF del PCV2 en un número importante de células histiocíticas/macrófagos (figura 2) (Rodríguez-Cariño y Segalés, 2009; Rodríguez-Cariño et al., 2010).



Similarmente a lo descrito en la primera fase de replicación de la infecciones experimental *in vitro*, En histiocitos/macrófagos, linfocitos, células dendríticas y endoteliales se refirieron importantes alteraciones morfológicas subcelulares, particularmente en los macrófagos. Sin embargo, sólo estas últimas células mostraron partículas virales de PCV2 y se demostró la colocalización del virus en la mitocondria a través de técnicas específicas de microscopía electrónica de transmisión y confocalidad (figura 3) (Rodríguez-Cariño et al., 2010). Esto reforzó la teoría expuesta en relación a la participación de las mitocondrias, de acuerdo a los resultados obtenidos en los estudios *in vitro* previamente citados (Rodríguez-Cariño et al., *in press*).

Pocos histiocitos mostraron inclusiones intranucleares, mientras que en algunos de ellos se observaron grandes inclusiones de paquetes virales (VF) que ocupaban amplias áreas citoplasmáticas (ICI). Estas grandes inclu-

siones podrían corresponder a los cuerpos de inclusión descritos histopatológicamente en los macrófagos que infiltran tejidos linfoides de animales afectados con CP (Rosell et al., 1999; Segalés et al., 2004). De igual manera, se observaron partículas virales entre restos apoptóticos de células histiocíticas/macrófagos. Se podría especular, como ocurre en otras infecciones virales, que estas grandes estructuras virales intracitoplasmáticas podrían representar un paso previo a la lisis celular en la infección por PCV2, induciendo a su vez a la autofagia, lo que facilitaría la liberación de la progenie viral y el ciclo infeccioso (Jiang et al., 2008). Este proceso podría ser una forma alternativa de liberar el PCV2 en el espacio extracelular.

Los resultados observados en tejidos procedentes de animales afectados con CP indican de manera inequívoca que el PCV2 es capaz de replicarse en los macrófagos, aunque este tema ha sido históricamente controvertido.

## CONCLUSIONES

Finalmente, considerando lo observado en los estudios *in vitro* e *in vivo*, se ha propuesto un modelo de morfogénesis viral para el PCV2, donde el virus en su fase final de replicación es liberado de la célula por dos vías diferentes: por gemación de grupos virales, observado en el estudio *in vitro*, o por lisis de células apoptóticas/muertas.

Los estudios realizados a través de las técnicas de microscopía electrónica han permitido obtener una importante información sobre los cambios morfológicos en cultivos celulares a diferentes tiempos postinfección con PCV2, así como en los linfonodos procedentes de animales diagnosticados con CP. Aunque los hallazgos ultraestructurales reportados en los estudios *in vitro* e *in vivo* realizados por el grupo de investigación del CReSA han contribuido a mejorar la comprensión de la patogénesis de PCV2, son necesarios más estudios para la evaluación cronológica de los cambios subcelulares que ocurren en condiciones naturales de infección, lo cual conduce al establecimiento de la enfermedad.

## BIBLIOGRAFÍA

- Allan, G. M., McNeilly, F., Kennedy, S., Daft, B., Clarke, E. G., Ellis, J. A., Haines, D. M., Meehan, B. M. and Adair, B. M. (1998). Isolation of porcine circovirus-like viruses from pigs with a wasting disease in the USA and Europe. *J Vet Diagn Invest*, 10, 3-10.
- Briquet, S. and Vaquero, C. (2002). Immunolocalization studies of an antisense protein in HIV-1-infected cells and viral particles. *Virology*, 292, 177-184.
- Cobbold, C., Brookes, S. M. and Wileman, T. (2000). Biochemical requirements of virus wrapping by the endoplasmic reticulum: involvement of ATP and endoplasmic reticulum calcium store during envelopment of African swine fever virus. *J Virol*, 74, 2151-2160.
- Crowther, R. A., Berriman, J. A., Curran, W. L., Allan, G. M. and Todd, D. (2003). Comparison of the structures of three circoviruses: chicken anemia virus, porcine circovirus type 2, and beak and feather disease virus. *J Virol*, 77, 13036-13041.
- Ellis, J., Hassard, L., Clark, E., Harding, J., Allan, G., Willson, P., Strokappe, J., Martín, K., McNeilly, F., Meehan, B., Todd, D. and Haines, D. (1998). Isolation of circovirus from lesions of pigs with postweaning multisystemic wasting syndrome. *Can Vet J*, 39, 44-51.
- Finsterbusch, T. and Mankertz, A. (2009). Porcine circoviruses--small but powerful. *Virus Res*, 143, 177-183.
- Gómez-Villamandos, J. C., Bautista, M. J., Carrasco, L., Caballero, M. J., Hervas, J., Villeda, C. J., Wilkinson, P. J. and Sierra, M. A. (1997). African swine fever virus infection of bone marrow: lesions and pathogenesis. *Vet Pathol*, 34, 97-107.
- Hamel, A. L., Lin, L. L. and Nayar, G. P. (1998). Nucleotide sequence of porcine circovirus associated with postweaning multisystemic wasting syndrome in pigs. *J Virol*, 72, 5262-5267.
- Hirai, T., Nunoya, T., Ihara, T., Kusanagi, K., Kato, T. and Shibuya, K. (2003). Acute hepatitis in a piglet experimentally inoculated with tissue homogenates from pigs with postweaning multisystemic wasting syndrome. *J Vet Med Sci*, 65, 1041-1045.
- Jiang, H., White, E. J., Gómez-Manzano, C. and Fueyo, J. (2008). Adenovirus's last trick: you say lysis, we say autophagy. *Autophagy*, 4, 118-120.
- Kiupel, M., Stevenson, G. W., Choi, J., Latimer, K. S., Kanitz, C. L. and Mittal, S. K. (2001). Viral replication and lesions in BALB/c mice experimentally inoculated with porcine circovirus isolated from a pig with postweaning multisystemic wasting disease. *Vet Pathol*, 38, 74-82.
- Kiupel, M., Stevenson, G. W., Mittal, S. K., Clark, E. G. and Haines, D. M. (1998). Circovirus-like viral associated disease in weaned pigs in Indiana. *Vet Pathol*, 35, 303-307.
- Meehan, B. M., McNeilly, F., Todd, D., Kennedy, S., Jewhurst, V. A., Ellis, J. A., Hassard, L. E., Clark, E. G., Haines, D. M. and Allan, G. M. (1998). Characterization of novel circovirus DNAs associated with wasting syndromes in pigs. *J Gen Virol*, 79 ( Pt 9), 2171-2179.
- Mettenleiter, T. C. (2002). Herpesvirus assembly and egress. *J Virol*, 76, 1537-1547.
- Mhamdi, M., Funk, A., Hohenberg, H., Will, H. and Sirma, H. (2007). Assembly and budding of a hepatitis B virus is mediated by a novel type of intracellular vesicles. *Hepatology*, 46, 95-106.
- Misinzo, G., Delputte, P. L., Lefebvre, D. J. and Nauwynck, H. J. (2009). Porcine circovirus 2 infection of epithelial cells is clathrin-, caveolae- and dynamin-independent, actin and Rho-GTPase-mediated, and enhanced by cholesterol depletion. *Virus Res*, 139, 1-9.

- Misinzo, G., Delputte, P. L., Meerts, P., Lefebvre, D. J. and Nauwynck, H. J. (2006). Porcine circovirus 2 uses heparan sulfate and chondroitin sulfate B glycosaminoglycans as receptors for its attachment to host cells. *J Virol*, 80, 3487-3494.
- Misinzo, G., Delputte, P. L. and Nauwynck, H. J. (2008). Inhibition of endosome-lysosome system acidification enhances porcine circovirus 2 infection of porcine epithelial cells. *J Virol*, 82, 1128-1135.
- Misinzo, G., Meerts, P., Bublot, M., Mast, J., Weingartl, H. M. and Nauwynck, H. J. (2005). Binding and entry characteristics of porcine circovirus 2 in cells of the porcine monocytic line 3D4/31. *J Gen Virol*, 86, 2057-2068.
- Novoa, R. R., Calderita, G., Arranz, R., Fontana, J., Granzow, H. and Risco, C. (2005). Virus factories: associations of cell organelles for viral replication and morphogenesis. *Biol Cell*, 97, 147-172.
- Pérez-Martín, E., Rovira, A., Calsamiglia, M., Mankertz, A., Rodríguez, F. and Segalés, J. (2007). A new method to identify cell types that support porcine circovirus type 2 replication in formalin-fixed, paraffin-embedded swine tissues. *J Virol Methods*, 146, 86-95.
- Rahmani, Z., Huh, K. W., Lasher, R. and Siddiqui, A. (2000). Hepatitis B virus X protein colocalizes to mitochondria with a human voltage-dependent anion channel, HVDAC3, and alters its transmembrane potential. *J Virol*, 74, 2840-2846.
- Risco, C., Rodríguez, J. R., López-Iglesias, C., Carrascosa, J. L., Esteban, M. and Rodríguez, D. (2002). Endoplasmic reticulum-Golgi intermediate compartment membranes and vimentin filaments participate in vaccinia virus assembly. *J Virol*, 76, 1839-1855.
- Rodríguez-Cariño *et al.*, 2010a
- Rodríguez-Cariño y Segalés, 2009
- Rodríguez-Cariño *et al.*, 2010b
- Rosell, C., Segalés, J., Plana-Durán, J., Balasch, M., Rodríguez-Arriola, G. M., Kennedy, S., Allan, G. M., McNeilly, F., Latimer, K. S. and Domingo, M. (1999). Pathological, immunohistochemical, and in-situ hybridization studies of natural cases of postweaning multisystemic wasting syndrome (PMWS) in pigs. *J Comp Pathol*, 120, 59-78.
- Salanueva, I. J., Novoa, R. R., Cabezas, P., Lopez-Iglesias, C., Carrascosa, J. L., Elliott, R. M. and Risco, C. (2003). Polymorphism and structural maturation of bunyamwera virus in Golgi and post-Golgi compartments. *J Virol*, 77, 1368-1381.
- Segalés, J., Allan, G. M. and Domingo, M. (2005). Porcine circovirus diseases. *Anim Health Res Rev*, 6, 119-142.
- Segalés, J., Rosell, C. and Domingo, M. (2004). Pathological findings associated with naturally acquired porcine circovirus type 2 associated disease. *Vet Microbiol*, 98, 137-149.
- Su, K. G., Banker, G., Bourdette, D. and Forte, M. (2009). Axonal degeneration in multiple sclerosis: the mitochondrial hypothesis. *Curr Neurol Neurosci Rep*, 9, 411-417.

Volver a: [Enf. infecciosas de los porcinos](#)