

ELAINE RANIERO FERNANDES

PESQUISADORA CIENTÍFICA

INSTITUTO PASTEUR

**Patogenia da raiva : a
trajetória do vírus rumo
ao SNC**



O termo patogenia, patogênese ou nosogenia refere-se ao modo como os agentes etiopatogênicos agredem o nosso organismo e, como os sistemas naturais de defesa do hospedeiro reagem, surgindo mesmo assim, lesões e disfunções das células e tecidos agredidos, produzindo-se a doença.

<http://www.dicionarioinformal.com.br/patogênese>



RAIVA

Encefalomielite
aguda e
progressiva



Zoonose de alta
gravidade

Infecta todas
espécies
mamíferos

Evolução quase
sempre fatal

TAXONOMIA DO VÍRUS DA RAIVA

- ♦ **Neurotrópico: afinidade pelo Sistema Nervoso**
- ♦ **Vírus RNA, filamento único, envelopado, polaridade negativa**
- ♦ **Tamanho: 75nm de diâmetro e 100nm a 300nm de comprimento**
(forma de projétil)
- ♦ **Ordem: *Mononegavirales***
- ♦ **Família: *Rhabdoviridae***
- ♦ **Gênero: *Lyssavirus***

International Committee on Taxonomy of Viruses (ICTV), 2014.

Lyles e Rupprecht IN: Knipe e Howley, Fields Virology, 2007.

ESTRUTURA VIRAL

Recepção e a fusão na superfície da célula do hospedeiro e serve como um alvo para indução de anticorpos neutralizantes virais

G (glicoproteína)

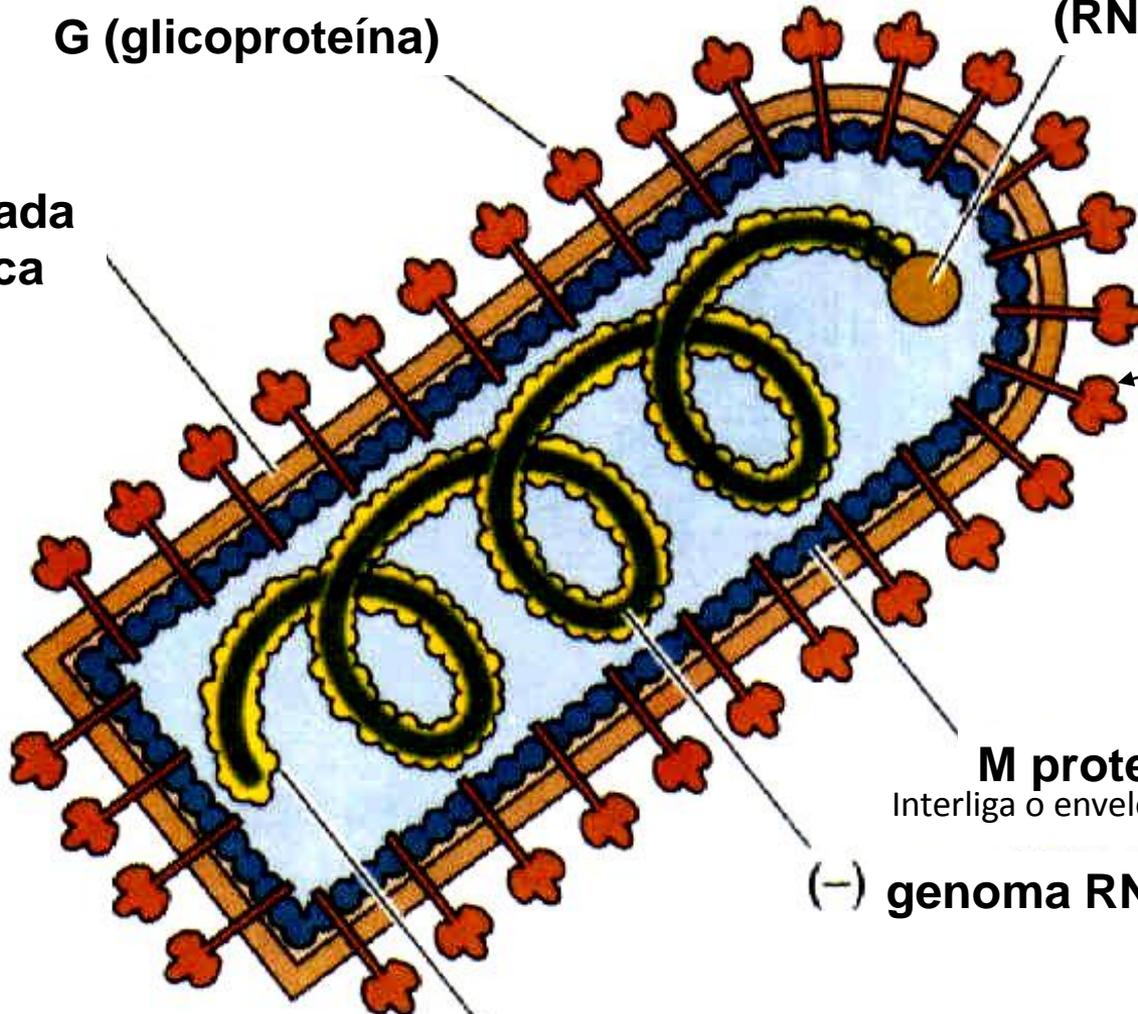
L: síntese de RNA

**Proteínas L e P
(RNA polimerase)**

Fosfoproteína (P):
transcrição, replicação e
transporte axoplasmático

**Bicamada
lipídica**

espículas



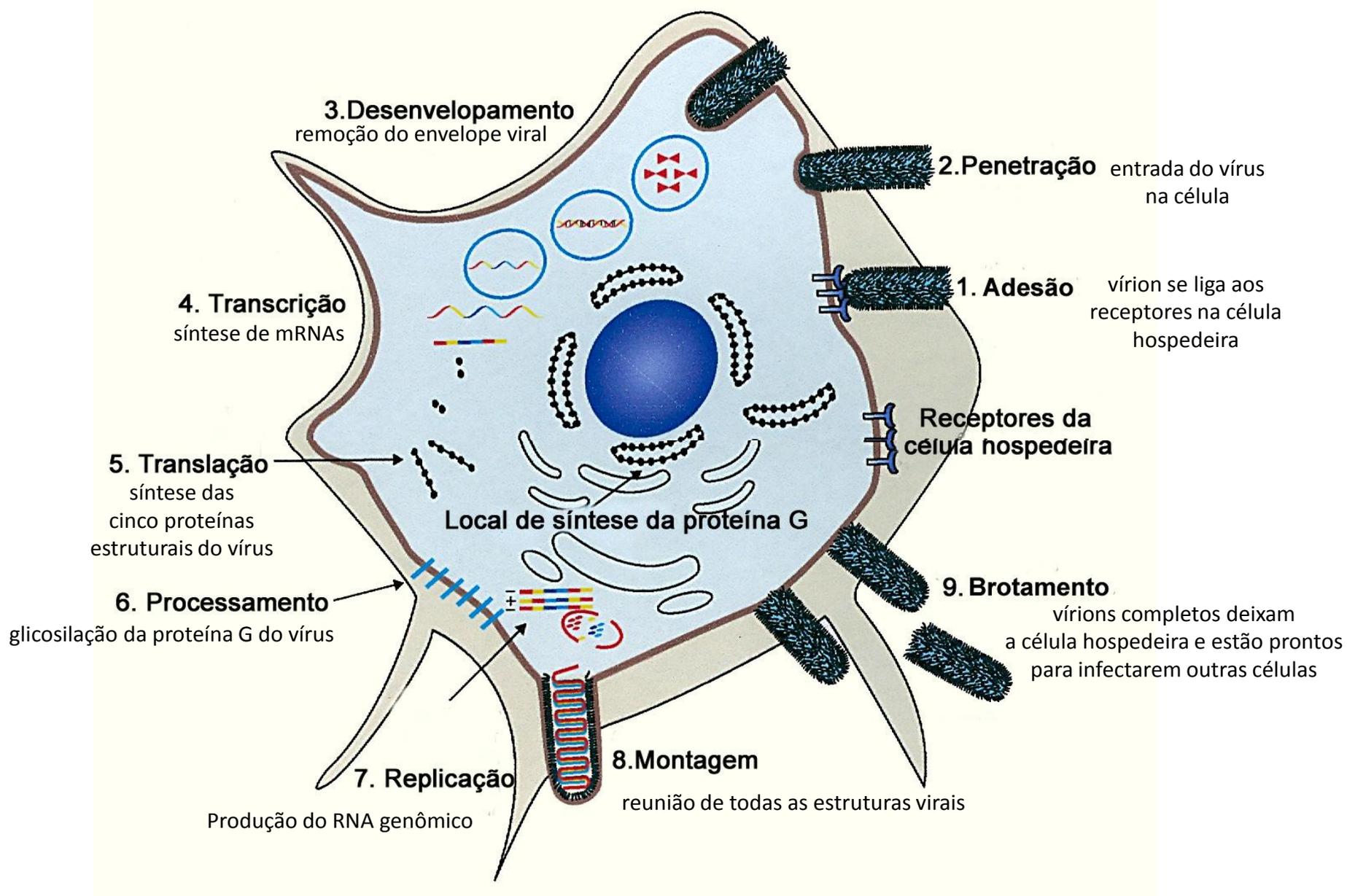
M proteína matriz
Interliga o envelope ao nucleocapsídeo

(-) genoma RNA (11932 pb)

N (proteína do nucleocapsídeo)

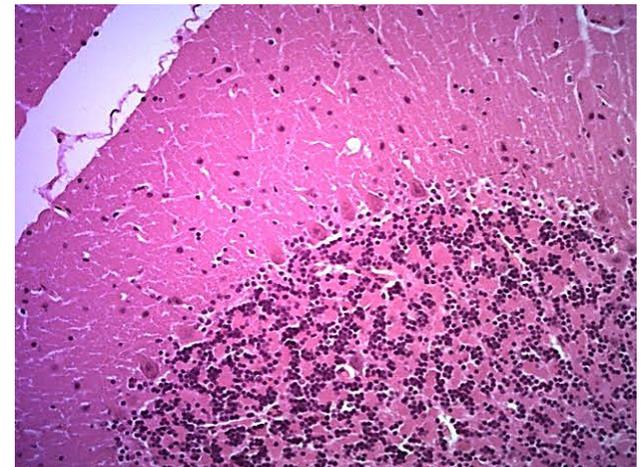
Encapsula o RNA viral

INTERAÇÃO DO VÍRUS DA RAIVA COM A CÉLULA HOSPEDEIRA

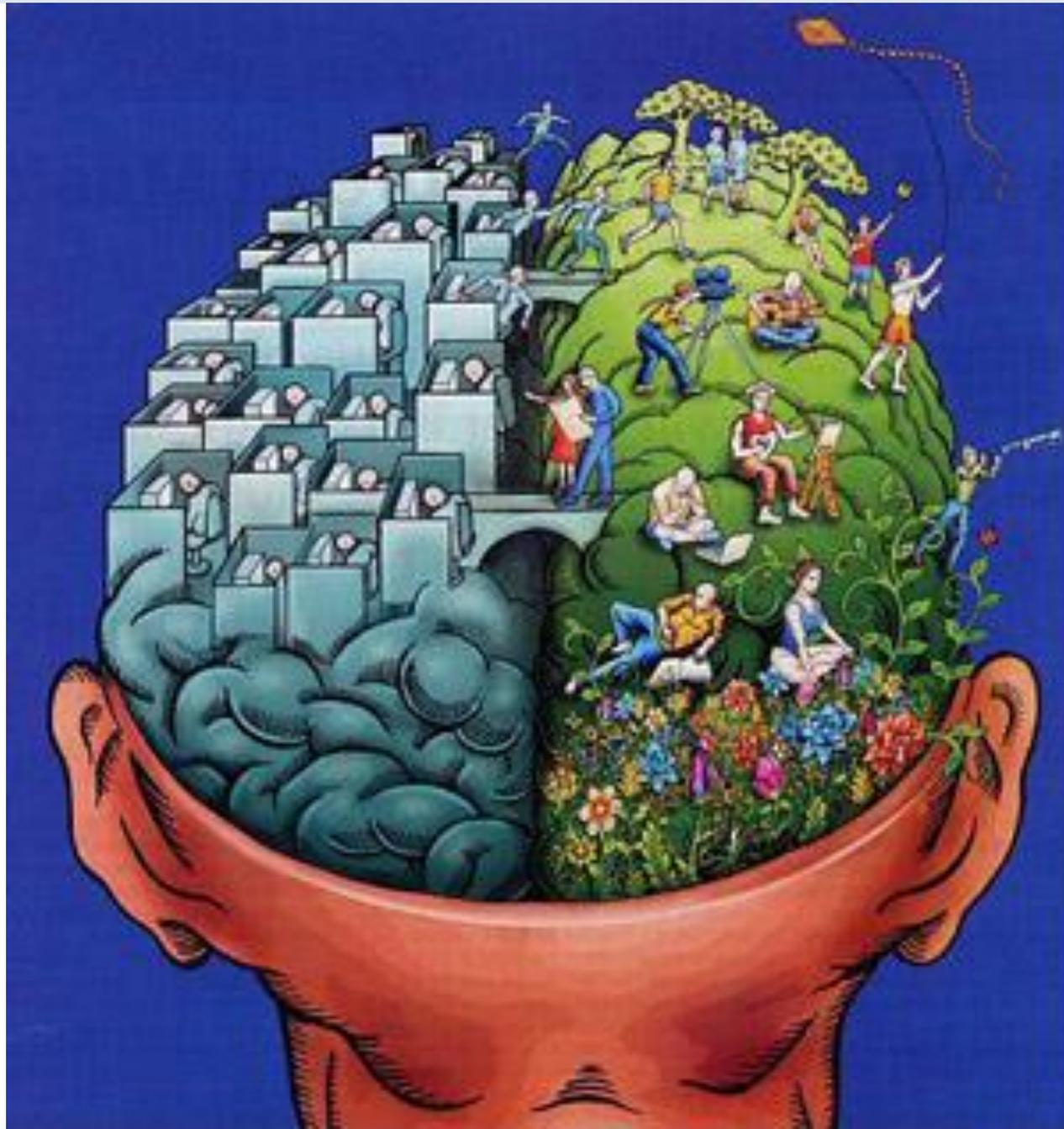


CÉLULAS E REGIÕES MAIS ACOMETIDAS

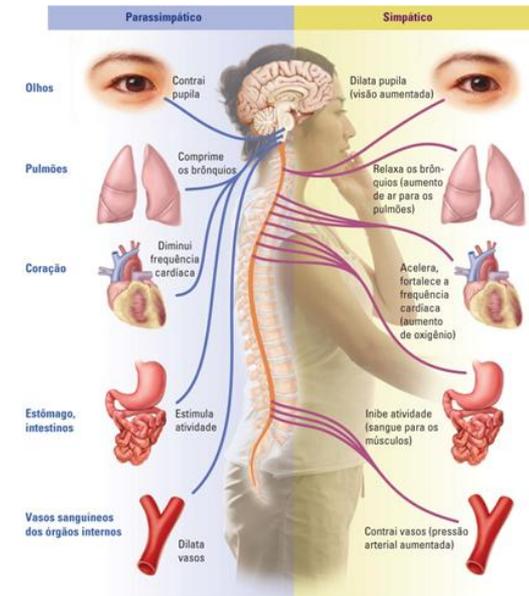
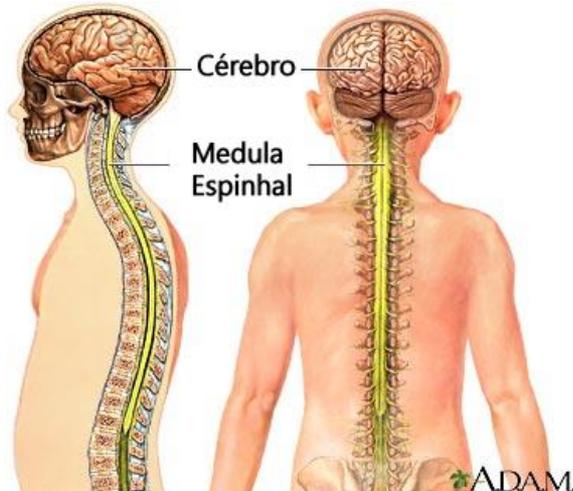
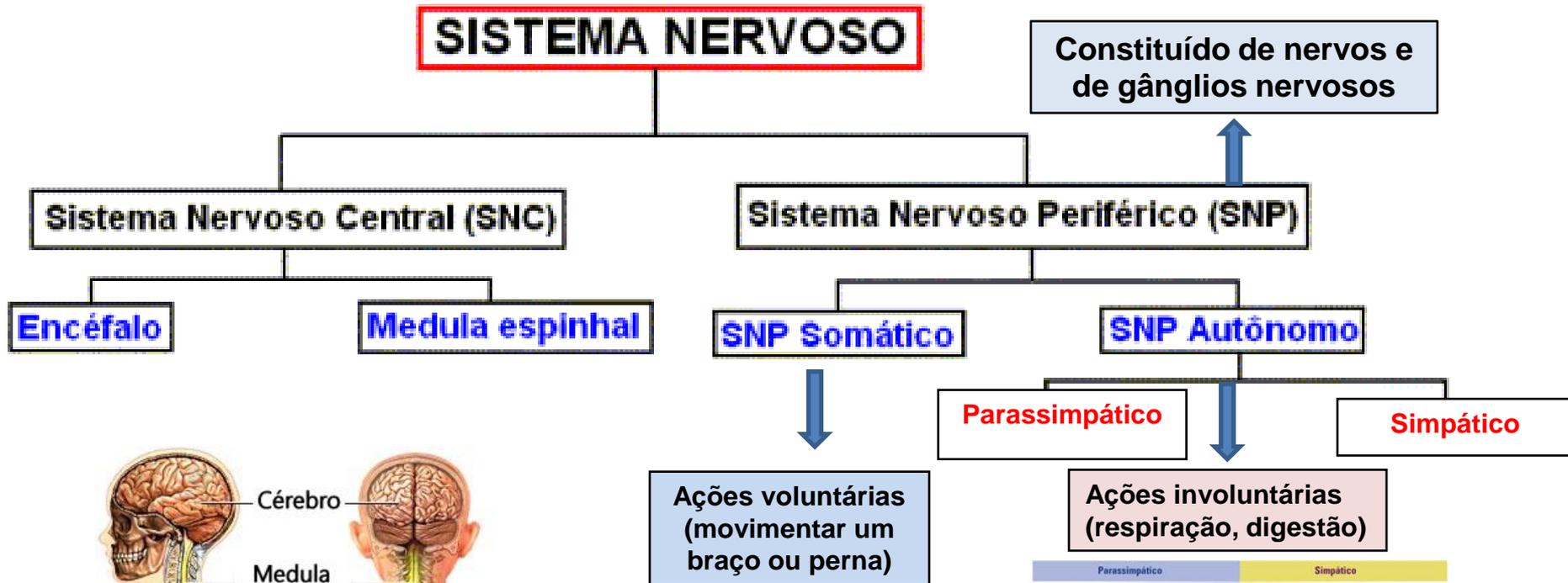
- ♦ Infecta primariamente os neurônios (neurotropismo), mas pode haver infecção de astrócitos, microglia, células endoteliais.
- ♦ Infecta todas as regiões do Sistema Nervoso Central.
- ♦ Regiões mais acometidas: hipocampo, tronco cerebral, medula e células de Purkinje no cerebelo; muitas vezes, os sintomas estão associados com a localização anatômica no cérebro.



REVISITANDO A ANATOMIA E HISTOLOGIA DO CÉREBRO



REVISITANDO A ANATOMIA E HISTOLOGIA DO CÉREBRO

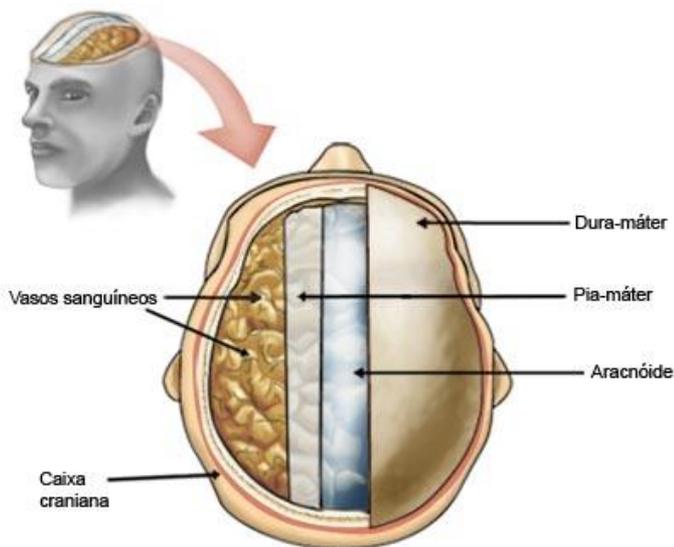


PROTEÇÃO DO ENCÉFALO E DA MEDULA

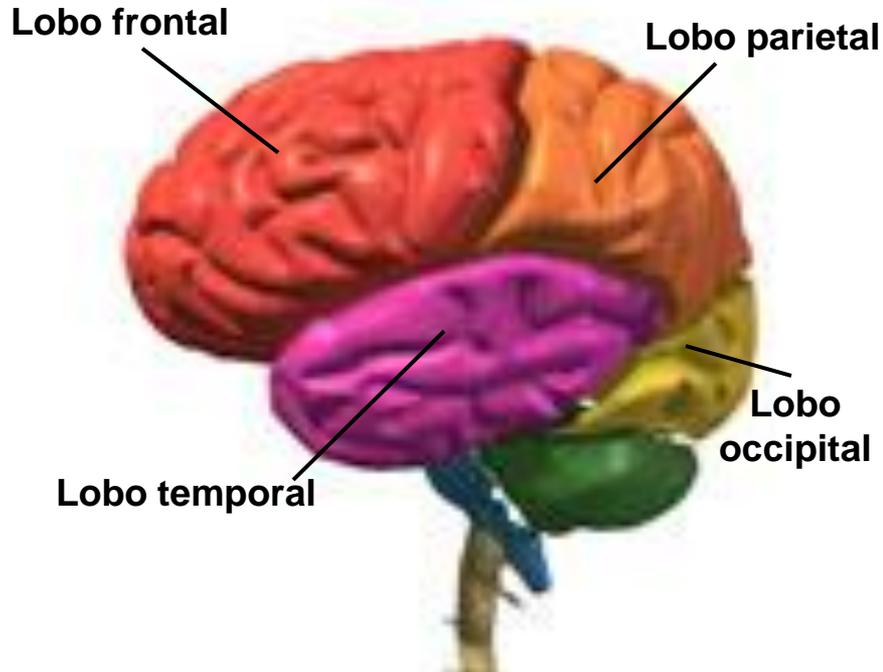
- **Meninges:** recobrem cérebro e medula com a função de proteger esses órgãos do atrito com os ossos do crânio e da coluna. Apresenta de três camadas: a **Dura-máter**, a **Aracnóide** e a **Pia- máter**.

- **Líquido cefalorraquidiano** (líquor): líquido de amortecimento, produzido pelo **plexo coroide** que é formado por tecido conjuntivo frouxo da pia-máter, revestido por epitélio simples, cúbico, derivado do tubo neural.

Esse líquido mantém-se separado do sangue pela **Barreira hematoencefálica**.



REVISITANDO A ANATOMIA E HISTOLOGIA DO CÉREBRO

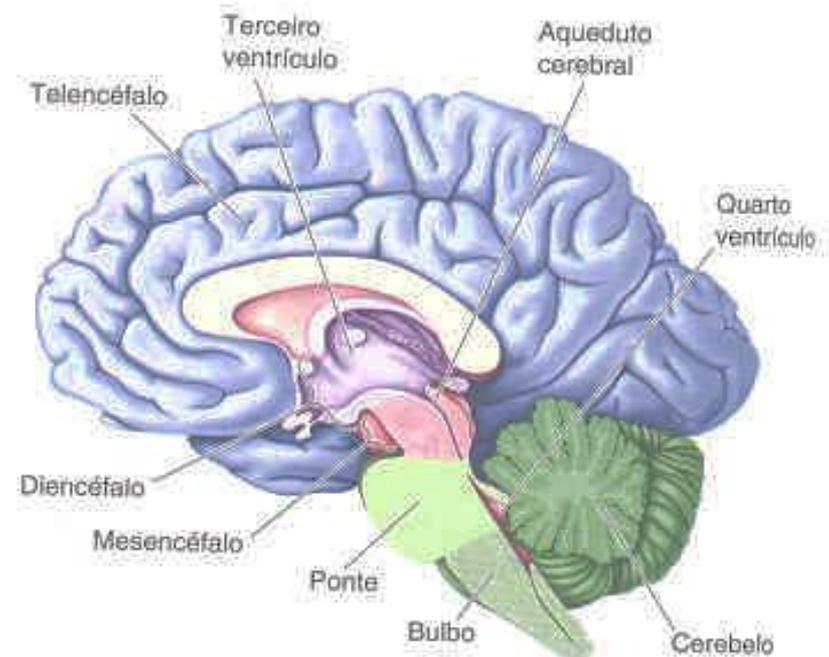


Lobo frontal: consciência, iniciativa, julgamento, pensamento lógico, personalidade, motivação e inibição

Lobo parietal: sensações, toque, dor, frio, formas, texturas

Lobo occipital: visão

Lobo temporal: audição, memória e emoção

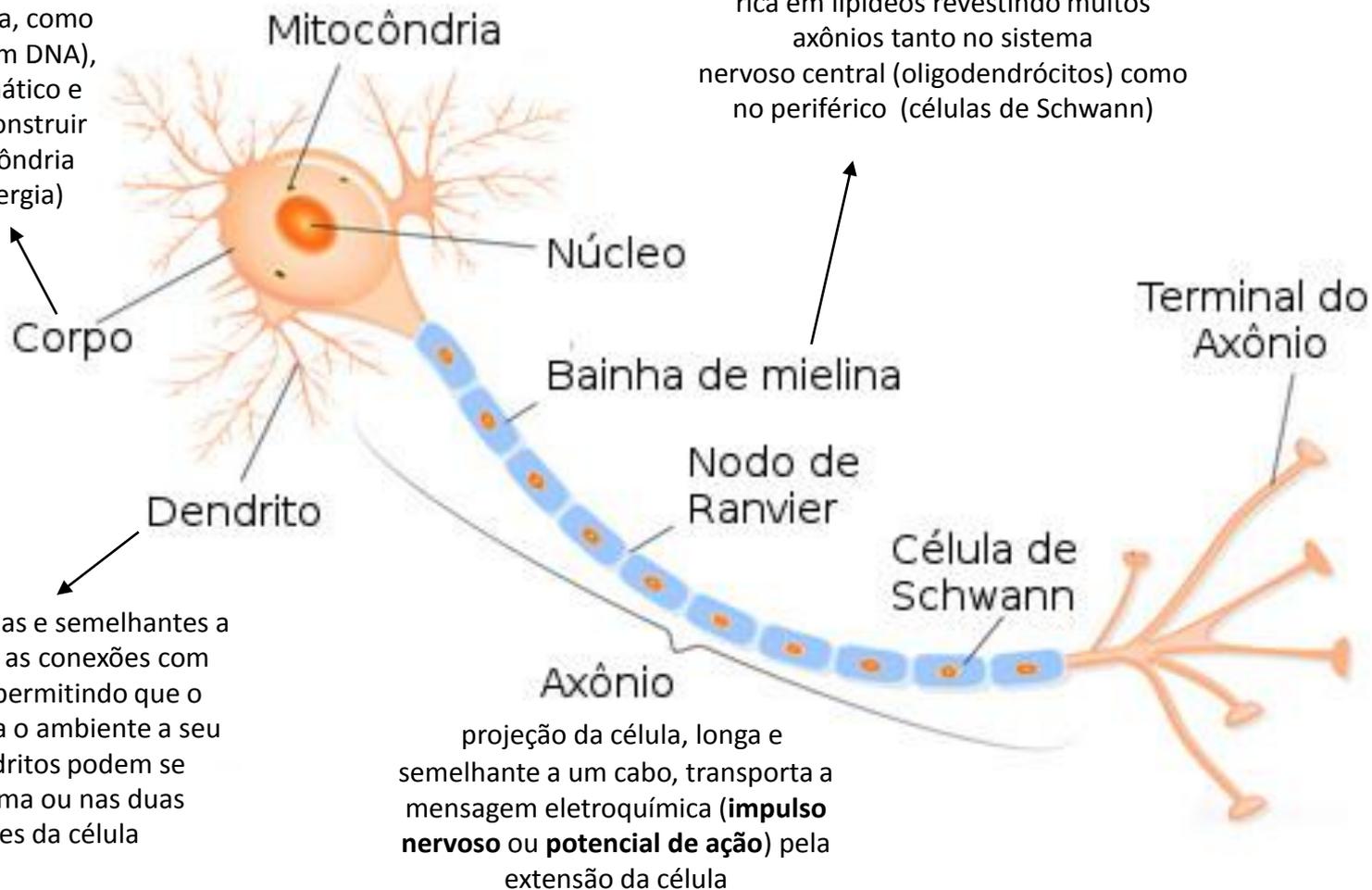


O encéfalo corresponde ao **TELENCÉFALO** (hemisférios cerebrais), **DIENCÉFALO** (tálamo e hipotálamo), **CEREBELO** (movimento, equilíbrio, postura, tônus muscular) e **TRONCO ENCEFÁLICO** (respiração, ritmo dos batimentos cardíacos, pressão arterial), que se divide em: **BULBO**, **MESENCÉFALO** e **PONTE**.

ESTRUTURA NEURONAL

Nosso cérebro é composto por cerca de 86 bilhões de neurônios

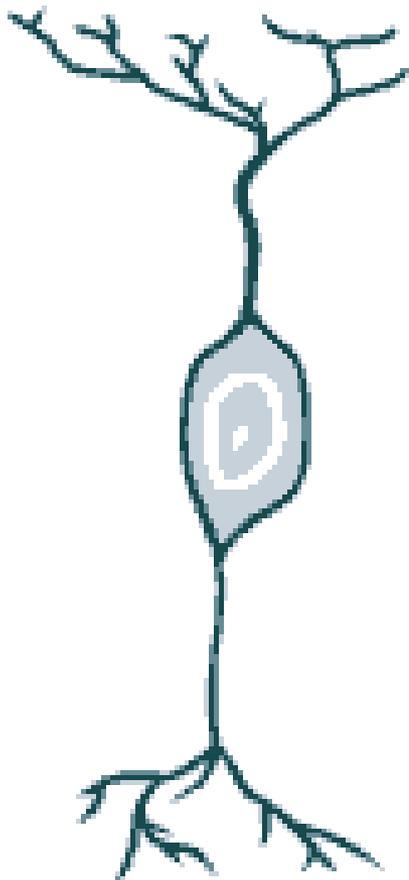
Contem componentes necessários da célula, como o núcleo (que contém DNA), retículo endoplasmático e ribossomos (para construir proteínas) e mitocôndria (para produzir energia)



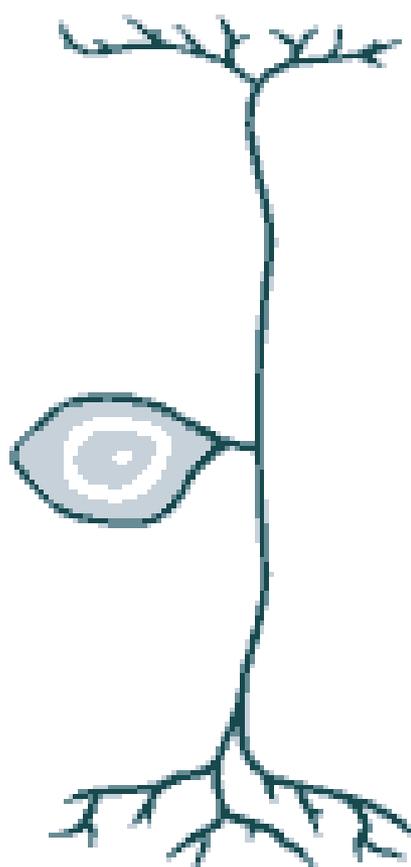
projeções pequenas e semelhantes a galhos, realizam as conexões com outras células, permitindo que o neurônio perceba o ambiente a seu redor. Os dendritos podem se localizar em uma ou nas duas terminações da célula

projeção da célula, longa e semelhante a um cabo, transporta a mensagem eletroquímica (**impulso nervoso** ou **potencial de ação**) pela extensão da célula

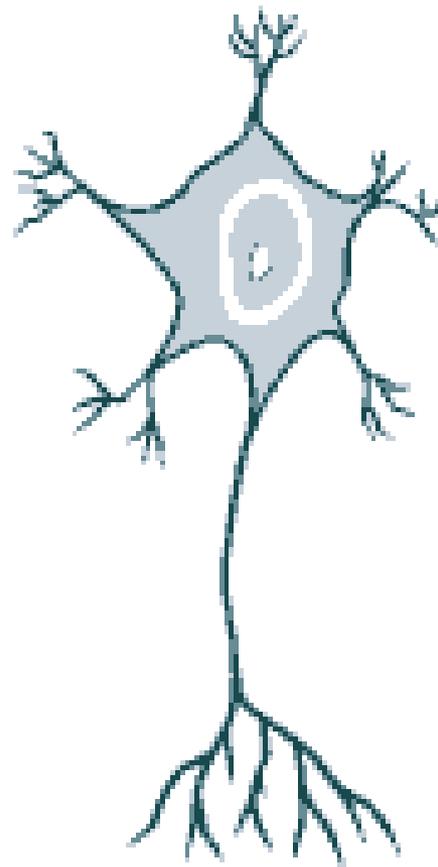
TIPOS BÁSICOS DE NEURÔNIOS



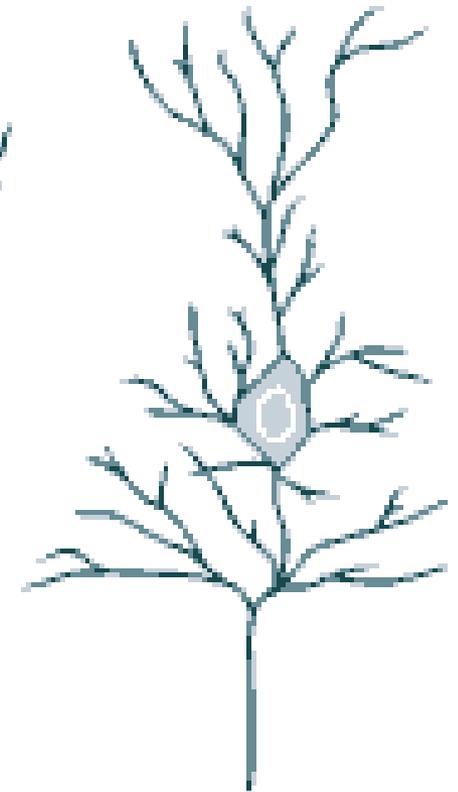
BIPOLAR
(Inter-neurônio)
Conexão de
neurônios do
cérebro e medula



UNIPOLAR (neurônio sensorial)
SNP para SNC

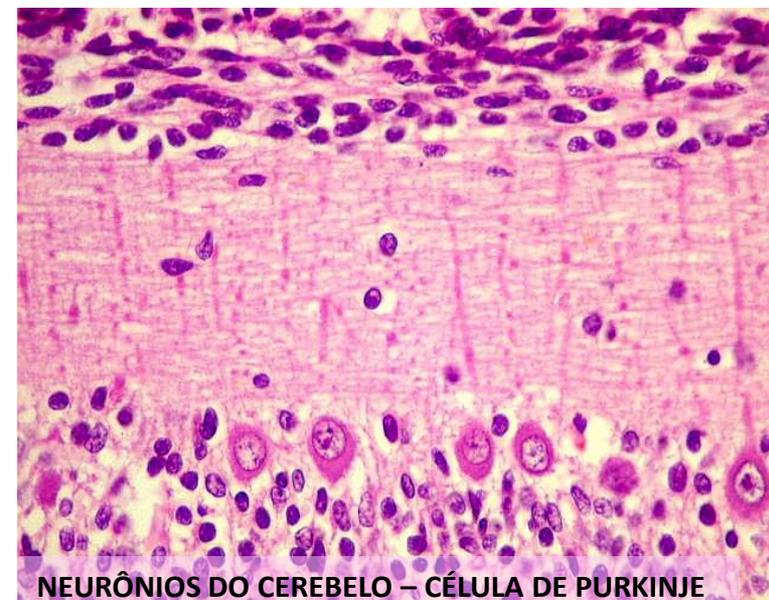
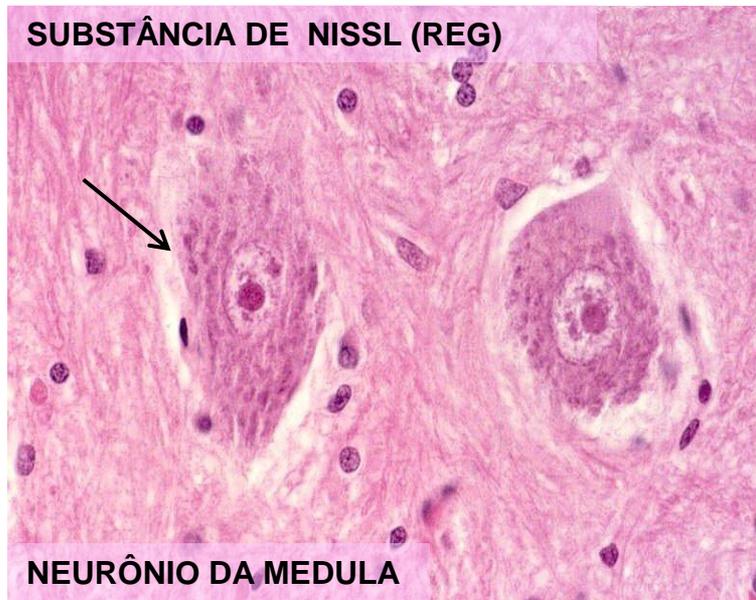
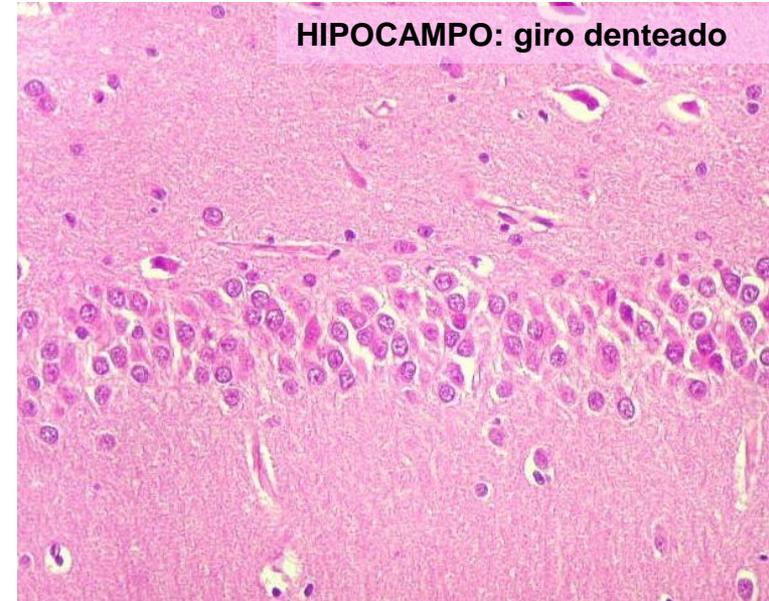
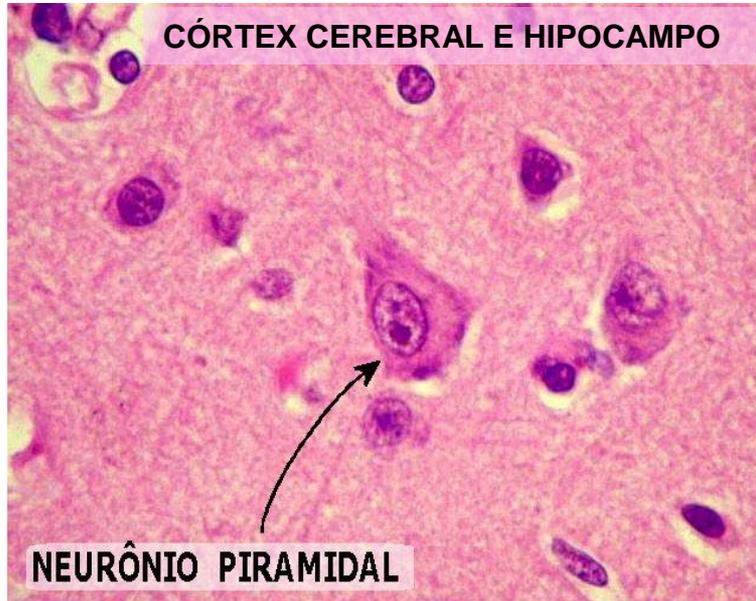


MULTIPOLAR
(neurônio motor)
SNC para SNP

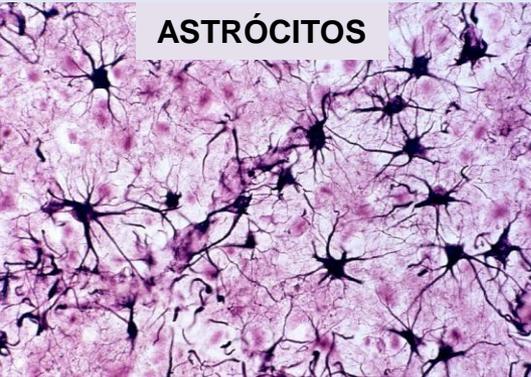


PIRAMIDAL
Conexão de
neurônios entre si

DIFERENTES ESTRUTURAS, DIFERENTES NEURÔNIOS



CÉLULAS DA GLIA OU NEURÓGLIA



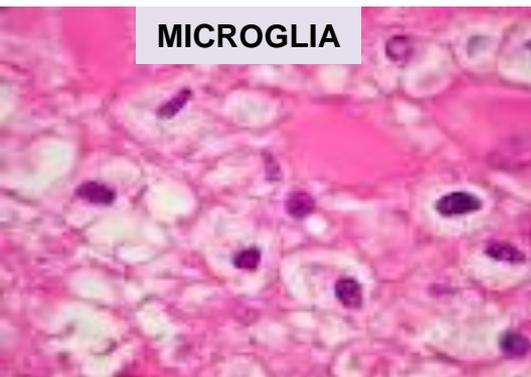
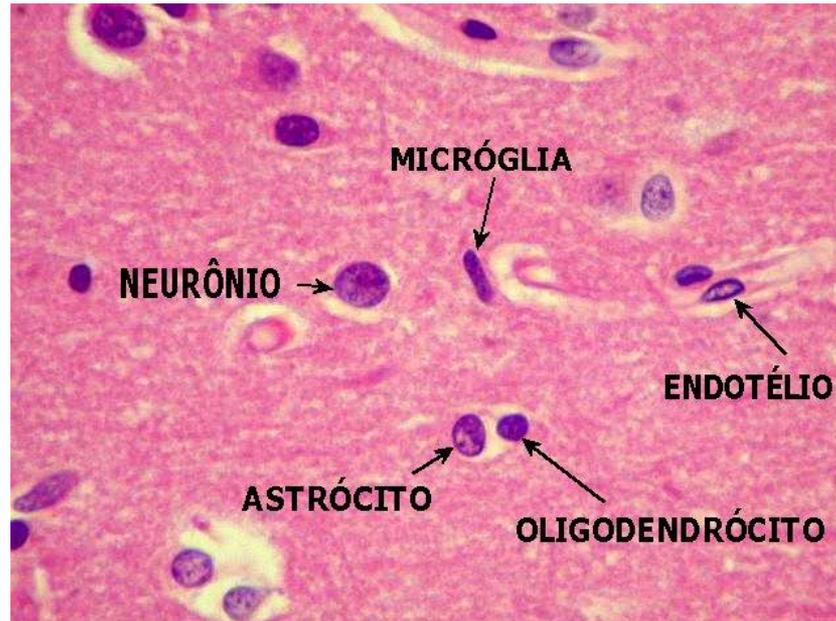
ASTRÓCITOS

Sustentação e nutrição dos neurônios



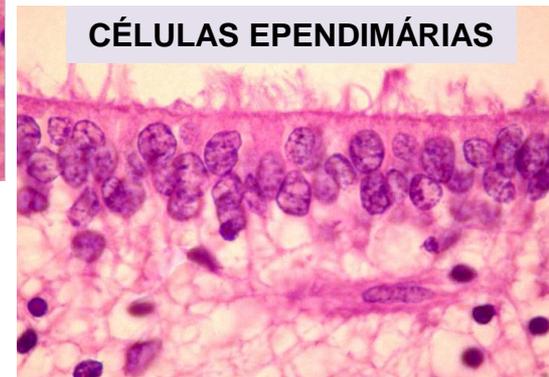
OLIGODENDRÓCITOS

Envolve os axônios dos neurônios de maneira a isolá-los do microambiente do tecido nervoso central



MICROGLIA

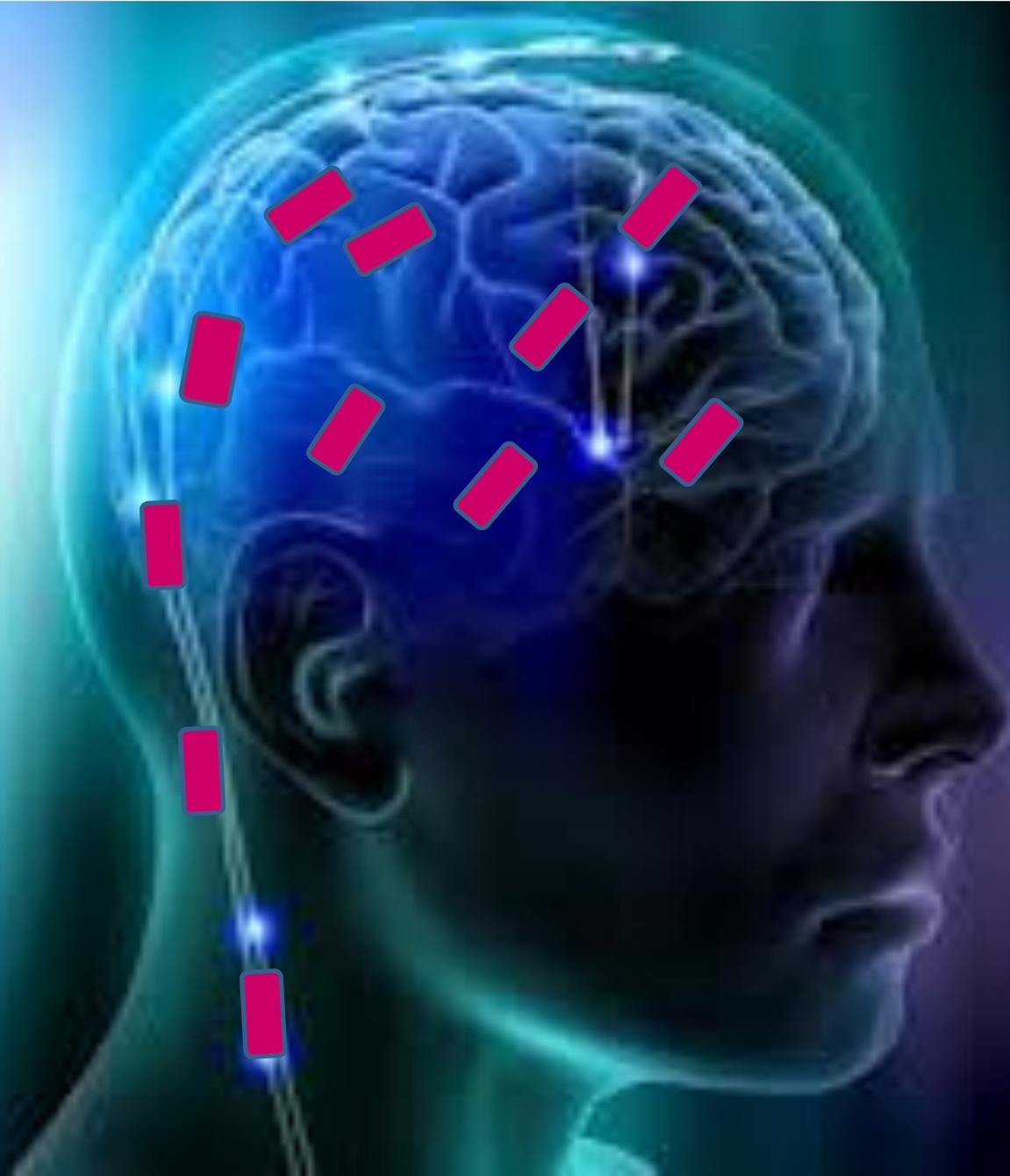
Agem como macrófagos participando da defesa do tecido nervoso



CÉLULAS EPENDIMÁRIAS

Revestem os ventrículos da região central do cérebro e do canal central da medula espinhal, por onde circula o líquido cefalorraquidiano

EIS QUE SURGE UM VÍRUS NO CAMINHO...



RAIVA: FORMAS DE TRANSMISSÃO

Mordedura, lambedura ou arranhadura : a mais comum, pelo depósito da saliva contendo vírus rábico em pele ou mucosa.

Via respiratória: pela inalação de aerossóis, contendo o vírus da raiva, provavelmente pela penetração pela mucosa da orofaringe ou das vias aéreas superiores.

Zoofilia: práticas sexuais com animais pela penetração do vírus pela pele e mucosa da região genital.

Inter-humana: na literatura científica há descrição de 2 casos na Etiópia: mãe após mordedura, em dedo da mão, do filho que faleceu de raiva; e filho que beijou na boca da sua mãe repetidas vezes, quando esta já estava com raiva.

Transplante de órgãos: transplante de córnea e outros órgãos (pulmões, rins e fígado).

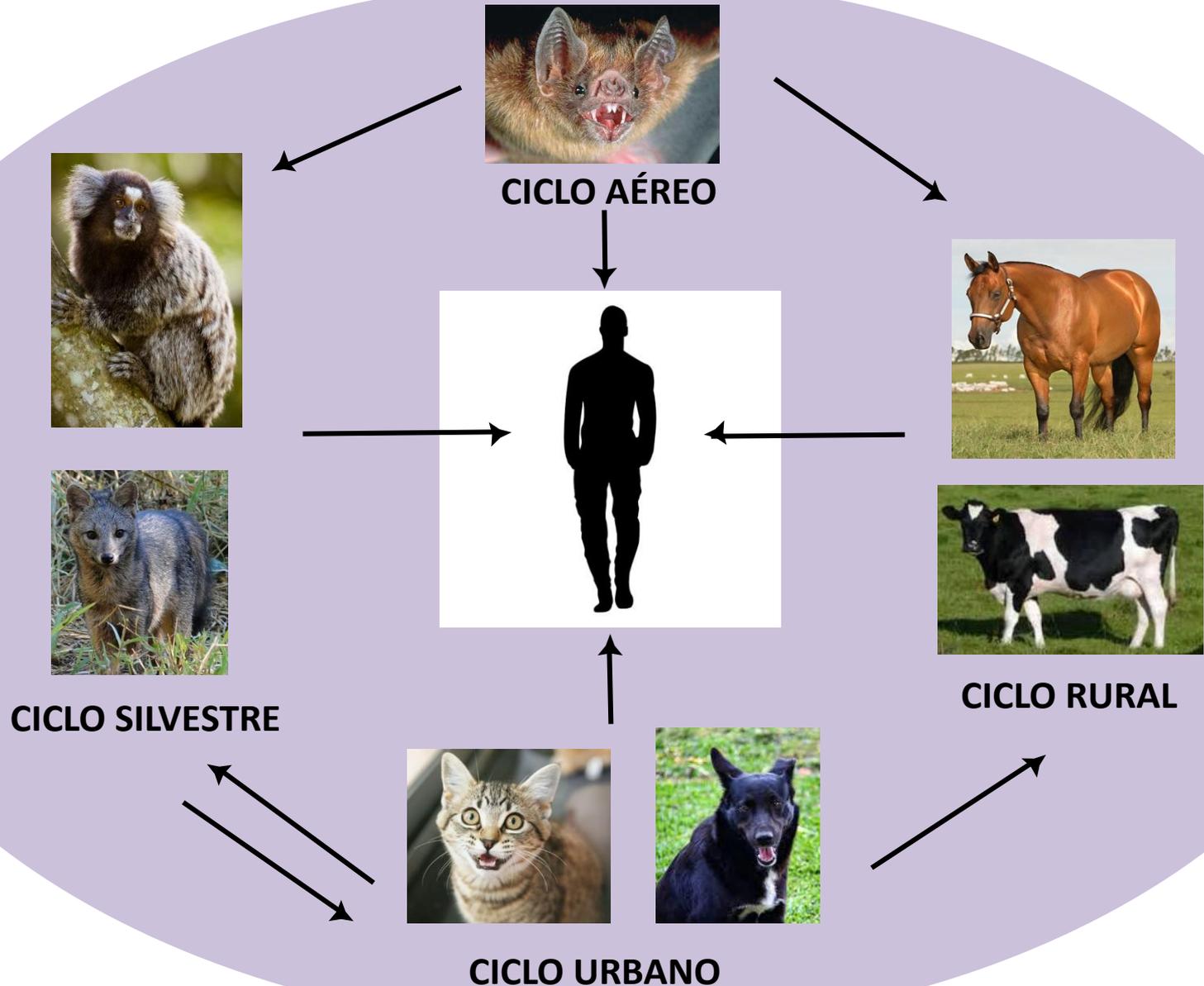
Via transplacentária e transmamária: descrita em bovinos e morcegos.

Ingestão de carne, leite e outros derivados.

Manipulação de carcaças.

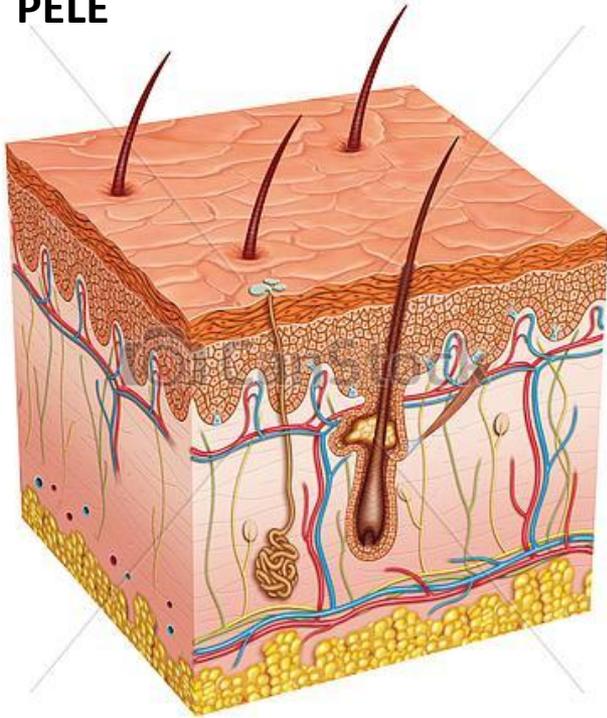


RAIVA: CICLOS DE TRANSMISSÃO

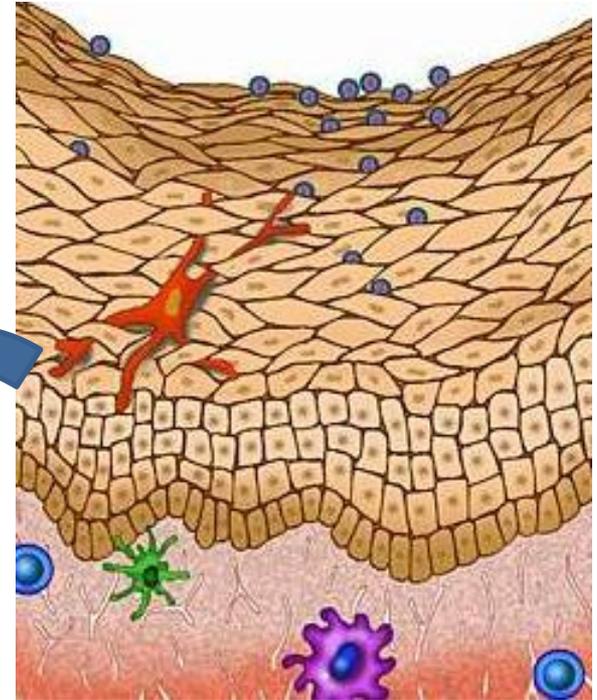


VÍRUS DA RAIVA: BARREIRAS À ULTRAPASSAR

PELE



CÉLULAS DE LANGERHANS

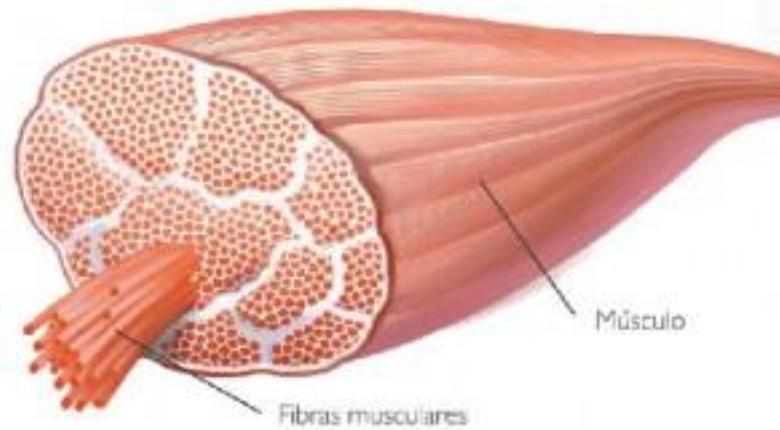


migração, reconhecimento do patógeno, internalização, processamento e ligação às células T

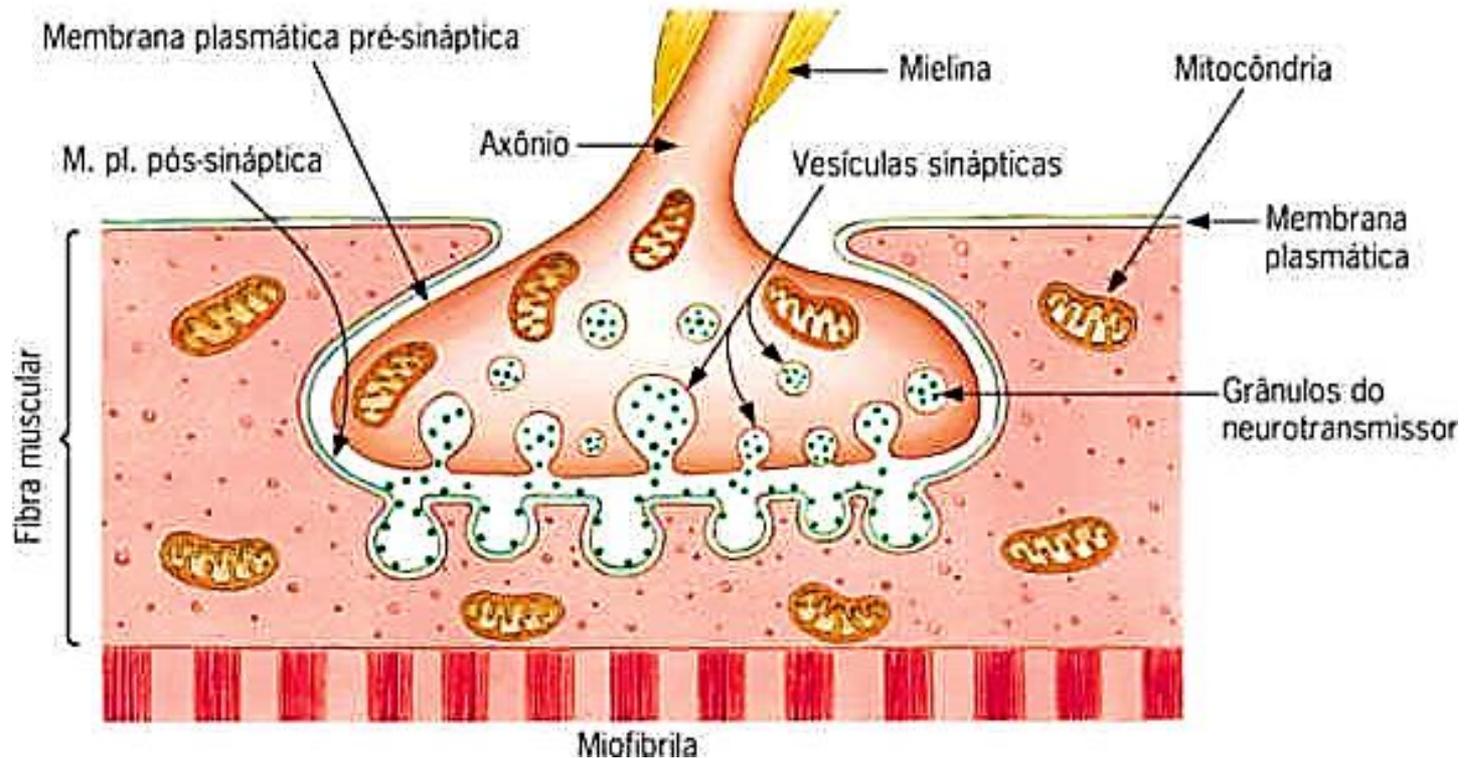
RAIVA: BARREIRAS À ULTRAPASSAR

MÚSCULO

Receptor
Acetilcolina
nicotínico
(nAChR)



Baixa replicação
no Músculo



RECEPTOR ACETILCOLINA NICOTÍNICO (nAChR)

- ♦ Receptor Acetilcolina nicotínico (nAChR): media e modula a comunicação inter-neuronal no Sistema Nervoso Central e Periférico.
- ♦ Vários tipos presentes no Sistema Nervoso, somente uma forma contendo o produto do gene 1α é expresso no músculo.
- ♦ Cerca de 99% das moléculas de nAChR produzidas por um músculo adulto são acumuladas na membrana pós-sináptica das junções neuromusculares.
- ♦ A primeira observação sugerindo que a entrada do vírus da raiva era mediada por nAChR foi realizada por *Lentz et al. (1982)*, que apresentou a ligação do vírus da raiva na localização do nAChR em diafragma de camundongos.
- ♦ A proteína G do vírus da raiva se liga ao nAChR muscular presente nas junções neuromusculares.

OUTROS POSSÍVEIS RECEPTORES PARA O VÍRUS DA RAIVA

♦ **Molécula de adesão da célula neuronal (NCAM):** é uma glicoproteína da superfamília de imunoglobulinas, presente em membranas pré e pós sinápticas, em células de Schwann e, em junções neuromusculares. Tem um papel na neuroinvasão do vírus da raiva, não sendo essencial, mas contribuindo na progressão mais rápida da infecção.

♦ **Receptor de neurotrofina p75 (p75NTR):** também chamado de receptor de baixa afinidade para o fator de crescimento do nervo (NGF), é uma proteína transmembrânica da família do receptor do fator de necrose tumoral. Tem papel na morte celular, transmissão sináptica e no alongamento axonal.

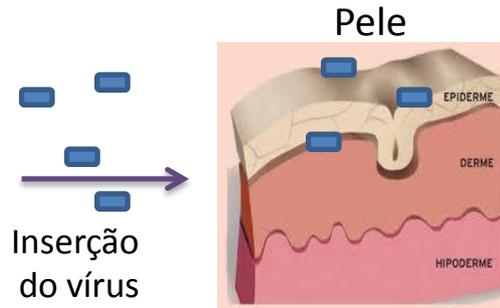
- Facilita o transporte axonal retrógrado do RABV, contudo, foi observado a restrição do p75NTR para certas variantes do vírus da raiva.

PATOGENIA DA RAIVA

Animal Infectado



Vírus da raiva se liga ao receptor pela glicoproteína



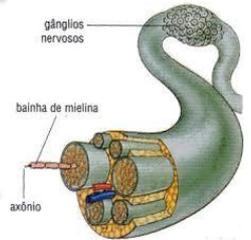
Baixa replicação no Músculo

Receptor Acetilcolina nicotínico

- molécula de adesão da célula neuronal (NCAM)
- neuroreceptor p75 (p75NTR)

Período de incubação

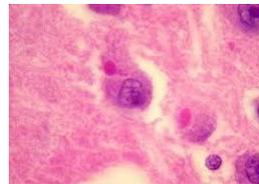
SNP



Transporte axonal retrógrado (50 a 100mm/dia)

Trajeto centrípeto

SNC



Replicação Maciça



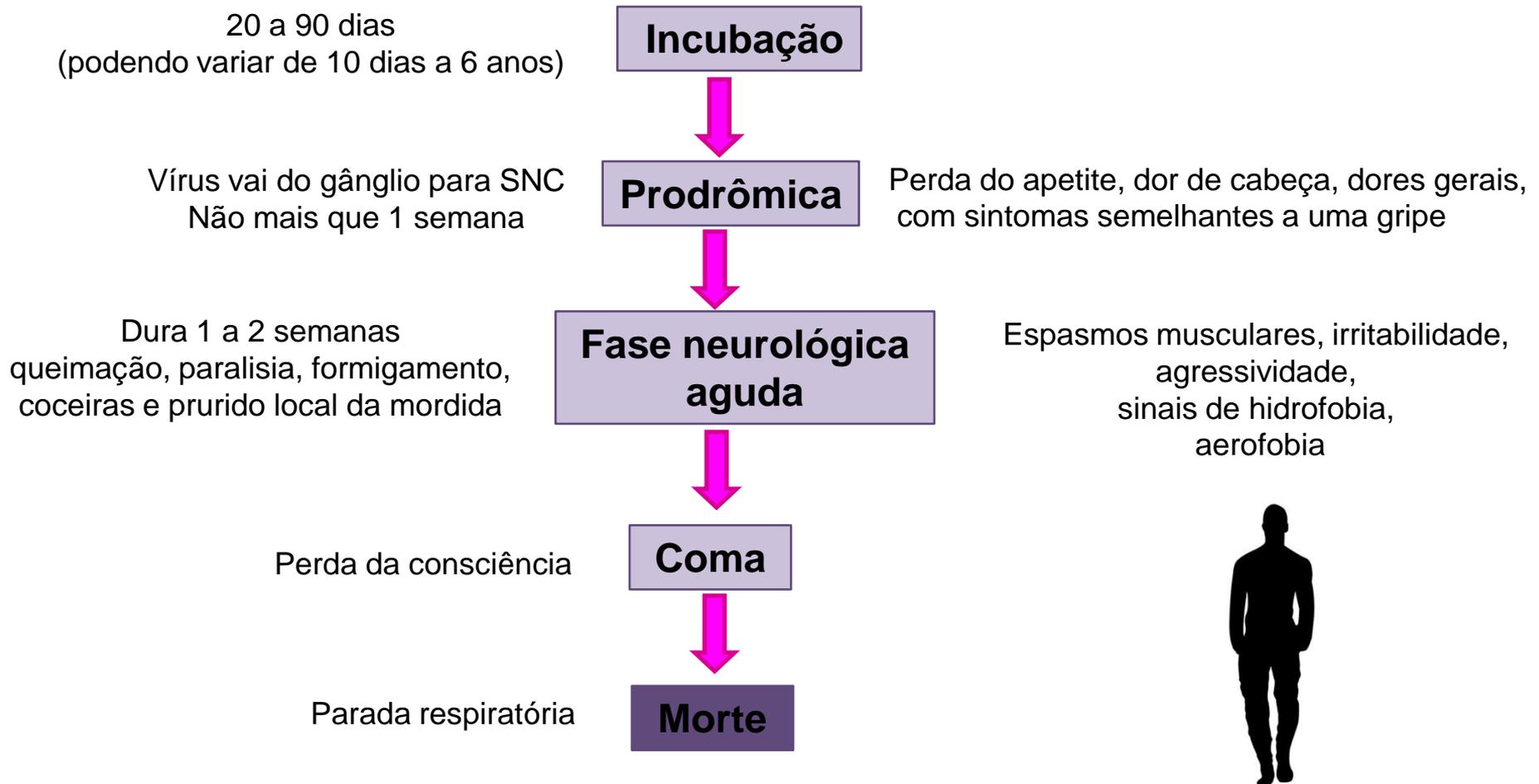
Disseminação Centrífuga Sistema Nervoso Parassimpático

Essencial para transmissão do vírus aos hospedeiros naturais



RAIVA HUMANA: FORMAS CLÍNICAS E SINTOMAS DA INFECÇÃO

- ♦ Devido à diversidade clínica, durante a fase neurológica aguda, a raiva pode ser distinguida como: clássica (em suas formas encefalítica ou furiosa e paralítica ou muda) ou não clássica.



RAIVA: PERÍODO DE INCUBAÇÃO E SINTOMATOLOGIA EM DIFERENTES ESPÉCIES



Período de incubação: 15 dias a 2 meses

Sintomas: agressividade, salivação excessiva, latido rouco, tremores musculares e ranger de dentes, falta de coordenação motora, andar cambaleante e contrações involuntárias

Morte: em média 5 a 7 dias após início dos sintomas



Período de incubação: 15 dias a 2 meses

Sintomas: mudanças sutis de comportamento, seguido de hiperatividade e possíveis convulsões. A fase paralítica é terminal, apesar de ser provável que os animais morram no segundo estágio, das convulsões

Morte: em média 5 a 7 dias após início dos sintomas



Período de incubação: 30 a 90 dias

Sintomas: reclusão, apatia, perda do apetite, aumento da sensibilidade e prurido na região da mordedura, mugido constante, tenesmo, hiperexcitabilidade, aumento da libido, salivação abundante e viscosa, dificuldade para engolir (o que sugere que o animal esteja engasgado) apresenta movimentos desordenados da cabeça, tremores musculares e ranger de dentes, midríase com ausência de reflexos pupilar, incoordenação motora, andar cambaleante e contrações involuntárias

Morte: entre 3 a 6 dias após os inícios dos sinais, podendo prolongar-se, em alguns casos, até 10 dias



Período de incubação: 10 dias a 2 meses

Sintomas: paralisia inicial pode envolver as pernas, asas, pescoço, pálpebras, cabeça ou maxilar evoluindo para todo corpo

Morte: poucos dias após início dos sintomas

RAIVA: FATORES DETERMINANTES DA VARIABILIDADE DO PERÍODO DE INCUBAÇÃO

A variabilidade do período de incubação depende de fatores como:

- ♦ capacidade invasiva da mordida do animal infectado
- ♦ patogenicidade da variante viral
- ♦ carga viral do inoculo
- ♦ ponto de inoculação (quanto mais próximo do SNC, menor será o período de incubação)
- ♦ idade do hospedeiro (crianças e idosos apresentam sistema imune diferenciado)
- ♦ imunocompetência do hospedeiro



RAIVA: EXISTE TRATAMENTO?



PRIMEIRO CASO DE CURA DESCRITO - 2004



Protocolo de “Milwaukee”, de autoria do médico Rodney Willoughby, do Hospital Infantil de Wisconsin, nos Estados Unidos

Willoughby et al., N Engl J Med 352:2508-14, 2005.

Milwaukee é a cidade mais populosa do estado do Wisconsin, nos Estados Unidos

PRIMEIRO CASO DE CURA NO BRASIL – RECIFE 2008

14/11/08 - 08h35 - Atualizado em 14/11/08 - 09h36

AE AGENCIA
ESTADO

País tem primeiro caso de cura da raiva humana

Jovem de 15 anos contraiu doença após mordida de morcego.
Ele passou por tratamento experimental dos EUA e aplicado no Recife.

Da Agência Estado

Tamanho
da letra

A- A+



Marciano Menezes

RAIVA: TRATAMENTO

PROTOCOLO DE MILWAUKEE



**Indução do coma
(agentes anti-excitatórios)**

**Terapia específica
(anti-virais)**

- Ketamine: anestésico, com efeito hipnótico e características analgésicas
- Midazolam: hipnótico, ansiolítico, anticonvulsivante
- Fenobarbitúricos: drogas antiepiléticas (tratamento de convulsões)

- Ribavirina
- Amantadina: antiparkinsoniano, estimulante da liberação da dopamina

ATIVAÇÃO DA RESPOSTA IMUNE: QUEM PODERÁ NOS SALVAR?

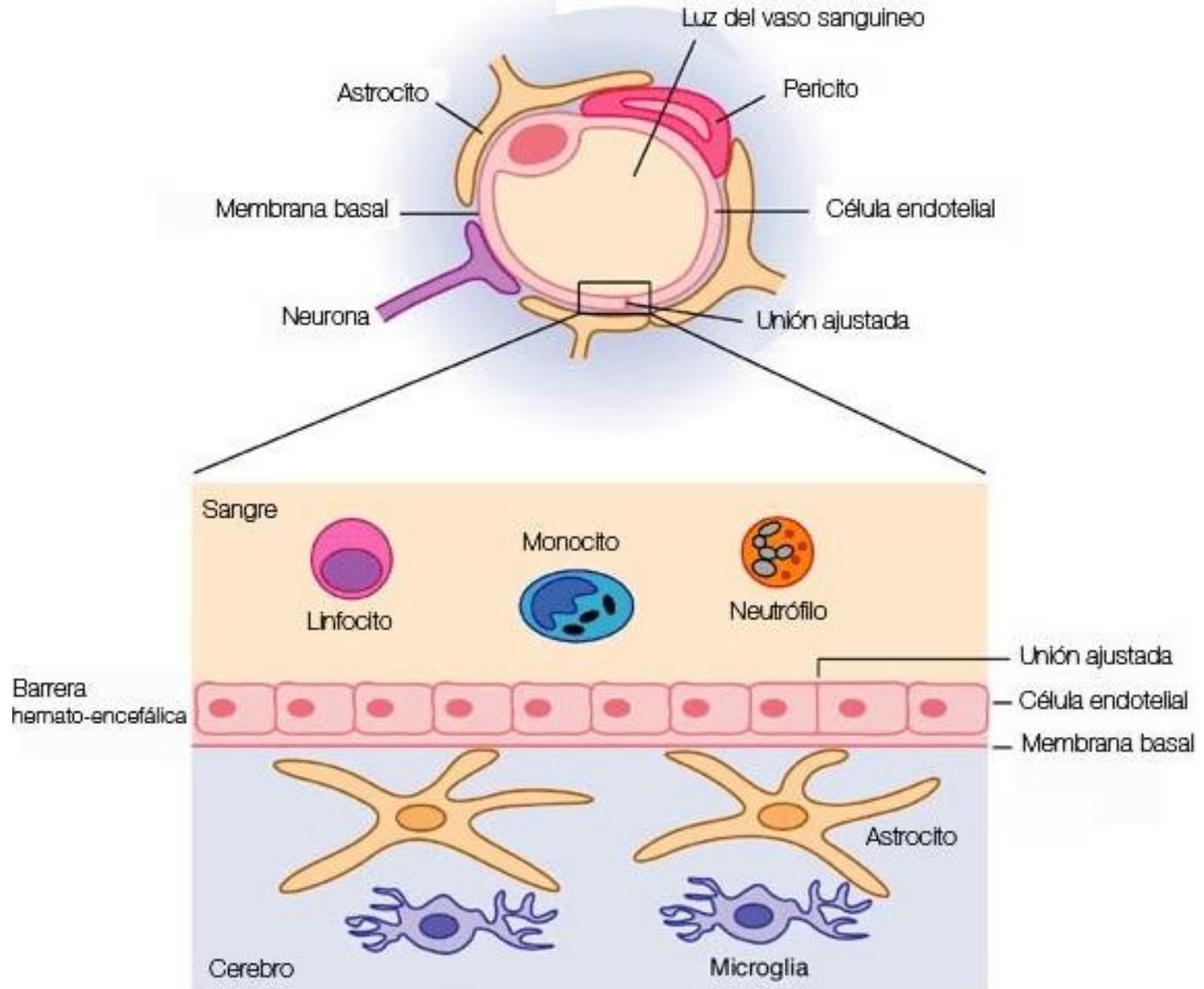


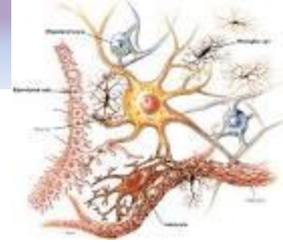
IMUNOPRIVILÉGIO CEREBRAL



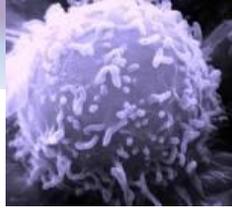
- ♦ O cérebro possui características peculiares que distinguem a sua resposta inflamatória da de outros órgãos, o chamado “imunoprivilégio cerebral.”
- ♦ A barreira hematoencefálica (BBB, do inglês, *blood brain barrier*) apresenta junções estreitas que limita a penetração de anticorpos, mediadores e células imunes da circulação.
- ♦ A BBB é formada pela presença das junções endoteliais que controlam a abertura e fechamento coordenado das junções célula-célula. Estas junções são compostas de diferentes complexos multiprotéicos, como as junções estreitas (claudinas, ocludinas e moléculas de adesão) e as junções endoteliais aderentes (caderinas e cateninas) que são os principais reguladores da permeabilidade celular. Astrócitos, células endoteliais e pericitos tem papel fundamental na manutenção da barreira.
(Rojas h et al., Rev Bras Ter Intensiva. 2011; 23(2):222-227)
- ♦ Ausência de vasos linfáticos no parênquima cerebral para direcionar antígenos e células imunes do SNC para nódulos linfáticos na periferia.
- ♦ Escassez de células dendríticas (meninge e plexo coróide) no parênquima cerebral (**necessidade de maiores estudos**) e os baixos níveis da expressão do complexo principal de histocompatibilidade (MHC).

BARREIRA HEMATOENCEFÁLICA





- ◆ No SNC o vírus da raiva se depara com os macrófagos residentes, denominados de microglia.
- ◆ A microglia apresenta várias funções no SNC, dentre elas, a de APCs, sendo mais eficiente nesse papel do que os astrócitos.
- ◆ Outra função importante da microglia é a produção de TNF- α e óxido nítrico (NO, do inglês “nitric oxide”) na tentativa de combater a infecção (efeito microbicida).
- ◆ O ambiente citocínico promove a quebra da BBB e permite que células imunes da periferia entrem no SNC.



♦ Células NK (*Natural Killer*) também desempenham importante função na resposta imune inata contra raiva, exercendo um papel protetor, porém, alguns estudos experimentais sugerem que o vírus da raiva pode levar à apoptose dessas células.

Baloul and Lafon, Biochemie. 85 (8):777-88, 2003.

♦ As células gliais e os neurônios expressam TLR (*toll-like receptor*), incluindo TLR3 e, após a infecção dos neurônios pelo vírus da raiva, essas células podem montar uma resposta imune antiviral clássica, incluindo IFN- β e citocinas inflamatórias.

Ménager P et al., Negri Bodies. PLoS Pathog 5(2): e1000315, 2009.

RAIVA: RESPOSTA IMUNE ADAPTATIVA



- ♦ A resposta imune frente ao vírus da raiva envolve um infiltrado inflamatório de células mononucleares, composto principalmente por linfócitos.
- ♦ Esses linfócitos migram da periferia para o SNC, atraídos pelo estímulo de citocinas pró-inflamatórias, tais como, IL-1, TNF- α e IL-6, além das quimiocinas CCL-5, CXCL-10.
- ♦ Células T e B podem ser detectadas no SNC logo após o 3º dia de infecção.
- ♦ Contudo, a alta expressão das citocinas proinflamatórias pode levar ao dano neuronal e prejuízo ao tecido de suporte dos mesmos, desempenhando um papel deletério ao invés de protetor na infecção pelo vírus da raiva.



- ♦ Estudos em modelos experimentais demonstram o papel protetor dos linfócitos B como fonte de anticorpos neutralizantes para o vírus da raiva, possibilitando a sobrevivência do indivíduo.
- ♦ A glicoproteína G do vírus é a principal indutora de anticorpos neutralizantes específicos.
- ♦ Anticorpos anti-proteína N podem ser encontrados no soro humano, mas não tem a capacidade de neutralizar o vírus.
- ♦ A BBB íntegra é impermeável para a maioria dos anticorpos. Quando há quebra da BBB, os anticorpos neutralizantes podem exercer seu papel protetor nos locais de proliferação viral, contribuindo para eliminação do vírus da raiva do SNC.

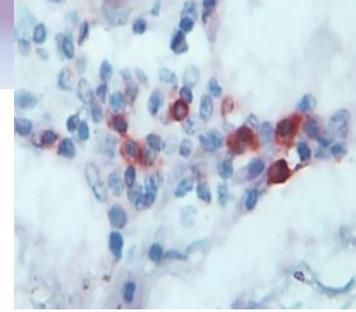


- ♦ Os linfócitos TCD4 são as principais células na resposta imune contra o vírus da raiva, exercendo papel protetor mais que os linfócitos TCD8 citotóxicos.
- ♦ Induz a produção de citocinas importantes no controle da infecção (IFN- γ , IL-2, IL-14).
- ♦ Interage com linfócito B através de estímulos de quimiocinas, colaborando na produção de anticorpos específicos para o vírus.



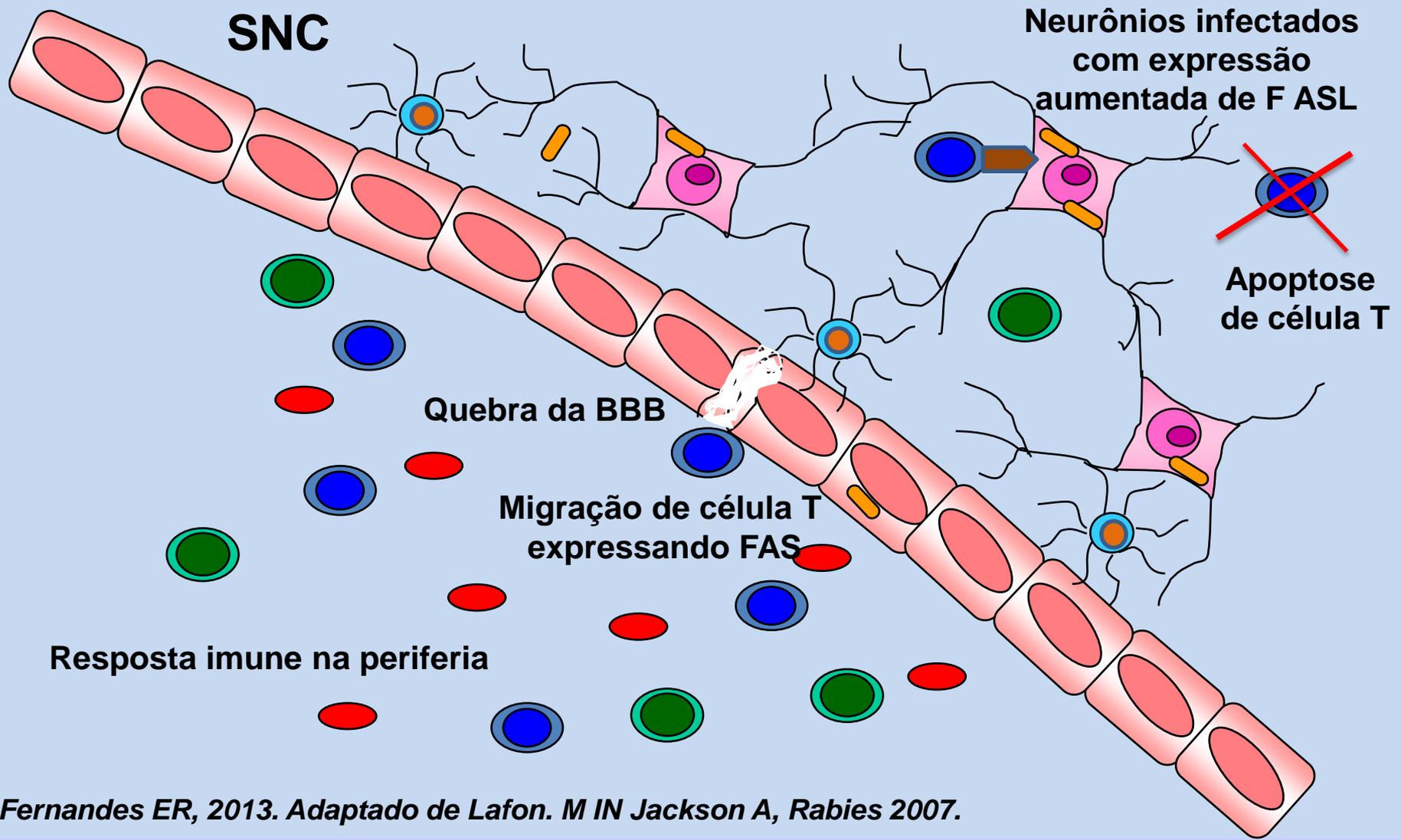
- ◆ Os linfócitos TCD8 citotóxicos sozinhos não são suficientes para conferir proteção contra infecção.
- ◆ Sua ativação induz uma reação patológica a qual é clinicamente associado com paralisia.
- ◆ As proteínas G, N e P do vírus são indutores de linfócitos T CD8 citotóxicos.

RAIVA: APOPTOSE DE CÉLULAS



Apoptose é o evento de morte celular, geneticamente programada, que envolve uma série de alterações morfológicas no citoplasma e núcleo, levando à inativação e fragmentação da célula apoptótica ao final de seu ciclo celular, sem extravasar conteúdo tóxico para o meio extracelular, portanto, sem causar dano tecidual, o que resultaria em necrose e levaria à **reação inflamatória**

APOPTOSE DE CÉLULAS T

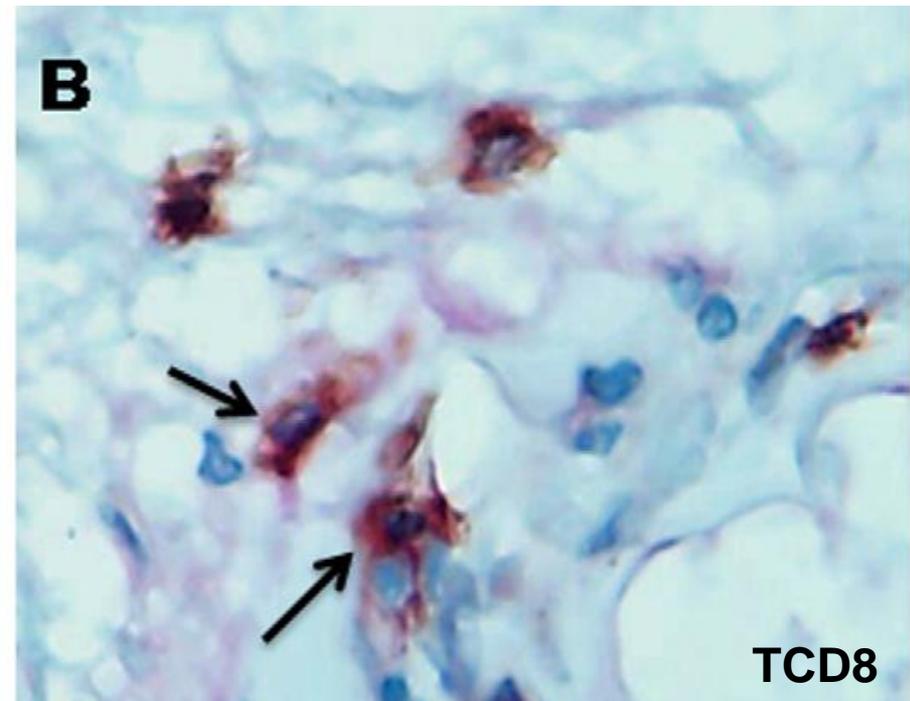
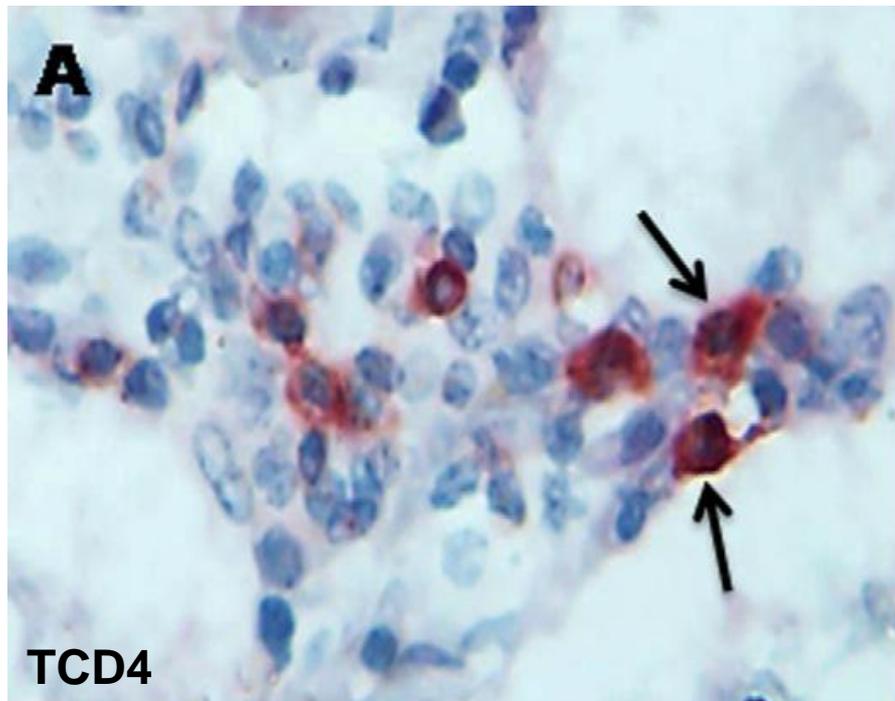


RAIVA: APOPTOSE DE LINFÓCITOS TCD4 E TCD8

Virus Research 156 (2011) 121–126

In situ apoptosis of adaptive immune cells and the cellular escape of rabies virus in CNS from patients with human rabies transmitted by *Desmodus rotundus*

Elaine Raniero Fernandes, Heitor Franco de Andrade Jr., Carmen Lúcia Penteado Lancellotti, Juarez Antônio Simões Quaresma, Samia Demachki, Pedro Fernando da Costa Vasconcelos, Maria Irma Seixas Duarte



RAIVA: MECANISMOS DE ESCAPE VIRAL



- ◆ Proteína P do vírus interfere diretamente na via de sinalização JAK-STAT, prejudicando a produção de interferons, que são as principais citocinas antivirais e que caracterizam o padrão de resposta imune tipo Th1.

Wang et al., Journal of Virology. 12554–12565, 2005; Brozozka et al., J Virol. (12): 7673-81, 2005.

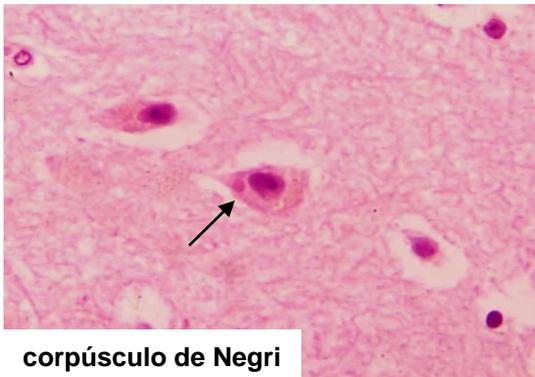
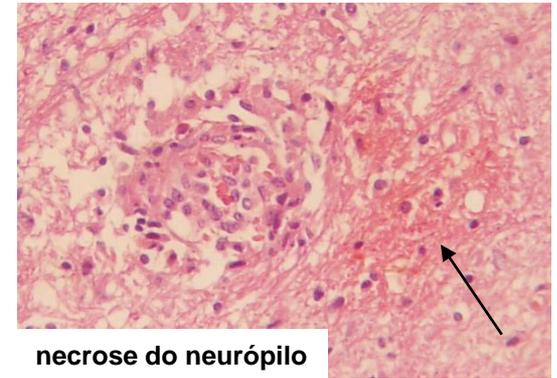
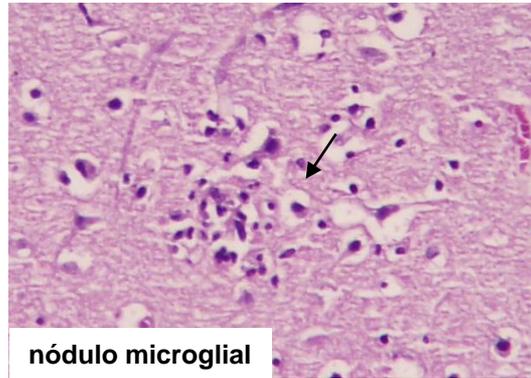
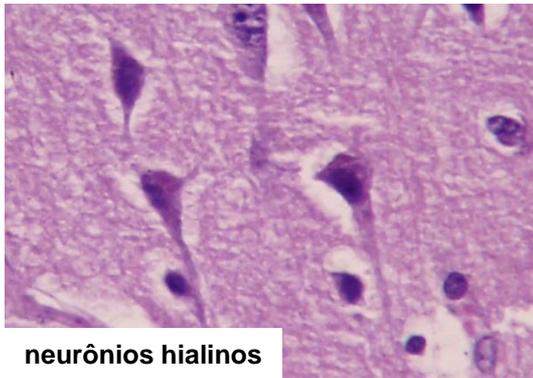
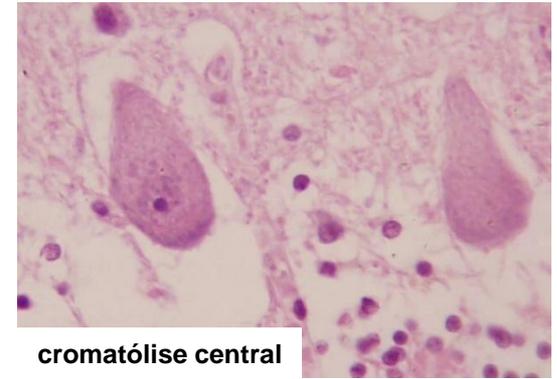
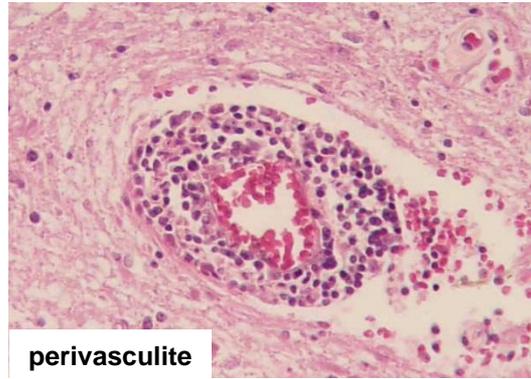
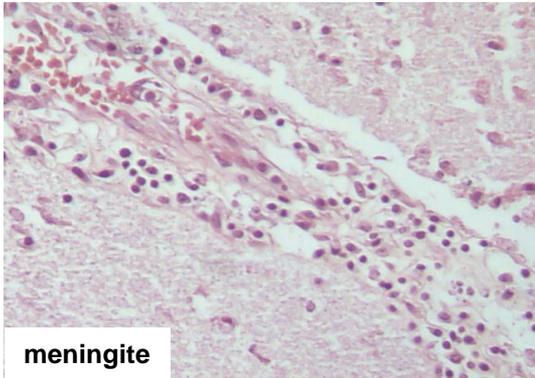
- ◆ Em neurônios humanos infectados com vírus da raiva (linhagem mais virulenta) há uma expressão aumentada de HLA-G (molécula de MHC-I não clássica) e isso induz à imunotolerância, desta forma, o neurônio infectado não será reconhecido pelo sistema imune.

Lafon et al., Journal of Virology, 15226–15237, 2005.

RAIVA: ALTERAÇÕES HISTOPATOLÓGICAS NO SNC

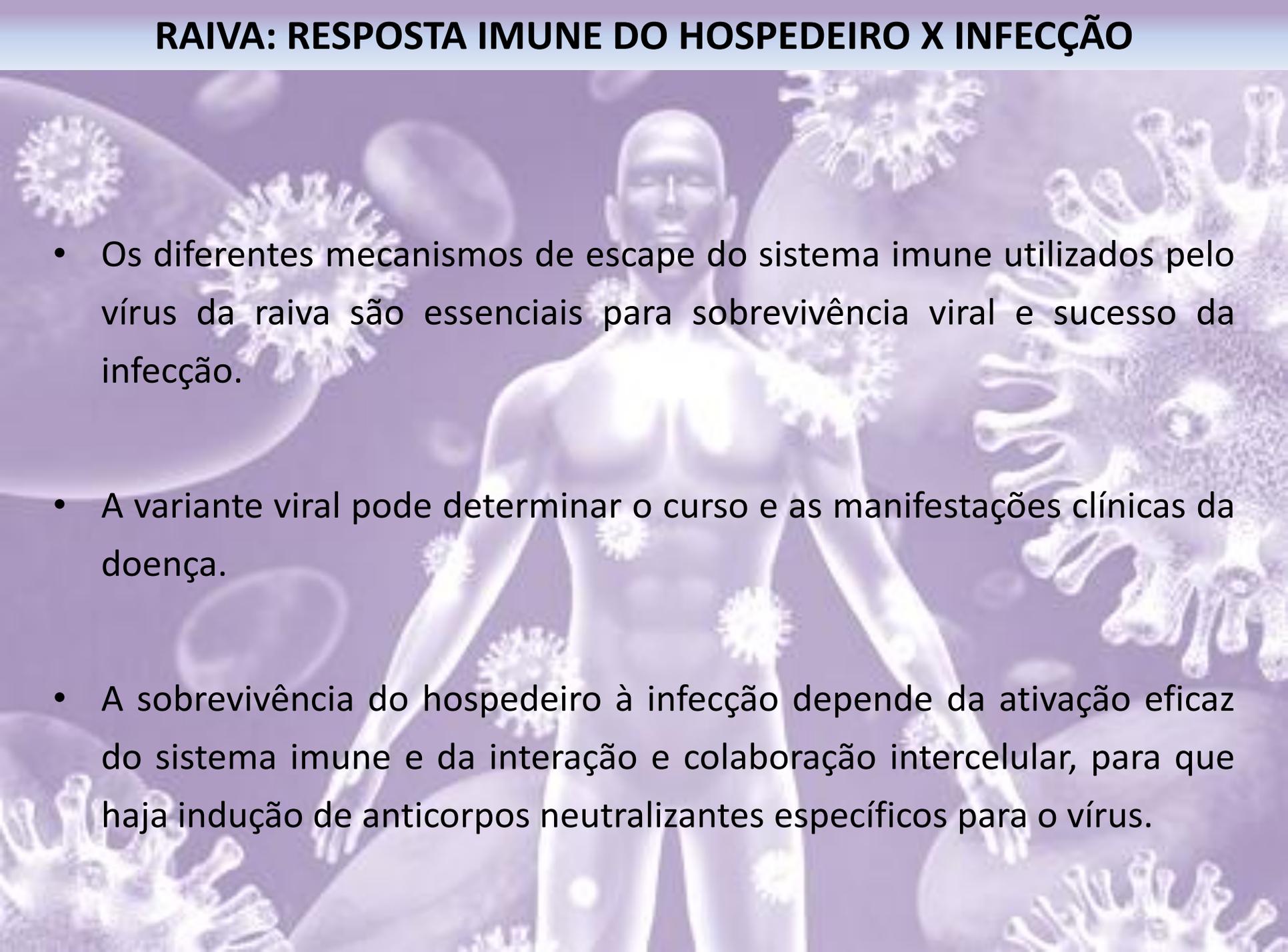


RAIVA: ALTERAÇÕES HISTOPATOLÓGICAS



Raiva: Meningoencefalomielite acometendo os microambientes perivascular, intraparenquimatoso, bem como, meningeal

RAIVA: RESPOSTA IMUNE DO HOSPEDEIRO X INFECÇÃO

- Os diferentes mecanismos de escape do sistema imune utilizados pelo vírus da raiva são essenciais para sobrevivência viral e sucesso da infecção.
 - A variante viral pode determinar o curso e as manifestações clínicas da doença.
 - A sobrevivência do hospedeiro à infecção depende da ativação eficaz do sistema imune e da interação e colaboração intercelular, para que haja indução de anticorpos neutralizantes específicos para o vírus.
- 
- A 3D rendered human figure is shown from the waist up, with several glowing, spiky virus particles attached to its chest, arms, and legs. The background is a light purple color with various other virus particles and cells floating around, creating a scientific and medical atmosphere.

OBRIGADA PELA ATENÇÃO!



Elaine Raniero Fernandes
Pesquisadora Científica do Instituto Pasteur
Área de Imunologia (Laboratórios de Sorologia e Imuno-histoquímica)
e-mail de contato: erfernandes@pasteur.saude.sp.gov.br