

BIOLOGÍA DE LOS VIRUS



Silvia V. Nates

Jorge V. Pavan

1era Edición 2019. Edición digital



Silvia V. Nates

Doctora en Ciencias Químicas. Profesora Titular del Instituto de Virología "Dr. JM Vanella" de la Facultad de Ciencias Médicas de la Universidad Nacional de Córdoba. Directora del Instituto de Virología "Dr. JM Vanella" de la Facultad de Ciencias Médicas de la Universidad Nacional de Córdoba. Jefa del Laboratorio de Sarampión y Gastroenteritis del Instituto de Virología "Dr. JM Vanella" de la Facultad de Ciencias Médicas de la Universidad Nacional de Córdoba. Argentina. Directora de la Maestría en Investigación en Microbiología con orientación en Salud Humana RHCD 1511/17, FCM, UNC. Acreditada por CONEAU con Categoría A por seis años (RESFC-2018-266-APN-CONEAU#ME).

Jorge V Pavan

Doctor en Medicina y Cirugía. Profesor Titular Plenario de la Cátedra de Bacteriología y Virología Médicas. Subdirector del Instituto de Virología "Dr. JM Vanella" de la Facultad de Ciencias Médicas de la Universidad Nacional de Córdoba. Jefe del Laboratorio de Virus Linfotrópicos Humanos del Instituto de Virología "Dr. JM Vanella" de la Facultad de Ciencias Médicas de la Universidad Nacional de Córdoba. Argentina. Director de la Maestría en Investigación en Microbiología con orientación en Salud Humana RHCD 1511/17, FCM, UNC. Acreditada por CONEAU con Categoría A por seis años (RESFC-2018-266-APN-CONEAU#ME).

PRÓLOGO

En el diseño de este libro hemos puesto una particular dedicación en lograr un instrumento didáctico que le permita lector disfrutar y entusiasmarse con la virología. Para esto reconstruimos acontecimientos vividos por quienes escribieron su página en historia de la microbiología, intentando transmitir la fuerza de la creatividad y el análisis crítico, elementos que consideramos indispensables para la construcción del conocimiento.

Cada tema fue desarrollado según los mejores criterios de nuestra experiencia como docentes. Es decir, cada capítulo se encuentra en las aulas, en el murmullo de los alumnos, en sus miradas y en sus silencios. Es aquí en donde hemos buscado a diario el camino adecuado para el abordaje de cada tema en particular. Fue tan así, que a menudo luego de realizar una actividad docente escribíamos y corregíamos el capítulo correspondiente. De allí que el texto haya sido escrito y corregido en innumerables oportunidades, durante varios años de trabajo. Pusimos especial atención en los títulos, de modo que cada uno albergue en muy pocas palabras un concepto importante y anticipe el posterior desarrollo, de modo similar a los titulares de un diario. El lector encontrará en la unión de los títulos que aparecen al inicio de cada capítulo, la síntesis correspondiente a la unidad temática.

Hemos invertido un esfuerzo considerable en las ilustraciones, a fin de otorgarles una dinámica que resalte en la gráfica los conceptos importantes. De este modo dibujamos todas las ilustraciones trazo a trazo, en la búsqueda de la calidad conceptual y la simpleza del diseño. Esta simpleza fue la filosofía de trabajo en "construyendo un virus", "construyendo una inmunoglobulina", "construyendo una neutralización" entre otras; donde lector comienza con una estructura simple que se va "construyendo" y complejizando a medida que transcurre el relato. Este comienzo por lo simple es reflejado en todos los capítulos, y a medida que el estudiante avanza en su lectura se pone en movimiento una dinámica red de conceptos y relaciones.

Este libro fue diseñado de modo especial para los estudiantes del área de las ciencias de la salud. Creemos además, que la complejidad que al final alcanza su lectura lo hace también de utilidad para el profesional interesado en la virología.

Finalmente, en concordancia con nuestra ideología de la educación en la Universidad Nacional de Córdoba, este libro se difunde de modo gratuito, y significa también un regalo para quienes desean compartir este conocimiento.



Agradecemos al Dr Leonardo Ferreyra la tarea y ayuda en la edición de este libro.

Los autores

Acuarelas Giorgio/19

ISBN 978-987-86-0477-0



ÍNDICE

CAPÍTULO 1

Los virus, organizaciones biológicas ubicadas entre la vida y lo inerte.....6

CAPÍTULO 2

Ecología de las infecciones virales: interacción agente-hospedro-ambiente.....15

CAPÍTULO 3

La replicación viral.....21

CAPÍTULO 4

Patogénesis de las infecciones virales: una carrera de postas.....33

CAPÍTULO 5

Biología de la respuesta inmne.....46

CAPÍTULO 6

El sistema inmune en movimiento.....66

CAPÍTULO 7

El laboratorio, un espacio para los postulados de Koch.....74

CAPÍTULO 8

Persistencia viral, limitación de la infección, enfermedad inmune: no “todos los caminos conducen a Roma”.....90

CAPÍTULO 9

La terrible fiebre de lassa, una historia desencadenada por los virus.....97

CAPÍTULO 10

Virus oncógenos humanos.....114

Bibliografía.....121

CAPÍTULO 1

LOS VIRUS, ORGANIZACIONES BIOLÓGICAS UBICADAS ENTRE LA VIDA Y LO INERTE

La virología, una ciencia que se construyó entre continuidades y rupturas en el pensamiento científico

Los virus, organizaciones biológicas que habitan un espacio incierto entre lo vivo y lo inerte

La estructura viral responde a una geometría biológica

Los virus son macromoléculas muy simples

Construyendo un virus envuelto

Imágenes de los virus

Una ley pone orden a los virus

Taxonomía viral humana

La virología, una ciencia que se construyó entre continuidades y rupturas en el pensamiento científico

La virología es una ciencia que se construyó entre continuidades y rupturas del pensamiento científico, hilvanando en cada etapa a veces concepciones nuevas desde las viejas estructuras del conocimiento y otras formulando ideas que rompían con los pensamientos científicos tradicionales. Quizás la primera prueba documentada de una infección viral, consiste en un bajorrelieve encontrado en la ciudad egipcia de Menfis (3700 años AC), que muestra a un sacerdote del templo llamado Ruma con signos de parálisis poliomiélica.

Pero, ¿Cómo se hilvanaron las ideas que dieron origen a la virología? La virología como ciencia y su desarrollo se sustentaron en todo un recorrido histórico previo de la microbiología. Debía la microbiología, y en particular la bacteriología, avanzar como ciencia para proveer las bases que sustentaran el inicio de la virología. Castiglioni respecto a los momentos del desarrollo de una ciencia decía “ cualquier estado presente no es en realidad, aún cuando pueda aparecer determinado y concluso en forma definitiva, sino una fase del desarrollo: cada uno de



https://commons.wikimedia.org/wiki/Main_Page

los hilos que constituyen la trama en el cuadro de nuestros conocimientos, conduce a orígenes lejanos y diversos y se anuda con otros hilos de diferente modo urdidos”.

La construcción de la ciencia de la virología se ajustó a los conceptos de Castiglioni, ya que su desarrollo se anudó a tres momentos históricos del conocimiento microbiológico, los que hilvanaron su recorrido. El primero de ellos fue la observación y

Capítulo 1

Los virus, organizaciones biológicas...

descripción de los microorganismos y se refirió a su sólo visualización. El segundo momento fue la demostración del origen de estas formas de vida, los microorganismos generaban microorganismos. El tercer momento fue la evidencia que los microorganismos producían enfermedades. Estos tres momentos fueron anudados, y entonces todo aquel “amasi-jo” histórico, permitió el nacimiento de la virología. En 1595, Zacharías Janssen de nacionalidad holandesa, fabricante de lentes desarrolla el primer microscopio simple, con una lente y compuesto con dos lentes.



Microscopio compuesto de Janssen
https://commons.wikimedia.org/wiki/Main_Page

Es difícil pensar que toda la microbiología se inició con la carta de un vendedor de telas, Antony van Leeuwenhoek, a la Real Sociedad de Londres enviada el 9 de octubre de 1676. Aquella carta marca el inicio del primer momento histórico: la observación de formas de vida microscópicas. Van Leeuwenhoek era un aficionado que como pasatiempos, tallaba lentes para un microscopio que había ideado. En aquella carta comunicaba al mundo científico la observación de “pequeños animales” en infusiones de pimienta. Todo comenzó un día en que Van Leeuwenhoek se preguntó ¿qué hace picante a la pimienta? ¿Serán unas agujitas en las partículas de pimienta?. Inició su investigación con pimienta seca, sin embargo como estornudaba con frecuencia, pensó en remojarla durante varias semanas. Sin querer, tropezó con un magnífico medio de cultivo para las formas de vida que habitaban la pimienta. Describió con dibujos la morfología y disposición de las bacterias, sin especular sobre su origen o relación con enfermedad.

El segundo momento se inicia con Lázaro Spallanzani en 1750, un italiano que continuó los estudios sobre los animalitos descubiertos por Van Leeuwen-

hoek. Él se preguntaba si estos animalitos nacían de modo espontáneo o debían forzosamente “tener padres”. Para demostrarlo perfeccionó los métodos de esterilización de los caldos enriquecidos con sangre de carnero, a través del cierre minucioso de botellas de cristal. La tarea de Lázaro Spallanzani ocurría en un escenario científico contradictorio, donde se oponían en filosofía y convicción a sus conceptos, los seguidores de la teoría de la generación espontánea propiciada por T Needham. Una treintena de años después de la muerte de L. Spallanzani aparecía en escena Luis Pasteur, quien entre numerosos aportes terminó con la idea de la generación espontánea y desarrolló técnicas de esterilización y de cultivo. Sus experimentos demostraron que los microorganismos bajo determinadas condiciones generan nuevos microorganismos.

Comienza entonces a anudarse el tercer momento histórico que curiosamente se hilvanó con los anteriores y rescató conceptos lejanos, de 300 años atrás. Es así que finalizando el siglo XIX, se reflataban las ideas que Girolamo Fracastoro, monje italiano, había aportado en 1546. Fracastoro en su obra “De contagione, Contagiosis Morbis et eorum Curatione” describe tres formas de transmitir las enfermedades infectocontagiosas: el contacto directo, a través de utensilios y a distancia. Fracastoro presiente ya en aquel entonces la existencia de partículas imperceptibles, “de seminaria o semillas de la enfermedad que se multiplican rápidamente y propagan el mal”. ¿Cómo habrá podido este monje “profetizar” en aquella época, un siglo antes de la visualización de las bacterias, los mecanismos de transmisión de las enfermedades infecciosas?.

En el año 1850, retomando estos conceptos geniales e intuitivos, Ignaz Semmelweis describe y controla un brote hospitalario de fiebre puerperal, suponiendo la existencia de partículas infecciosas. Todo comenzó porque en aquella época las parturientas tenían más posibilidades de morir cuando acudían al hospital que cuando parían en la calle. Preocupado viajó a Venecia. A su regreso, el profesor Kolletschka a quien admiraba mucho, había muerto luego que un alumno le cortara el dedo con un bisturí durante una autopsia. Relata Semmelweis: “ En esta condición de excitación, vi claramente que la enfermedad por la cual murió Kolletschka era idéntica a la que había causado la muerte de tantos centenares de pacientes de maternidad. Las pacientes de maternidad también habían contraído linfangitis,

peritonitis, pericarditis, pleuresía y meningitis y también se formaron metástasis en muchas de ellas. La excitante causa que había ocasionado la muerte del Profesor Kolletschka era conocida; era la herida producida por el bisturí de la autopsia, el cual se había contaminado por partículas de cadáveres. En Kolletschka, el factor causal específico eran las partículas de cadáveres que se introdujeron en su sistema vascular.

Debido a la orientación anatómica de la escuela médica vienesa, los profesores, asistentes y estudiantes tienen oportunidades frecuentes de tener contacto con cadáveres. Un lavado ordinario con jabón no es suficiente para quitar todas las partículas de cadáveres adheridas. Esto está probado por el olor cadavérico que se retiene en las manos durante más o menos tiempo. En el examen de pacientes de maternidad embarazadas o parturientas, las manos, contaminadas con partículas de cadáveres, entran en contacto con los genitales de estas mujeres, y se produce la posibilidad de la infección”.

Joseph Lister en 1867 continúa hilvanando los momentos históricos, cuando comienza con los primeros métodos de antisepsia en la cirugía, que disminuirían la mortalidad postoperatoria. Es Robert Koch sin embargo, quien une todas estas ideas en sus postulados, que permiten establecer y estudiar el origen infeccioso de muchas enfermedades. En aquellos tiempos el carbunco era una misteriosa enfermedad que tenía preocupado a los campesinos de Europa. Robert Koch comenzó a estudiar con su microscopio la sangre de ovejas y vacas muertas por carbunco. Un día observó entre los glóbulos rojos unos bastoncitos. Pero ¿Cómo demostrar que estos diminutos agentes podrían ser el origen de la enfermedad?. Pensó entonces que quizás inoculando aquel material a otras vacas y ovejas, podría encontrar una respuesta. Como no poseía dinero para adquirirlas, quizás los ratones, de menor costo, fueran de utilidad. Fue entonces que impregnó con la sangre de aquellos animales muertos astillitas de madera y mediante un corte inoculó a sus ratones. Al día siguiente el animal había muerto y el primer agente etiológico había sido descubierto. Robert Koch quizás no lo sabía, pero estaba escribiendo el protocolo para descubrir los agentes etiológicos de las enfermedades infecciosas y las pautas del diagnóstico microbiológico.

En aquel marco histórico, se solía utilizar la palabra “virus” (del latín *venenum*: veneno de, poción

amorosa; considerando su origen común con Venus: amor físico) para describir un microorganismo infeccioso vivo que producía enfermedad cuando era administrado en pequeñas cantidades o pociones. Así es que Luois Pasteur hacía referencia al virus del cólera de las gallinas, cuando en realidad hablaba de una bacteria. De hecho que fue un colega de Pasteur, Chamberland quien a fines del aquel mágico siglo diseñó los primeros filtros bacteriológicos, las llamadas “bujías de Chamberland”, que podían retener las bacterias. Este aporte fue de gran utilidad para el desarrollo de la virología como disciplina científica, pues permitía separar diferentes agentes según su tamaño. La primera demostración de la existencia de los virus animales fue publicada en 1898 por Friedrich Loeffler y P Frosch. Por un encargo del gobierno alemán estos hombres diseñaron en el marco de los postulados de Koch el primer experimento para la demostración de los agentes virales. Ellos demostraron que la fiebre aftosa en las vacas podía reproducirse “in vivo” desde el material proveniente de las vesículas del animal enfermo. Este material tenía dos características: la primera era que su actividad patogénica se mantenía aún a diluciones muy altas (semejante a toxinas bacterianas o venenos) y la segunda era atravesar los pequeños poros de las bujías de Chamberland, capaces de retener otros microorganismos conocidos. Inoculaban entonces el material en diferentes medios de cultivo intentando multiplicar el agente infeccioso. Pero ¿Cuál habrá sido el rostro de aquellos investigadores al observar que nada crecía en aquellos medios, lo que es más nada se visualizaba en el microscopio óptico!. El nuevo grupo de agentes fue denominado, en virtud de estas características, “virus filtrable”. A partir de este hecho se suceden múltiples investigaciones; en 1892 Ivanosky demuestra la naturaleza filtrable del virus del mosaico del tabaco y en la misma época Beijerinck, un holandés, lo descubre y reproduce en plantas.

El primer aislamiento de un virus que infecta humanos se produjo tiempo después, durante un brote de fiebre amarilla en Cuba. En 1902 en Quemados, aparecieron casos de una enfermedad no conocida entre familias que no habían estado en contacto. El comandante Walter Reed fue enviado por Washington a Cuba a fin de revelar el misterio de esta enfermedad. En sus primeros intentos no pudo aislar un microorganismo conocido. Sólo una mente genial podría haber relacionado la enfermedad en humanos

con la presencia artrópodos infectados. Este honor le correspondió a Carlos Finlay, quien le acercó a Walter Reed la idea que esta enfermedad era transmitida por un mosquito infectado. Primero en ellos y luego en voluntarios, repitieron los protocolos de Koch, intentando producir fiebre amarilla por la picadura experimental de mosquitos en humanos. Para ello obtuvo sangre de individuos enfermos con fiebre amarilla, que pasó por un filtro de porcelana y la inyectó a humanos, demostrando así la existencia de estos agentes “filtrables”.

Sólo el advenimiento de la microscopía electrónica en 1939, posibilitó la visualización de estos agentes infecciosos.



Fracastoro



Leeuwenhoek

Los virus, organizaciones biológicas que habitan un espacio incierto entre lo vivo y lo inerte

Un señor toma el tranvía después de comprar el diario y ponérselo bajo el brazo. Media hora más tarde desciende con el mismo diario bajo el brazo. Pero ya no es el mismo diario, ahora es un montón de hojas impresas que el señor abandona en un banco de plaza. Apenas queda solo en el banco, el montón de hojas impresas se convierte otra vez en diario, hasta que un muchacho lo ve, lo lee y lo deja convertido en un montón de hojas impresas. Apenas queda solo en el banco, el montón de hojas impresas se convierte otra vez en diario... Julio Cortázar, Historias de cronopios y de famas

Todas las formas de vida están caracterizadas por una estructura biológica particular, la que se repite en diferentes niveles de complejidad. El modelo unitario es la célula, que se repite en las más diferentes formas de vida. Este modelo biológico se internalizó en el pensamiento científico como una estructura paradigmática. Sin embargo, algunos iluminados de la ciencia, demostraron la existencia de otras formas

biológicas que no responden a los criterios celulares. Lo que es más, estas formas biológicas utilizan las vías metabólicas celulares para perpetuarse en la naturaleza. Estas “formas de vida” son estructuralmente simples y se asemejan más a un cromosoma que a cualquier otro microorganismo. Logran gestionar la energía celular para su único provecho; en esta interacción con la célula huésped algunos terminan destruyendo el espacio que habitan y otros, los más “astutos”, anclan su existencia a la vida del huésped. Así es que estas estructuras no responden a la definición de vida otorgada por la comunidad científica y para comprenderlas es necesario un cambio en el modelo de pensamiento. Son macromoléculas inertes en el medio extracelular y agentes activos dentro de una célula, donde desplazan al genoma celular en el comando del metabolismo. Estos son los virus, organizaciones biológicas que habitan un espacio incierto entre lo vivo y lo inerte. La característica general de todos los agentes infecciosos es su multiplicación, lo que les permite la perpetuación en la naturaleza y el encuentro con nuevos huéspedes a través de diferentes estrategias, acorde a sus estructuras biológicas y a sus capacidades metabólicas. Es aquí donde aparecen las grandes diferencias. Mientras que algunas formas de vida celulares tienen la capacidad intrínseca de sintetizar sus componentes estructurales, los virus necesariamente deben recurrir a otras formas de vida para multiplicarse. Es así que estas estructuras biológicas habitan un espacio ubicado entre el encuentro con otras formas de vida y su condición inerte extracelular. De este modo se pueden diferenciar dos momentos. Uno de ellos es fuera de la célula susceptible, situación en la cual los virus son partículas metabólicamente inertes, que esperan la oportunidad de alcanzar una forma de vida. El otro momento se inicia cuando el virus alcanza esa estructura biológica que le permite iniciar una relación simbiótica en la que se comportará como un parásito obligado. Un microorganismo que pasa gran parte o la totalidad de su ciclo vital asociado a otra forma de vida se denomina simbiote, y la relación simbiosis (del griego sym, juntos y bios, vida). Según Clark P. Reed, en la naturaleza no existe probablemente, ningún organismo libre, no simbiótico. El fenómeno de la simbiosis es tan común como la vida misma y puede ser opcional u obligatoria. Esta relación simbiótica puede caracterizarse como un “sentarse juntos a la mesa”, relación en la que uno se beneficia y

el huésped ni se perjudica ni se beneficia y se denomina comensalismo (del latín com, juntos y mensa, mesa); o bien ambos organismos obtener un beneficio recíproco y denominarse mutualismo (del latín mutuus, préstamo, recíproco). Ciertas bacterias establecen relaciones simbióticas con el huésped para finalizar formando parte de la biología propia del huésped (flora normal) . Pero si el simbiote daña o vive a expensas de otro, la relación se transforma en un parasitismo. La relación agente-huésped que establece el virus es una simbiosis obligatoria, caracterizada como un parasitismo, en el cual el simbiote vive a través de las reacciones metabólicas del huésped sin otorgar ningún beneficio a quien lo hospeda.

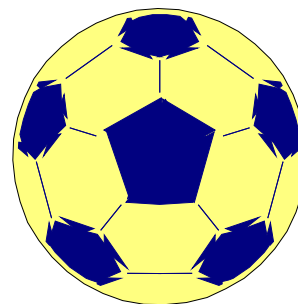
Lewis Thomas realiza un aporte interesante a la comprensión de la relación entre simbiosis y enfermedad, expresando que la enfermedad suele desarrollarse como consecuencia de negociaciones poco concluyentes para el establecimiento de una relación simbiótica, un paso más allá de la frontera dado por uno y otro organismo; en definitiva una interpretación biológica errónea de las barreras naturales.

La estructura viral responde a una geometría biológica

Los virus tienen una geometría que les permite relacionarse simbióticamente con formas de vida . El virión, es la unidad estructural de los virus. En su expresión más simple consiste en una molécula de ácido nucleico rodeada de una cubierta proteica denominada cápside. La asociación de la cápside con el ácido nucleico forma la nucleocápside. Esta nucleocápside es la estructura que corresponde a un virus desnudo. En otros casos el virión está formado por la nucleocápside y una envoltura glicoproteica, estructura que corresponde a un virus cubierto. Los virus cubiertos o envueltos, adquieren esta membrana lipoproteica durante el proceso de brotación de la célula huésped donde han replicado. Los lípidos de la membrana pertenecen a la célula , pero las proteínas son codificadas por el virus. Estas membranas pueden tener espículas, que son estructuras glicoproteicas codificadas por el virus. Otro tipo de proteína de envoltura es la denominada proteína de matriz formada por subunidades proteicas no glicosiladas y que se ubica entre la nucleocápside viral y la membrana lipoproteica.

La cápside está compuesta por un número definido de unidades morfológicas proteicas, denomina-

das capsómeros, las que se agrupan con uniones no covalentes. Esta agrupación define la simetría de la cápside, la que puede ser cúbica (icosahédrica) o helicoidal. En la simetría icosahédrica, los capsómeros se ensamblan formando un icosaedro, estructura de 12 vértices, 20 aristas y 30 caras, en la que cada cara es un triángulo equilátero. La estructura icosahédrica representa en la naturaleza la solución perfecta a un problema de construcción en el que intervienen muchas unidades repetitivas, lográndose la estructura más sólida posible, en el máximo volumen posible. Esta geometría biológica tiene un campo universal, y se refiere a estructuras que responden a un modelo de integración tensional en donde la estabilidad de la construcción se logra por la manera en que la estructura en su conjunto distribuye y equilibra sus tensiones, y no por sus miembros individuales. Estas formas se encuentran en numerosas estructuras naturales tales como en el citoesqueleto de una célula de mamífero, un adenovirus, un grano de polen; todas estas son estructuras que han servido de modelos en ingeniería para la construcción de las cúpulas geodésicas de las iglesias, por ejemplo. Lo que es más esta estructura formada por unidades repetitivas de hexágonos y pentágonos es similar a los polígonos de cuero en la estructura de un pelota de fútbol. Los adenovirus, rotavirus, rubéola y polio, entre otros, organizan sus nucleocápsides de acuerdo a un modelo de cúpula geodésica.



En la simetría helicoidal, en cambio, las subunidades proteicas están unidas a lo largo de un espiral helicoidal. La nucleocápside se presenta como un tubo hueco formado por un filamento de ácido nucleico dispuesto en espiral en el centro y rodeado por los capsómeros. En la naturaleza esta disposición se observa en el ADN, o en moléculas helicoidales. Ejemplos de esta estructura son el virus del sarampión, influenza, coronavirus, rabia.

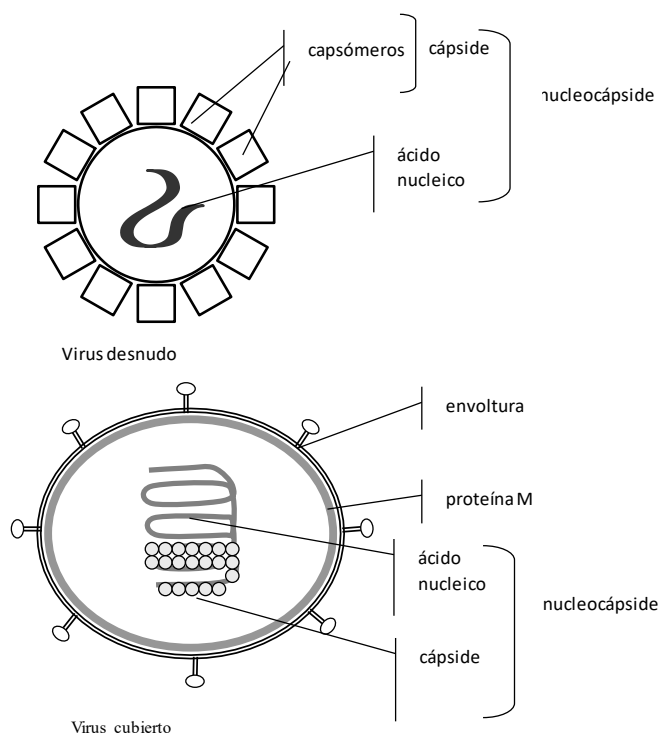
Por último, otros virus poseen una simetría no definida denominada compleja, como el virus vaccinia y el virus viruela.

Capítulo 1

Los virus, organizaciones biológicas...

Los virus son macromoléculas muy simples

Los virus se distinguen de otras formas de vida por su composición química simple, la que incluye un genoma con una o pocas moléculas de ácido desoxirribonucleico (ADN) o ácido ribonucleico (ARN), un pequeño número de proteínas que forman la cápside, y en el caso de los virus envueltos una bicapa lipoproteica asociada a glicoproteínas.



El ácido nucleico es la parte infectiva de la partícula, y contiene la información para codificar las proteínas necesarias para su estructura y multiplicación. Todos los genomas virales son haploides, esto es, contienen sólo una copia de cada gen; a excepción de los genomas retrovirales que son diploides. El ADN o el ARN viral puede ser de doble o de simple cadena, la que puede ser cerrada (circular) o lineal. Los virus con ARN lineal pueden tener una sola hebra de ácido nucleico o un número variable de segmentos: ARN segmentado como por ejemplo: 2 segmentos en los arenavirus y 11 en los rotavirus. Las proteínas virales pueden formar parte de la arquitectura del virión y se denominan proteínas estructurales. Cuando no forman parte de la arquitectura viral se denominan proteínas no estructurales y son herramientas utilizadas por el virus durante su ciclo replicativo.

Las proteínas estructurales proveen una cubierta protectora al genoma y a su vez, funcionan como un ligando a la célula huésped. El número de proteínas estructurales es variable, de 2 a 100, según la complejidad del virus.

La estructura viral debe estar conservada en toda su integridad a fin que cuando alcance alguna forma de vida pueda multiplicarse. Esto es, las proteínas que le van a permitir al virus relacionarse con “la forma de vida” susceptible, deben preservarse viables. La condición del medio más importante para la viabilidad del virus es la temperatura. Las proteínas de la superficie se desnaturalizan en pocos minutos a temperaturas mayores de 55°C. Como regla general la vida media de los virus puede ser medida en segundos a 60°C, minutos a 37°C, horas a 20°C, días a 4°C y años a -70°C o temperaturas menores. Los virus envueltos son más sensibles a la temperatura que los desnudos y sumamente susceptibles a los congelamientos y descongelamientos repetidos.

Otra condición es el medio iónico y el pH. Como regla general se preservan bien en un medio isotónico a pH fisiológico.

La viabilidad de los virus envueltos es fácilmente destruida por los solventes lipídicos tales como el éter, cloroformo y detergentes iónicos, mientras que los virus desnudos son sensibles a la acción de agentes oxidantes (hipoclorito, yodóforos).

Construyendo un virus envuelto

El ácido nucleico de un virus posee la información necesaria para codificar las proteínas estructurales y las no estructurales.

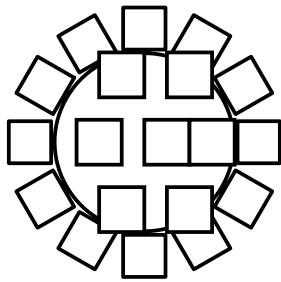


Esta información genética para proteínas estructurales codifica una masa proteica mucho menor a la necesaria para formar toda la estructura viral, pero la suficiente para formar una unidad morfológica: el capsómero.

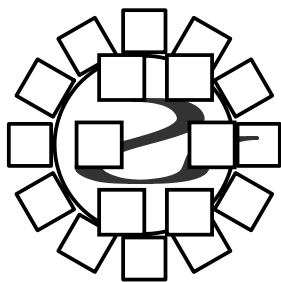


Es así que una misma estructura polipeptídica, el capsómero, se va a repetir y autoensamblar originando la cápside viral. Los capsómeros mantienen unidos mediante uniones tipo puentes de hidrógeno

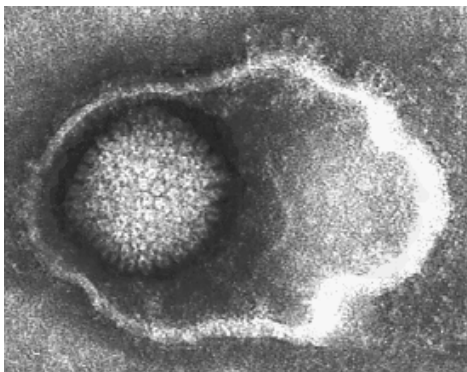
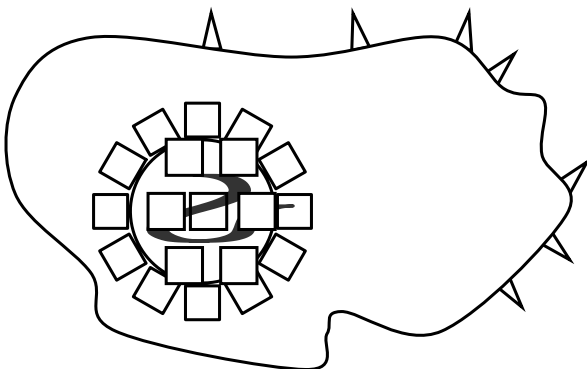
y Van der Walls, entre otras. En el ejemplo que se construye la cápside es icosaédrica.



Esta cápside mantiene en su interior al ácido nucleico que la codificó, formando la estructura de nucleocápside.



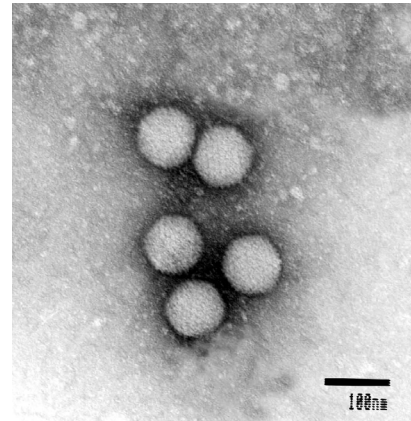
Una membrana de doble capa lipídica, adquirida por el virus al brotar de una célula, asociada a glicoproteínas virales que se proyectan en forma de espículas hacia el exterior, envuelve a la nucleocápside.



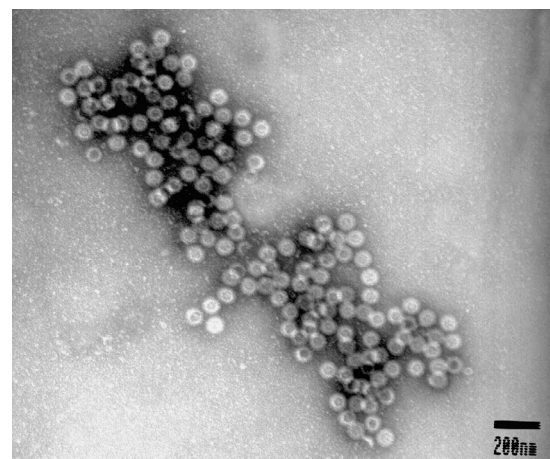
Microfotografía electrónica del virus construido

Imágenes de los virus

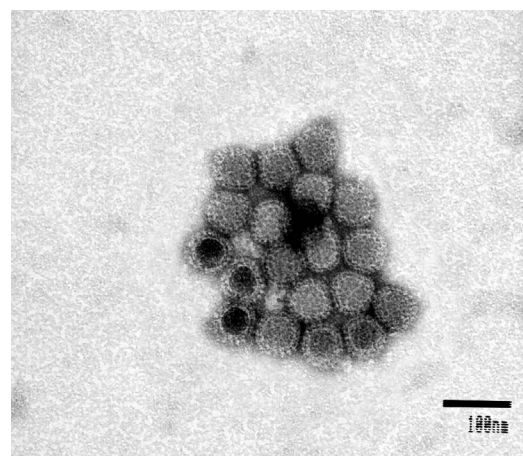
Nuestros ojos descubren los virus utilizando un microscopio electrónico y aumentando al menos 20.000 veces su tamaño original.



Microfotografía electrónica de los Adenovirus



Microfotografía electrónica de los Rotavirus



Microfotografía electrónica de los Reovirus

Una ley pone orden a los virus

La taxonomía (del griego: poner en orden, ley) viral se desarrolló como una necesidad para ordenar sus integrantes con un criterio significativo. El criterio significativo varió con la evolución histórica del conocimiento. Así es que en los comienzos se utilizaron como criterios taxonómicos la sintomatología de la enfermedad producida, el rango de huésped y el modo de transmisión. Estos criterios lograron agrupar virus de estructuras y biología muy diferentes que bien podían compartir sólo algunas características. Un ejemplo apropiado fueron los arbovirus, cuyo nombre hasta hoy hace referencia a virus transmitidos por artrópodos y agrupa agentes muy diferentes.

La clasificación actual considera en cambio, las características propias del virión, lo que permite agruparlos en familias, subfamilias, géneros y especies. La familia es un nivel taxonómico definido por la

morfología y estructura de los viriones, la composición química, la estrategia de replicación y la organización genómica. El nombre de la familia se compone por un prefijo que la identifica seguido de la terminación viridae. Dentro de cada familia aquellos miembros que comparten además el tamaño y organización genómica, la homología de secuencia y un vector común de transmisión conforman un género. El género se nombra con la terminación virus. Los géneros pueden agruparse por características comunes en subfamilias. La denominación se nombra con la terminación virinae. Finalmente, dentro de cada género los virus que compartan relaciones serológicas, el rango de huésped y la patogenicidad conforman las especies. Dentro de una especie se pueden diferenciar cepas (población que deriva de un único organismo), variantes y tipos.

En la siguiente figura se ilustra las características principales que permiten agrupar a los virus en familias, géneros y especies.

	FAMILIAS	GÉNEROS	ESPECIES
MORFOLOGÍA			
ESTRUCTURA			
COMPOSICIÓN QUÍMICA			
ESTRATEGIA DE REPLICACIÓN			
ORGANIZACIÓN GENÓMICA			
		TAMAÑO GENOMA	
		HOMOLOGÍA DE SECUENCIAS	
		VECTOR DE TRANSMISIÓN	
			RELACIONES SEROLÓGICAS
			RANGO DE HUÉSPED
			PATOGENICIDAD
			DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA

Taxonomía viral humana

En la siguiente figura se ilustra el sitio en la web donde se encuentra la taxonomía de todos los virus, la cual se actualiza. La versión corresponde año 2019, actualizada al 2018.

https://talk.ictvonline.org/ictv-reports/ictv_online_report/



CAPÍTULO 2

ECOLOGÍA DE LAS INFECCIONES VIRALES: INTERACCIÓN AGENTE-HOSPEDRO-AMBIENTE

Los virus jugaron un papel clave en la evolución aportando e intercambiando su material genético con las primeras formas de vida

A miles de millones de años del origen de la vida, el hombre y los virus se asocian en una relación simbiótica parasitaria

En esta relación simbiótica parasitaria intervienen el hospedero, el agente y el medio, la tríada ecológica

El hospedero es visto por el virus como un conjunto de millones de receptores y vías metabólicas a ser utilizados

El agente es una organización biológica pequeña dispuesta a multiplicarse

El ambiente es el escenario donde transcurre la interacción agente hospedero

La interacción agente-hospedero-ambiente es una sucesión continua de eventos dinámicos que se entrelazan

Los virus jugaron un papel clave en la evolución aportando e intercambiando su material genético con las primeras formas de vida

El comienzo fue la nada, esta nada estaba condensada en un punto extremadamente pequeño que concentraba toda la energía y la masa ahora presentes en el universo. Energía y masa se liberaron en una gran explosión (Big Bang) que alejó violentamente una partícula de otra hace 10 a 20 mil millones de años. La temperatura inicial de aproximadamente 1011 °C, fue disminuyendo rápidamente y a medida que esta explosión se enfriaba tomaban forma los átomos y sus moléculas. Al decir de Helena Curtis y Sue Barnes, “cada átomo de nuestro propio cuerpo tiene su origen en esta enorme explosión: somos carne y hueso, pero también somos polvo de estrellas”.

Es así que el cosmos tal como lo conocemos hoy, es probable que se originara de una gran explosión a partir de una esfera de ignición primitiva que produjo un volumen de materia en una constante expansión. Así fue que se formaron nubes de polvo y gases en las cuales abundaba el helio y el hidrógeno. En ciertas regiones estas nubes se condensaron y se formaron las estrellas y los planetas, cuyas características dependieron de la composición química del

gas y del polvo en la región de condensación. Esto pudo haber ocurrido hace 4600 millones de años. En aquel entonces en la joven tierra había muy poco oxígeno libre y los cuatro elementos de la vida (carbono, hidrógeno, oxígeno y nitrógeno) se encontraban disponibles de algún modo en una tierra y en un mar estériles. La gran energía térmica producía abundante vapor de agua en el marco de violentas tempestades acompañadas de rayos, que proveían energía eléctrica; ambiente que sería el primer nicho ecológico terrestre. Oparin A.I., un científico ruso, formuló la hipótesis que en dichas condiciones se originaron las partículas orgánicas que se reunieron formando un caldo diluido en los mares y lagos de la tierra. Es probable que las primeras formas biológicas fueran similares a los actuales virus, por su estructura simple y capacidad de autoensamble. Luego aparecieron las células procariotas, estructuras biológicas de mayor complejidad, con un modelo diferente de multiplicación y con una estructura de membrana que sería clave para conservar el medio interno. Es probable que la existencia de los virus en aquella etapa evolutiva posibilitara un intercambio de información genética entre diferentes formas de vida. Luego las arqueobacterias y las bacterias fueron las primeras en divergir, de estas últimas se originarían las células eucariotas. Así fue

que se originaron los tres dominios de la vida : las eubacterias, las arqueobacterias y los eucariotas, sobre un nicho ecológico primitivo habitado por virus, formas biológicas ubicadas en los bordes de la vida. Paradójicamente los virus, simples organizaciones biológicas sin vida propia, jugaron un papel clave en la evolución aportando e intercambiando su material genético con los tres dominios formados de la vida primitiva.

En este aporte de los virus a la vida se destaca también su participación en el ciclo del carbono. Un mililitro de agua de mar contiene un promedio de 10 millones de partículas virales lo que lleva a una carga total de carbono equivalente a 270 millones de toneladas, más de 20 veces la masa de carbono almacenada en todas las ballenas de la tierra. Es así que los virus han tenido y tienen un papel importante en la evolución de la vida, en particular en el intercambio de información genética entre formas de vida y participando en el ciclo del carbono en los océanos.

Si los virus no hubieran intercambiado información genética con sus huéspedes, es probable que la especie humana no sería lo que hoy es.

A miles de millones de años del origen de la vida, el hombre y los virus se asocian en una relación simbiótica parasitaria

El escenario de las enfermedades infecciosas se ha configurado como una historia de frágil equilibrio entre el agente infeccioso, el hospedero y el ambiente. De este modo la interacción entre un virus y un hospedero en particular en un ambiente determinado, va a obedecer a la concurrencia de un conjunto de factores, cuya relación múltiple de causalidad va a determinar si es posible que se establezca una relación simbiótica parasitaria. Estos factores determinantes de la relación simbiótica incluyen características y elementos del agente infeccioso, del hospedero y del ambiente, los que se entrelazan desplazando el equilibrio hacia una situación en particular. El resultado podrá ser entonces la emergencia de un proceso mórbido en el hospedero (enfermedad), un hospedero asintomático infectado o la no infección .

La palabra ecología (del griego: casa) fue utilizada por primera vez en 1869 por el biólogo alemán Ernst Haeckel (1834-1919) para referirse al “estudio de las relaciones entre los organismos y su ambiente”, que en el caso particular del estudio de las infec-

ciones virales, se refiere al estudio de las relaciones entre el virus, el hospedero y el ambiente. Esta tríada ecológica (agente infeccioso - hospedero - ambiente) promueve una dinámica muy compleja de interacciones, cuyo estudio y análisis permite comprender las causas determinantes de los procesos salud-enfermedad. El conocimiento de las características intrínsecas de esta tríada, posibilita interrumpir el flujo de la historia natural de la enfermedad, y en consecuencia del proceso de transmisión del agente infeccioso. A través del conocimiento biológico se puede y se debe actuar en puntos vulnerables de las cadenas de interacción entre el hospedero el agente y el ambiente (cadenas epidemiológicas), con el objeto de controlar la morbimortalidad de etiología infecciosa viral en la comunidad.

En esta relación simbiótica parasitaria intervienen el hospedero, el agente y el medio, la tríada ecológica

El hospedero es visto por el virus como un conjunto de millones de receptores y vías metabólicas a ser utilizados

El hospedero es el ser vivo, que bajo determinadas circunstancias naturales permite el alojamiento del agente infeccioso. Diferentes factores del hospedero influyen sobre su exposición a un agente infeccioso y sobre la respuesta a esta infección . Entre ellos es posible citar: la edad, las condiciones fisiológicas, la respuesta inmune de memoria, determinados factores genéticos (razas, antígenos de histocompatibilidad, restricciones genéticas de la respuesta inmune), tratamientos terapéuticos en curso, el estado nutricional, el sinergismo con infecciones preexistentes o inter-recurrentes, hábitos individuales (consumo de tabaco, alcohol, drogas, tipo de alimentación), factores psicológicos y pautas socio-culturales, entre otros.

Por otra parte, la globalización de la economía, el aumento de la frecuencia de viajes internacionales, los cambios climáticos y desastres, que llevan implícitos cambios ecológicos, los nuevos estilos de vida y las crisis sociales, entre otros, son también factores que a menudo interconectados, promueven la emergencia o reemergencia de enfermedades infecciosas en los individuos expuestos.

Las variaciones estacionales que se observan con regularidad en la incidencia de algunas enfermedades infecciosas pueden deberse a cambios en la susceptibilidad del hospedero a un particular microorga-

nismo. Estos cambios en la susceptibilidad pueden deberse a variaciones en la secreción de melatonina producidas por el ciclo luz/oscuridad en el humano; de un modo similar a los cambios fisiológicos estacionales observados en algunas especies de mamíferos. Estas variaciones fisiológicas pueden traducirse en cambios en las superficies de las mucosas, en la expresión de otros receptores epiteliales o en la respuesta inmune. Esta hipótesis explica los brotes estacionales como un cambio en la susceptibilidad del hospedero.

El agente es una organización biológica pequeña dispuesta a multiplicarse

El agente (virus) es el factor biológico pequeño dispuesto a multiplicarse en un sistema vivo. El agente puede provenir del ambiente o del mismo hospedero. Si proviene del ambiente, ingresa al hospedero; en cambio si el virus ya había ingresado al hospedero en el pasado y se encontraba en estado de “silencio”, puede por diferentes causas, iniciar nuevamente su actividad (ciclos de multiplicación).

Algunas de las características intrínsecas más importantes de los agentes virales para establecer con éxito la simbiosis con el hospedero son:

- La estabilidad en el medio físico requerido para la transmisión: resistencia a bajas o altas temperaturas, a la desecación, a la radiación ultravioleta.
- El número de partículas infecciosas.
- La disponibilidad de un vector o un ambiente apropiado para su diseminación.
- La puerta de entrada del agente al hospedero.
- La capacidad para interactuar con su correspondiente receptor celular, entrar y multiplicarse en células del hospedero.

El agente puede poseer mecanismos que le permitan sortear barreras del hospedero, por ejemplo sobrepasar la respuesta inmune del hospedero y/o las terapias específicas. Los virus tienen mecanismos para producir mutaciones y recombinaciones de su material genético. Un buen ejemplo de estrategia de sobrevivencia es aquella empleada por el virus influenza A. A medida que el virus se extiende por la comunidad se producen mutaciones repetidas en los genes que codifican la hemaglutinina y la neuraminidasa (glicoproteínas de la envoltura), lo que causa

pequeños cambios antigénicos que son suficientes para reducir la eficacia de los anticuerpos inducidos en respuesta a infecciones previas por el virus. También se pueden producir alteraciones más extensas y súbitas de los antígenos virales debido a recombinación entre material genético de virus influenza humanos y virus influenza aviar, por ejemplo. Como resultado emerge de un modo súbito una nueva cepa de virus influenza, que expresa una hemaglutinina o neuraminidasa de origen aviar. Es probable que las combinaciones entre una cepa humana y una cepa aviar ocurran en otra especie que actúe como intermediario. Una teoría propone que el cerdo co-infectado con cepas de influenza de origen humano y aviar, actuaría como un “recipiente de mezcla génica” creando la oportunidad para la emergencia de un nuevo virus influenza.

La relación simbiótica entre el hospedero y el agente es dinámica. Determinados conceptos definen las características de esta dinámica. La infección es el primera etapa de esta dinámica, es la entrada y multiplicación de un agente infeccioso en un ser vivo. Cuando el agente da un paso más allá en su parasitismo, rompiendo el equilibrio de la relación simbiótica, se desarrolla la enfermedad. La enfermedad, es el conjunto de signos y síntomas que puede resultar como consecuencia de un proceso infeccioso en particular. Es importante comprender que la infección no es sinónimo de enfermedad. Lo que es más, la sola presencia de agentes infecciosos viables en las superficies exteriores del cuerpo o en prendas de vestir no constituyen infección, sino colonización o contaminación de tales superficies o artículos.

La infectividad, es la propiedad del agente de poder alojarse y multiplicarse dentro del hospedero, produciendo una infección. La medida básica de infectividad es el número mínimo de partículas infecciosas que se requieren para producir una infección. Para un agente infeccioso determinado este número puede variar mucho de un hospedero a otro y dentro de una misma especie, de acuerdo con la puerta de entrada, la edad, y otras características particulares del hospedero (estado inmunitario, condiciones sanitarias, estado nutricional, etc.). El virus sarampión y el virus varicela-zoster son dos ejemplos de máxima infectividad, los virus de la parotiditis y rubeola de infectividad media.

La virulencia es la capacidad del agente de producir casos graves o fatales de una enfermedad. La medi-

da de la virulencia es el número de casos graves y fatales en proporción al número total de casos.

La patogenicidad es la capacidad del agente infeccioso para producir la enfermedad. Se pueden establecer grados de patogenicidad. Los virus de la rabia, sarampión y varicela-zoster son altamente patógenos, pues cada infección en un individuo susceptible resulta en enfermedad. Los virus de la parotiditis y de la rubéola se encuentran en un lugar intermedio pues entre el 40-60% de las infecciones presentan manifestaciones clínicas. En el nivel inferior de la escala se encuentran los poliovirus, cuya infección produce una enfermedad paralítica típica en sólo 1 de cada 300 a 1000 infectados.

Infecciones virales	Relación subclínica/ clínica
Virus polio	1000/ 1
Virus hepatitis A	10/ 1
Virus rubeola	2/1
Sarampión	1/ 99
Rabia	0/100

Relación subclínica/clínica en algunas infecciones virales

Es así como las infecciones pueden ser clínicas o subclínicas: las clínicas tienen signos y síntomas (enfermedad), y las subclínicas se definen como la ausencia de enfermedad. Las infecciones subclínicas sólo pueden detectarse por medio del laboratorio microbiológico.

Sin embargo es necesario destacar que la patogenicidad no es la regla. De hecho, se produce con tan poca frecuencia y concierne a un número tan reducido de virus, teniendo en cuenta la enorme población viral que existe en la Tierra, que resulta casi insólita.

El ambiente es el escenario donde transcurre la interacción agente hospedero

El ambiente es el escenario donde transcurre la interacción agente-hospedero e incluye un conjunto de factores bióticos y abióticos, así también como factores socio-económico-culturales que pudieran interactuar e influenciar en dicha relación. El ambiente, por ejemplo, interviene en la existencia y sobrevivencia del agente, en las rutas de transmisión del agente al hospedero, y en el comportamiento, exposición y susceptibilidad del hospedero.

Para las infecciones que requieren un insecto vector, por ejemplo en las infecciones por arbovirus, el ambiente ejerce su influencia delimitando la densidad del vector, por lo que la infección queda limitada a aquellas áreas con apropiadas temperatura, humedad y vegetación. Para las infecciones virales transmitidas por agua, por ejemplo la producida por el virus de la hepatitis A, un ambiente con condiciones sanitarias precarias o inexistentes, aumenta la exposición y la eficiencia de transmisión del virus.

El ambiente también ejerce su influencia en el comportamiento social del hospedero. En las estaciones frías, el hacinamiento y la permanencia en ambientes cerrados facilita la transmisión de infecciones virales que se vehiculizan por aerosoles (tos, estornudos) .

En una tentativa de ordenar los factores que actúan sobre el hospedero y el agente infeccioso se puede clasificar el ambiente en: ambiente físico (que son los factores abióticos), ambiente biológico (corresponde a los factores bióticos) y ambiente socioeconómico cultural.

Los siguientes son algunos ejemplos de sus componentes:

Factores abióticos: temperatura , humedad, accidentes geográficos, intensidad de radiación solar, clima, regímenes pluviales, etc.

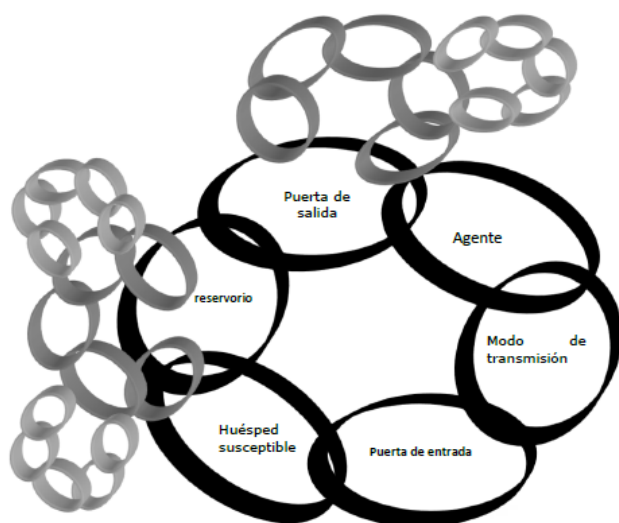
Factores bióticos: variedad, densidad y distribución de la flora y la fauna.

Factores socio-económicos-culturales: densidad poblacional, hacinamientos, tensiones y presiones urbanas, guerras, inundaciones, distribución de la riqueza, presupuesto en salud.

La interacción agente-hospedero-ambiente es una sucesión continua de eventos dinámicos que se entrelazan

En la transmisión de una infección viral ocurre una sucesión continua de interacciones entre el agente, el hospedero y el ambiente. Estas interacciones, como eslabones de una cadena, se van entrelazando de forma tal que cada evento de interacción agente-ambiente-hospedero está relacionado con un evento anterior y da lugar a que transcurra otro posterior. Esta sucesión continua de interacciones se denomina cadena epidemiológica y convencionalmente se describen seis eslabones: un agente infeccioso, un reservorio de agente infeccioso, una puerta de salida, un modo de transmisión, una puerta de entrada y un hospedero susceptible. El reservorio de agentes

infecciosos es cualquier ser humano, animal, planta, suelo, agua, materia o a una combinación de ellos; donde normalmente vive y se multiplica un agente infeccioso, de manera que pueda ser transmitido a un hospedero susceptible. La puerta de salida del agente infeccioso es el camino por el que el virus llega al ambiente y alcanza a otro hospedero susceptible utilizando un modo de transmisión determinado.



Representación de la cadena epidemiológica

La complejidad de las causas que originan una infección hace difícil, en determinadas situaciones, identificar un único origen del proceso. La compleja red del proceso infeccioso por la que el hospedero transita, se encuentra siempre anclada y nutrida por diferentes factores, y éstos a su vez condicionados por múltiples situaciones.

El trabajo de Carlos Finlay (1833-1915), médico cubano descubridor de la transmisión de la fiebre amarilla por el mosquito, es un muy buen ejemplo de cómo, a través del método científico experimental logra esclarecer la cadena epidemiológica de la fiebre amarilla.

Finlay parte de una serie de observaciones y conocimientos sobre la fiebre amarilla, realiza observaciones con una extraordinaria meticulosidad sobre las características de los mosquitos existentes en Cuba y sobre sus hábitos alimenticios. En base a estas observaciones esboza una nueva teoría y la somete a verificación experimental:

“Lo que me propongo estudiar es el medio por el cual la materia morbígena de la fiebre amarilla se desprende del cuerpo del enfermo y se implanta en el hombre sano. La necesidad de admitir una intervención extraña a la enfermedad para que ésta se transmita resulta de numerosas consideraciones. Entre las más importantes está el hecho de que la fiebre amarilla unas veces atraviesa el océano para ir a propagarse a ciudades muy distantes de las del foco de donde ha provenido la infección; mientras que en ocasiones la misma enfermedad deja de transmitirse fuera de una zona endémica estrecha, por más que la meteorología y la topografía de los lugares circunvecinos no revelen diferencias que expliquen su comportamiento tan diverso de la misma enfermedad en dos localidades al parecer iguales. Admitida la ingerencia necesaria de un agente de transmisión que explicara la anomalía señalada, es claro que sobre ese agente habría de recaer la influencia de todas las condiciones hasta ahora reconocidas como esenciales para que la fiebre amarilla se propague. Así pues, no era posible buscar ese agente entre los microzoarios ni los zoófitos, porque en esas categorías íntimas de la naturaleza animada, poco o nada influyen las variaciones meteorológicas que más suelen afectar el desarrollo de la fiebre amarilla - Para llenar esta primera condición fue preciso ascender hasta la clase de los insectos, y teniendo en cuenta que la fiebre amarilla está caracterizada clínica, y también, según trabajos recientes, histológicamente, por lesiones vasculares y alteraciones físico-químicas de la sangre, parecía natural buscar el insecto que hubiera de llevar las partículas infecciosas del enfermo al hombre sano entre aquellos que penetran hasta el interior de los vasos sanguíneos para chupar la sangre humana. En final, en virtud de consideraciones que fuera ocioso referir, llegué a preguntarme si no sería el mosquito el que transmite la fiebre amarilla Hecha la observación de la especie de mosquitos existentes en Cuba, y de los hábitos de los mismos, veamos de que medios podría valerse el mosquito para comunicar la fiebre amarilla... En fin, asimilando esta enfermedad a la viruela y a la vacuna, me dije que para inocularla habría que ir a buscar la materia inoculable en el interior de los vasos de un enfermo de fiebre amarilla y llevarla también al interior de un vaso sanguíneo de otro individuo en aptitud de recibir la inoculación. Condiciones todas que el mosquito realiza admirablemente con

su picada y que sería poco menos que imposible a nuestras manos imitar, con los instrumentos comparativamente toscos y groseros que puede producir el más hábil de nuestros artesanos.

Tres condiciones serían, pues necesarias para que la fiebre amarilla se propague; 1) Existencia de un enfermo de fiebre amarilla (reservorio), en cuyos capilares el mosquito pueda clavar sus lancetas e impregnadas de partículas virulentas (agente infeccioso), en el período adecuado de la enfermedad; 2) prolongación de la vida del mosquito entre la picada hecha en el enfermo y la que deba reproducir la enfermedad (vector biológico); 3) Coincidencia de que sea un sujeto apto para contraer la enfermedad (hospedero susceptible) alguno de los que el mismo mosquito vaya a picar después.

Apoyado pues en estas razones, determiné someter a prueba experimental mi teoría y, después de obtener las debidas autorizaciones, procedí de esta manera: el 28 de julio próximo pasado ,llevé a la casa de salud de Garcini un mosquito capturado antes de que hubiera picado , y le hice picar y llenarse de sangre en el brazo de un enfermo, don Camilo Anca, que se hallaba en el quinto día de fiebre amarilla, perfectamente caracterizada, y de cuya enfermedad falleció dos días después. Habiendo luego elegido a F.B., uno de los veinte individuos sanos no aclimatados a es enfermedad, que se encuentran actualmente sometidos a mi observación, le hice picar el 30 de junio, por el mismo mosquito . Teniendo entonces en cuenta, que la incubación de la fiebre amarilla, comprobada en algunos casos especiales, varía de uno a quince días, seguí observando al citado F.B. El 9 de julio empezó a sentirse mal y el 14 entró en el hospital con una fiebre amarilla benigna, pero perfectamente caracterizada por el íctero y la presencia de albúmina en orina, la cual persistió desde el tercero hasta el noveno día....

Estas pruebas son ciertamente favorable a mi teoría..... aunque discrepen tan esencialmente de las ideas ahora propagadas acerca de la fiebre amarilla; mas entretanto se proporcionan los datos de que aún carecemos, seame permitido resumir en este escrito los puntos más esenciales que he tratado de demostrar.”

CAPÍTULO 3

LA REPLICACIÓN VIRAL

Los virus para replicarse deben recorrer en la célula dos caminos metabólicos: el camino de las proteínas y el camino del genoma

El ciclo de replicación se inicia cuando el virus se adhiere y penetra en la estructura celular

El virus se desnuda; el ácido nucleico viral queda libre en la célula a fin de iniciar el camino a las proteínas virales y el camino al genoma viral

El virus comienza a recorrer su etapa de vida intracelular: ya dentro de la célula trabaja para apropiarse de la maquinaria biosintética para producir sus propias proteínas y replicar su genoma

Para recorrer el camino de las proteínas el virus debe presentar a la maquinaria biosintética celular un ARNm que la célula pueda reconocer como propio y traducirlo a proteínas

En general las primeras proteínas traducidas son enzimas requeridas para la replicación del ácido nucleico viral y las inhibidoras de la síntesis de componentes celulares

El camino al genoma viral tiene diferentes sendas, el virus deberá elegir cuál recorrer, según su genoma sea ADN ó ARN, de simple o doble cadena y de polaridad positiva o negativa

Camino al genoma ADN

Camino al genoma ARN

Siempre el camino de las proteínas se entrelaza con el camino de los ácidos nucleicos

Virus con genoma ADN

Virus con genoma ARN

Las proteínas y los ácidos nucleicos sintetizados se ensamblan y se libera la progenie viral al espacio extracelular. Este es el modelo de una infección productiva

El virus abandona la célula infectada

Sin embargo, no siempre se completa el ciclo de replicación, resultando entonces en una infección no productiva

Los virus para replicarse deben recorrer en la célula dos caminos metabólicos: el camino de las proteínas y el camino del genoma

Los virus a través de procesos evolutivos, han desarrollado un conjunto de estrategias para su mul-

tiplicación en la célula; de este modo, aseguran su perpetuación en la naturaleza pasando de un hospedero infectado a otro susceptible. Las estrategias de multiplicación son diferentes de acuerdo a las características del genoma viral (ADN o ARN, de simple o doble cadena, de polaridad positiva o negativa) y

a la estructura del virión; pero todas ellas tienen en común posibilitar la expresión de los genes virales para la replicación del genoma y la codificación de las proteínas del virus.

Para que un virus se multiplique, debe primero infectar una célula. Esta célula actuará como una fábrica que le proporcionará los sustratos, la energía y la maquinaria necesaria para la síntesis de las proteínas víricas y la replicación del genoma. El resultado final serán cientos, miles o millones de partículas virales hijas y/ o genomas virales hijos, todos idénticos entre sí e idénticos al virus que infectó originalmente la célula; o sea un proceso biológico de clonación altamente eficiente.

En las células procariotas y en las eucariotas la síntesis de macromoléculas se realiza con una estrategia génica determinada; esto es, el flujo de la información en la biología celular parte desde una molécula de ADN de doble cadena (cd) a moléculas lineales de ARNm, las que son luego traducidas en proteínas. A este flujo metabólico lo denominaremos el camino a las proteínas, que puede esquematizarse del siguiente modo:



Por otra parte la información genética debe perpetuarse en la progenie celular, en un flujo que se inicia con una molécula de ADN cd a partir de la cual se sintetiza otra molécula idéntica de ADN cd. A este flujo lo denominaremos el camino al genoma, que puede esquematizarse del siguiente modo:



Tanto el camino a las proteínas celulares como el camino al genoma celular son las dos vías metabólicas esenciales que el virus utilizará para la formación de su progenie.

Para recorrer estos dos caminos, la información genética viral que ha ingresado a la célula, utiliza enzimas o “herramientas” celulares preexistentes. Sin embargo, en numerosas oportunidades la información genética viral recorre rutas no convencionales para la biología celular, utilizando sistemas enzimáticos o “herramientas” propias.

En general, los procesos metabólicos no proporcionados por la biología celular son aportados por el virus .

El modo como cada virus realiza los pasos metabólicos y supera las limitaciones bioquímicas de la célula, depende de las características del genoma y del virión que deben ser replicadas. Aún así, existen etapas comunes en la multiplicación viral, las que ocurren en un orden secuencial determinado.

El ciclo de replicación se inicia cuando el virus se adhiere y penetra en la estructura celular

Para infectar una célula susceptible, el virus debe primero adherirse. Este proceso denominado adhesión no es dependiente de energía y está mediado por estructuras presentes en la superficie del virión (proteínas estructurales externas: proteínas de adhesión viral) que interaccionan con estructuras celulares (receptores celulares). Para algunos virus el receptor celular es la única molécula que requiere para entrar a la célula; para otros, se requiere además otra molécula adicional denominada coreceptor. La infección viral se inicia por un encuentro al azar entre los receptores celulares y virales, es así que una elevada concentración de virus incrementa la probabilidad de infección. Los virus no tienen medios de locomoción pero su pequeño tamaño facilita su desplazamiento por la difusión y los movimientos Brownianos.

Para que un virus se multiplique, debe primero infectar una célula. Esta célula actuará le proporcionará los sustratos, la energía y la maquinaria necesaria para la síntesis de las proteínas víricas y la replicación del genoma.

Los receptores celulares están ubicados en la membrana celular y en la matriz extracelular. La matriz extracelular está constituida por un gel hidratado de proteoglicanos en el cual están embebidas proteínas fibrosas y adhesivas; las que a su vez se unen a través de integrinas a la red del citoesqueleto celular. El encuentro entre receptores es el acontecimiento inicial que determina si las células pueden o no ser infectadas por un virus, ya que ciertos receptores se expresan solo en algunos tipos celulares, determinando el rango de hospederos y de células que pueden ser infectadas por un virus.

ALGUNOS DETALLES

Para que esta interacción entre virus y célula suceda de modo exitoso deben coincidir susceptibilidad y permisividad. Esta coincidencia se denomina tropismo viral. El tropismo es definido como la predilec-

ción y multiplicación de un virus en determinadas células y tejidos. El tropismo es el resultado de la sumatoria de dos eventos distintos: la susceptibilidad, caracterizada por la capacidad de adsorción del virus al receptor celular y la permisividad, como la posibilidad de continuar su replicación dentro de la célula.

Virus influenza A de origen humano se multiplica cuando encuentra sus receptores en la mucosa respiratoria del tracto superior humano. Un ejemplo interesante para analizar el tropismo viral es la infección por virus influenza A aviario en células humanas. Virus influenza A aviario en las células de la mucosa respiratoria superior humano, por carencia de receptores celulares, esto es la falta de susceptibilidad, no podría multiplicarse en las células. Sin embargo, algunos virus influenza aviarios logran superar esta restricción biológica.

Por ejemplo, el virus polio solo encuentra receptores en células de primates, de este modo sólo son susceptibles de infectarse con virus polio el hombre y los monos. Es conocido que las células de ratón no pueden ser infectadas con poliovirus. Sin embargo la introducción de un ARN infectivo de polio en un cultivo de células de ratón lleva a la replicación del virus, indicando que estas células no tienen un bloqueo intracelular para la multiplicación de virus polio. El estado de no susceptibilidad de estas células es por lo tanto debido a la falta de receptores. El receptor celular para virus polio (Pvr) es una glicoproteína integrante de la superfamilia de las inmunoglobulinas. Diferente es el mecanismo de adhesión de los virus herpes simplex 1 y 2 para infectar una célula se unen en un primer momento con una baja afinidad a su receptor el heparán sulfato, componente abundante en la matriz extracelular. Esta interacción inicial concentra los virus cerca de la superficie celular y facilita la unión posterior a un coreceptor (Prr1, Prr2 y HveA) que es requerido para la entrada del virus a la célula.

Según el tipo celular que el virus logre infectar, la diseminación viral en el hospedero tomará diferentes rutas patogénicas, definiendo distintos modelos de infección (ver patogénesis de las infecciones virales). El contacto de un virus con un receptor en la superficie celular o la exposición del virus en el medio intracelular puede disparar cambios conformacionales importantes en el virión. Esto es debido a que las partículas virales son estructuras de esta-

bilidad variable que logran la conformación más estable luego de la adhesión y penetración celular; es decir cuando deben atravesar una barrera de energía no favorable. Por lo tanto los viriones no son estructuras inertes.

Las interacciones entre las estructuras celulares y las virales complementarias inician la internalización del virus a la célula, proceso denominado penetración, que requiere de energía y va acoplado a el proceso de desnudamiento.

El mecanismo de internalización depende de la estructura del virión y de la célula susceptible.

El virus se desnuda; el ácido nucleico viral queda libre en la célula a fin de iniciar el camino a las proteínas virales y el camino al genoma viral

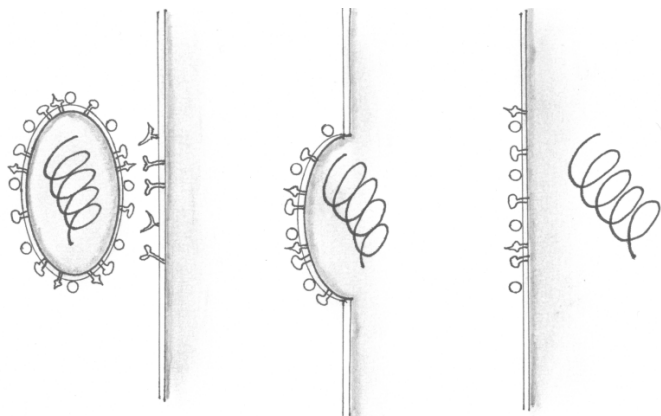
El desnudamiento es la liberación del ácido nucleico viral de su cubierta proteica o de su envoltura lipoproteica, aunque en la mayoría de los casos el ácido nucleico liberado permanece acompañado a ciertas proteínas virales.

En algunos virus el desnudamiento es un proceso relativamente simple y se realiza inmediatamente luego de la fusión de la envoltura viral con la membrana plasmática. Para otros virus, sin embargo, el desnudamiento es un proceso que se realiza en varias etapas.

A pesar de alta diversidad estructural que existe entre diferentes virus, los mecanismos por los cuales ellos entran a las células parecen ser limitados y seguir un patrón general, que corresponde según los virus sean envueltos o desnudos y a si el genoma viral debe quedar en el citoplasma o llegar al núcleo celular.

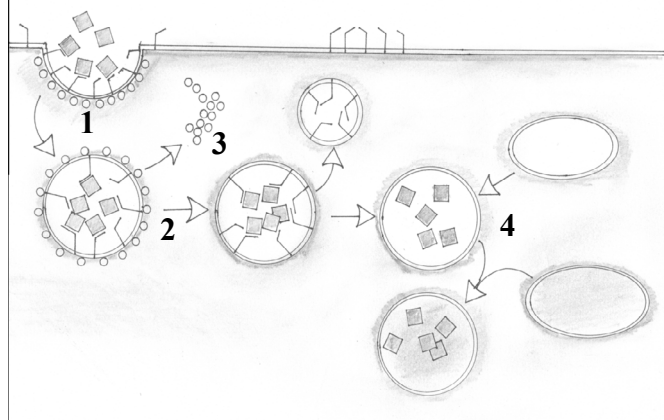
Un mecanismo propio de los virus envueltos es el desnudamiento en la membrana plasmática, esto es, la fusión de la envoltura viral con la membrana plasmática, liberando la nucleocápside viral directamente al citoplasma celular. En el caso en particular del virus herpes, las proteínas de la envoltura viral (gB, gD y gH/gL) median la fusión de la envoltura viral con la membrana celular; luego de esta fusión el virus es desnudado, liberando las proteínas del tegumento y la nucleocápside al citoplasma.

En contraste a la fusión con la membrana plasmática, otros virus envueltos se desnudan a través de un mecanismo de endocitosis mediada por receptor y dependiente de clatrina. Este proceso es en la vida celular, un evento fisiológico utilizado frecuentemente

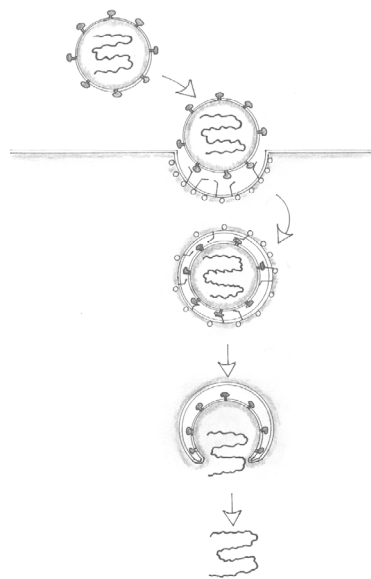


Desnudamiento en la membrana plasmática de un virus envuelto

mente para la captación de macromoléculas específicas (hormonas, lipoproteínas de baja densidad y transferrina). Estas moléculas en el fluido extracelular se unen a receptores celulares; la membrana celular comienza a invaginarse cubriéndose en el lado citoplásmico por proteínas fibrosas denominadas clatrina (1). El proceso continúa hasta completarse la invaginación de la membrana plasmática, formándose una vesícula libre en el citoplasma que contiene en su interior la molécula endocitada (2). En un paso posterior las proteínas de clatrina se pierden (3) y las vesículas se fusionan con vesículas celulares denominadas endosomas (4). El lumen de estos endosomas es ácido como resultado del transporte activo de protones al interior celular, a través de una bomba de protones ubicada en la membrana del endosoma.

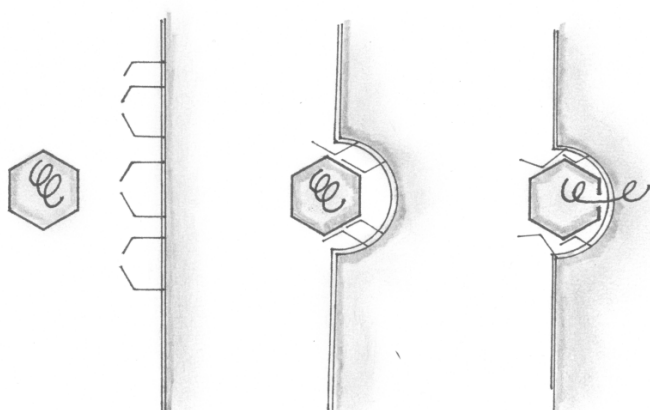


Este mecanismo fisiológico es el utilizado por los virus, que aprovechan el medio ácido para fusionar su envoltura con la membrana del endosoma, logrando la liberación del ácido nucleico dentro del citoplasma, como se observa en la figura siguiente.



Resulta más complejo comprender el mecanismo de desnudamiento de los virus no envueltos, pues no resulta obvio como las nucleocápsides logran atravesar la membranas plasmática. Los adenovirus, con un mecanismo similar al de algunos virus envueltos, ingresan a la célula por una endocitosis mediada por receptor y dependiente de clatrina en donde la acidificación del endosoma produce la liberación de la nucleocápside en el citoplasma celular. Sin embargo otros virus que utilizan este mecanismo realizan un paso más en este camino celular, fusionando el endosoma a un lisosoma. Este es el desnudamiento en los lisosomas utilizado por los miembros de la Familia Reoviridae que aprovechan las enzimas lisosomales para desnudarse.

Otros virus desnudos penetran haciendo un poro en la membrana plasmática. El virus polio utiliza un mecanismo que le permite introducir el ácido nucleico directamente a través de las membranas celulares. La interacción del virus polio con su receptor celular Pvr, lleva a un cambio conformacional en la partícula del virus. La partícula viral resultante se hace hidrofóbica adquiriendo mayor afinidad por las membranas celulares. Esto le permite insertar la porción amino terminal de la proteína VP1 en la membrana celular, formando un poro o canal por el que “inyecta” el ARN viral dentro del citoplasma.



Entrada mediante un poro en la membrana celular

Al final del desnudamiento en los virus ADN, reotrovirus e influenza, el genoma viral se transporta al interior del núcleo. Este movimiento de moléculas se produce a través de la membrana nuclear, compuesta por dos unidades de membrana que se unen formando poros. Es en estos poros donde se localiza un complejo de proteínas del poro nuclear formado por más de 100 proteínas celulares.

Este sistema permite la difusión pasiva de moléculas pequeñas del citoplasma al núcleo y viceversa, mecanismo que es utilizado por los genomas ADN para alcanzar el núcleo celular.

El virus comienza a recorrer su etapa de vida intracelular: ya dentro de la célula trabaja para apropiarse de la maquinaria biosintética para producir sus propias proteínas y replicar su genoma

Completado el proceso de desnudamiento, el genoma viral debe expresar su estrategia particular para transcribir el genoma en un ARNm que la célula hospedera pueda reconocer como propio y traducirlo en proteínas.

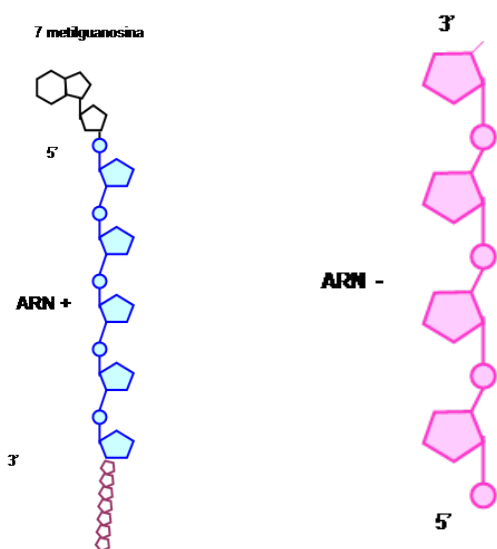
En el curso de su evolución los virus han desarrollado estrategias para expresar sus genes dentro de la célula infectada, para replicar su genoma (camino a los ácidos nucleicos), para codificar sus propias proteínas (camino a las proteínas) y para ensamblar los componentes sintetizados, dando finalmente lugar a la progenie viral.

Para recorrer el camino de las proteínas el virus debe presentar a la maquinaria biosintética celular un ARNm que la célula pueda reconocer como propio y traducirlo a proteínas

En una primera etapa el virus debe presentar a la maquinaria biosintética de la célula infectada un ARNm que la célula pueda reconocer como propio y traducirlo en proteínas. Para que la célula pueda reconocerlo como propio, el ARNm debe tener ciertas características estructurales tales como : (i) en el extremo 5' poseer una 7-metilguanosa, estructura de caperuza que protege los ARNm de la degradación enzimática y además es esencial para la traducción eficiente de proteínas, ya que permite el reconocimiento por los ribosomas como señal de iniciación de síntesis proteica , y (ii) en el extremo 3' poseer una secuencia de 200 residuos adenílicos (poli a) que estabilizan el ARNm y aumenta la eficiencia de la traducción. Las enzimas que realizan estas adiciones químicas al ARNm viral –cap y poli a- pueden ser codificadas por el virus o por genes celulares. La estructura nucleotídica descrita se denomina convencionalmente ARNm de polaridad positiva (5'→3'). Para comprender mejor, podemos imaginar un tren de muchos vagones cuya locomotora debe ubicarse en el inicio (en el extremo 5', extremo caperuza) y a medida que avanza comienza la traducción de la información contenida en los vagones (cada vagón representaría un codón o triplete de nucleótidos). En muchas familias de virus ARN , el genoma viral tiene la mencionada estructura nucleotídica y funciona directamente como ARNm; estos son los virus denominados convencionalmente virus ARN de polaridad positiva. Esta situación no ocurre en otras familias, en las que la secuencia genómica del ARN viral está en contrasentido (3'→5'), es decir la locomotora se debería ubicar al final del tren, lo que no le permitiría hacer la lectura de los vagones; a estos virus se los denomina convencionalmente virus ARN de polaridad negativa. El desafío de estos virus es entonces, sintetizar un ARNm de polaridad positiva, a partir de su información genómica. Este proceso es catalizado por la enzima ARN polimerasa ARN dependiente que necesariamente debe aportar el virus, pues la célula eucariota carece de esta vía metabólica. Este proceso de transcripción viral produce un ARNm funcional de polaridad positiva, complementario al genoma viral, que podrá ser ahora traducido en proteínas. Todos estos procesos ocurren en el citoplasma celular.

En los virus de genomas ADN que replican en el núcleo, una enzima de origen celular, la ARN polimerasa ADN dependiente tipo II produce a partir

del ADN viral el ARN de polaridad positiva. Esta molécula de ARNm sufre modificaciones químicas denominadas splicing. Durante el splicing pequeños bloques de secuencias no codificantes o intrones son escindidos con el objeto de unir las secuencias codificantes o exones. Así se logra una secuencia completa codificante. Este ARNm modificado luego es exportado al citoplasma para la traducción de proteínas.



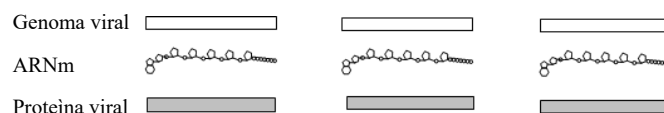
Una vez que el virus logró sintetizar un ARN de polaridad positiva (el tren con la locomotora ubicada en el extremo 5'), ¿Cómo serán leídos los vagones de ese tren? Ocurre que, una vez formado el ARNm viral la célula lo procesará como propio siguiendo los pasos metabólicos celulares: la molécula de ARNm monocistrónico se une a través del extremo 5' a la subunidad 40S ribosomal, la que se “desplaza” por la hebra nucleotídica hasta encontrar el codón de iniciación (AUG), en ese momento se acopla la subunidad ribosomal 60S y el ARN de transferencia, iniciando el proceso de traducción de codones en aminoácidos. El producto final que se obtiene es una proteína o poliproteína viral.

Todos los ARNm que traduce la célula son monocistrónicos, es decir, el ARNm es leído como un todo produciendo una única proteína; entonces, ¿cómo se adaptan los virus si la mayoría de los genomas virales son polistrónicos -codifican para varias proteínas-? Para ello pueden utilizar diversas estrategias: (a) la más simple es que su genoma se encuentre ya fragmentado- tal es el caso de las Familias Orthomyxoviridae, Paramyxoviridae, Reoviridae - posibilitando con esta estrategia la traducción de varias proteínas. (b) Llevan en su genoma varios codones de iniciación o reiniciación de lectura (codones

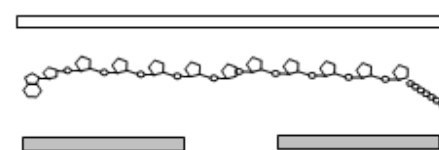
AUG) , por ejemplo en la Familia Togaviridae y (c) la poliproteína puede ser escindida por enzimas celulares en varias proteínas virales, utilizando vías metabólicas celulares preexistentes, por ejemplo en la Familia Picornaviridae.

Estrategias de traducción:

a) Genoma segmentado:



b) Codones de reiniciación



c) Corte enzimático de una poliproteína



La mayoría de las proteínas sintetizadas llevan a cabo procesos post-traduccionales: fosforilación (proteínas que se unirán al ácido nucleico), acilación de ácidos grasos (proteínas que se insertarán en la membrana) o procesos de glicosilación. Completados estos procesos bioquímicos terminales, son transportadas a diferentes compartimientos celulares: en el caso de los virus a ADN volverán al núcleo, mientras que en el de los ARN quedarán en citoplasma. Las señales que comandan este tráfico celular de proteínas virales está aún en estudio.

En general las primeras proteínas traducidas son enzimas requeridas para la replicación del ácido nucleico viral y las inhibidoras de la síntesis de componentes celulares

En general las primeras proteínas traducidas de los virus ADN y ARN de polaridad positiva son enzimas requeridas para la replicación del ácido nucleico viral, así como proteínas que inhiben la síntesis de componentes celulares. Estas proteínas no forman parte de la estructura del virión y se denominan genéricamente proteínas no estructurales y están involucradas en procesos de transcripción, replica-

ción, ensamble y regulación de la expresión del genoma celular y viral. Otras como las oncoproteínas, aumentan la expresión de genes del ciclo celular, llevando a la transformación celular. Las viroquinas son proteínas que aumentan la virulencia, inducen tropismo celular y bloquean al sistema inmune del hospedero.

Las proteínas virales sintetizadas más tardíamente (proteínas virales tardías) son en general traducidas de genomas virales hijos y forman parte de la cápside y de la envoltura viral y se denominan proteínas estructurales.

El camino al genoma viral tiene diferentes sendas, el virus deberá elegir cuál recorrer, según su genoma sea ADN ó ARN, de simple o doble cadena y de polaridad positiva o negativa

Camino al genoma ADN

Los virus que poseen genoma ADN de doble cadena transcriben y replican su información genética en el núcleo de la célula hospedera, y por lo tanto pueden utilizar las enzimas transcripcionales de la célula para generar el ARN viral. La limitación para este proceso es que las ADN polimerasas celulares para iniciar la síntesis de un nuevo ADN necesitan de un iniciador o cebador. Para sortear esto, los virus ADN han desarrollado diferentes estrategias, como por ejemplo aquellos de la Familia Papovaviridae codifican una proteína que se une al extremo del ADN que será copiado, proceso que estimula al complejo enzimático celular de la polimerasa; los virus de la familia Adenoviridae, en cambio, llevan unido al genoma viral en el extremo 5' una proteína que funciona como iniciador de la síntesis del ADN adenoviral.

El hecho de replicar en núcleo no implica necesariamente que los virus utilicen las enzimas celulares. Por ejemplo, los adenovirus utilizan una ADN polimerasa viral, sin embargo, dependen de la célula hospedera para todas las otras funciones involucradas en la replicación de su ADN. En contraparte, los virus de la Familia Herpesviridae codifican la mayoría de las proteínas para la replicación del ADN viral.

La Familia Poxviridae es una excepción al modelo replicativo de los virus a ADN, pues lo hace en el citoplasma celular; debido a esto su genoma codifica todos los factores necesarios para la transcripción y replicación genómica. Otra excepción es el virus de

la hepatitis B, que replica su genoma en el núcleo de la célula infectada, sin embargo para realizar este proceso utiliza como intermediario un ARN que es transcrito a partir del ADN genómico; a partir de este ARN molde se sintetiza el ADN viral de la progenie utilizando una transcriptasa reversa viral.

Camino al genoma ARN

La replicación de ARN viral es un evento bioquímico desconocido para las células eucariotas, por lo tanto estas carecen de las enzimas ARN polimerasas ARN dependiente responsable de la duplicación genómica. Por este motivo los virus deben llevar la polimerasa asociada a su genoma viral (virus ARN de polaridad negativa) o bien traducirla de su información genética (virus ARN de polaridad positiva). Entre los virus con genoma ARN, sólo los miembros de la Familia Reoviridae llevan la información genética en un genoma segmentado de doble cadena. Los genoma ARN de todos los otros son de simple cadena lineal, en los que la información puede estar en una sola hebra génica completa (por ejemplo picornavirus, togavirus, paramyxovirus, rhabdovirus, conoravirus, retrovirus) o segmentada (por ejemplo ortomyxovirus, arenavirus y bunyavirus). De acuerdo a las características del genoma viral, los virus despliegan diferentes estrategias para replicar su genoma. En el caso de los virus ARN de polaridad positiva, el genoma es utilizado directamente como molde o templado para la síntesis de un intermediario de la replicación que es un ARN complementario de polaridad negativa. Esta hebra génica negativa, a su vez, es el molde para la síntesis de un genoma complementario de polaridad positiva. Al igual que para los miembros de la familia Adenovirus, los picornavirus y los calicivirus llevan una proteína promotora unida covalentemente al extremo 5' de las hebras positivas y negativas de ARN.

Cuando el ARN viral es de sentido negativo, el intermediario de replicación es una hebra de sentido positivo, a partir de la que se copia un genoma viral de polaridad negativa. Los genomas virales de polaridad negativa no son infectivos por sí mismos, ya que deplectados de la polimerasa que los acompaña carecen de la maquinaria enzimática para su replicación.

La excepción de la estrategia replicativa de los virus ARN la constituyen los retrovirus, que son virus de genoma ARN diploide, formado por dos moléculas

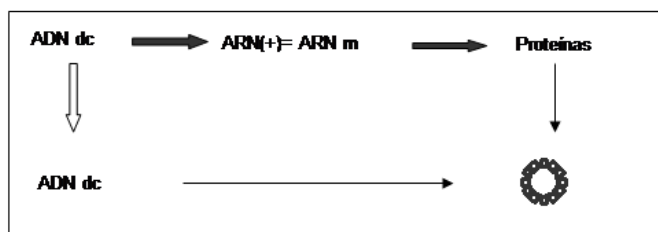
idénticas de ARN unidas en sus extremos 5'. Estos virus utilizan un ADN intermediario de replicación que sintetizan utilizando como molde la cadena genómica de ARN y una transcriptasa reversa viral. La copia de ADN es replicada obteniendo como producto una molécula de ADN de doble cadena que contiene a su vez una copia extra de secuencias nucleotídicas repetidas (LTR) que el virus utiliza para integrarse el genoma celular y para sintetizar la progenie viral, utilizando una ARN polimerasa ADN dependiente.

Como regla general, los virus a genoma RNA replican en citoplasma; siendo la excepción el virus influenza, cuya transcripción y replicación de ARN ocurre en el núcleo.

Siempre el camino de las proteínas se entrelaza con el camino de los ácidos nucleicos

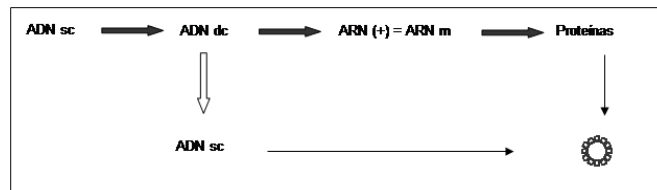
Virus con genoma ADN

La mayoría de los virus a ADN sintetizan su genoma en el núcleo de la célula y las proteínas en el citoplasma. Los poxvirus, constituyen la excepción, y sintetizan todos sus componentes en el citoplasma. En los virus con genoma ADN de cadena doble (Familias Herpesviridae, Adenoviridae, Poxviridae y Papovaviridae) el genoma sirve como modelo para la síntesis del ARNm, el que será luego traducido en proteínas. Las nuevas moléculas de ADN se sintetizan a partir de las ya existentes. Finalmente el camino de las proteínas y del genoma se unen y los componentes sintetizados se ensamblan y se liberan las nuevas partículas virales.



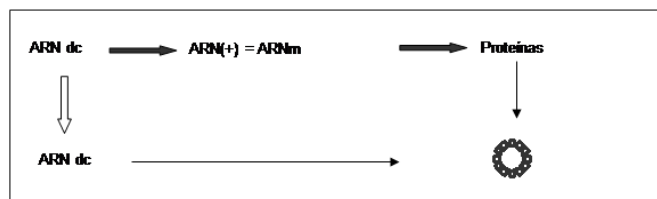
En los virus con genoma ADN de cadena simple (Familia Parvoviridae) el genoma presenta la misma secuencia de bases que el ARNm, por lo cual se debe sintetizar primero una cadena de ADN complementaria negativa para formar un ADN bicatenario. Desde este ADNdc, con la misma estrategia del modelo anterior, se formará un ARNm que será traducido en proteínas. Por otra parte desde la hebra

negativa del ADN dc se sintetizará la hebra complementaria de ADNsc (genoma hijo). Finalmente, se ensamblan las macromoléculas sintetizadas.

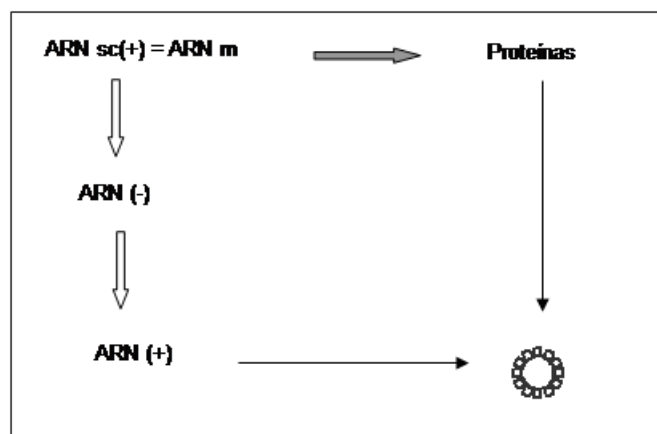


Virus con genoma ARN

En los virus con genoma ARN de cadena doble (Familia Reoviridae), una polimerasa viral transcribe la hebra negativa para la síntesis de un ARNm, el que luego será traducido a proteínas. Por otra parte, el genoma viral servirá de modelo para la formación de cadenas complementarias para formar los genomas virales "hijos" de ARN de doble cadena. El ensamble une luego estos dos caminos.



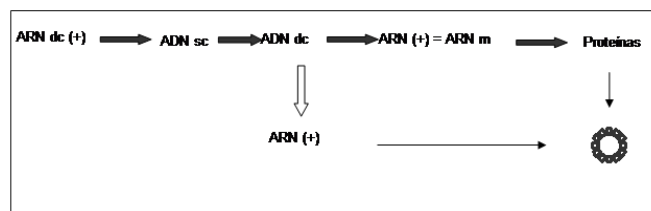
En los virus con genoma ARN de cadena positiva simple (Familia Picornaviridae, Familia Togaviridae) el genoma viral se comporta directamente como ARNm, que es traducido en proteínas. El camino del genoma se inicia con la síntesis de un ARN complementario de polaridad negativa, a partir del cual se sintetiza el ARN genómico de polaridad positiva, mediando en este proceso una ARN polimerasa ARN dependiente viral. Luego el genoma y las proteínas se ensamblan.



Los togavirus utilizan una estrategia replicativa algo diferente. Esto es, en una primera etapa sólo las dos terceras partes del ARN genómico es traducido en proteínas no estructurales, siendo la más importante la ARN polimerasa ARN dependiente. Esta polimerasa viral realiza en una segunda etapa la copia completa complementaria del genoma viral, generando una hebra de ARN (-). A partir de ésta se sintetizan hebras de ARN viral positivo que cumplirán la doble función de ser, por una parte genomas de la progenie viral, y por otra templados para la traducción de proteínas estructurales codificadas en el tercio terminal del genoma.

En los virus con genoma ARN de cadena negativa simple (Familia Paramyxoviridae, Filoviridae, Rhabdoviridae y Arenaviridae), el genoma viral es transcrito en una hebra complementaria (ARN de polaridad positiva), la que se comporta como ARNm y es traducido a proteínas. A su vez, aquel ARN de polaridad positiva es utilizado como molde para la síntesis del ARN genómico negativo.

criptasa reversa en un ADN de cadena simple; este a su vez es utilizado como molde para la síntesis del ADN de doble cadena o provirus. Este provirus se integra al genoma celular. Desde esta estructura se transcribe el ARNm y el ARN genómico de cadena simple positivo.

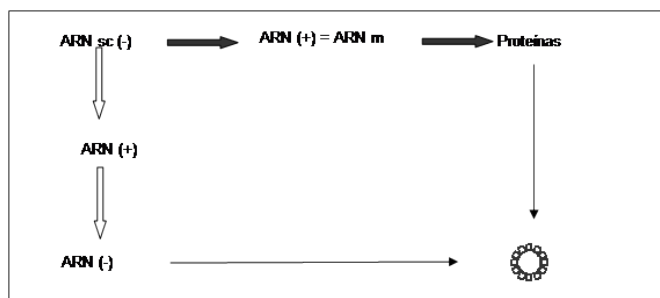


Las proteínas y los ácidos nucleicos sintetizados se ensamblan y se libera la progenie viral al espacio extracelular. Este es el modelo de una infección productiva

En el prelude del ensamble los componentes virales son transportados por caminos celulares. El movimiento de ácidos nucleicos y proteínas de un compartimento celular a otro así como la inserción de proteínas en determinadas membranas, es un mecanismo propio de las células. Los virus utilizan este mecanismo celular para transportar y ensamblar sus componentes. Para las estructuras de la “entrevida” las distancias intracelulares equivalen en una escala humana a recorrer entre 2 y 10 Km. Es así que es posible delimitar dos grandes caminos: el camino de las proteínas al núcleo y el camino de las proteínas a la membrana plasmática.

El camino de las proteínas al núcleo lo recorren las proteínas estructurales de los virus ADN, las que entran al núcleo para encontrarse con el ácido nucleico viral siguiendo el camino celular para la entrada de macromoléculas. Por este motivo las proteínas virales necesitan añadir secuencias específicas de aminoácidos que son señales de localización nuclear (SLN). Estas SLN encontrarán sus receptores en los complejos proteicos del poro nuclear para transportar las proteínas virales.

El camino de las proteínas a la membrana plasmática es utilizado por las proteínas estructurales de los virus envueltos que brotan por la membrana plasmática. Estas proteínas llegan a su destino utilizando la vía secretoria celular. Este camino es el utilizado en las células en los procesos fisiológicos y las proteínas que siguen esta vía secretoria nunca son expuestas al citoplasma celular sino que “viajan” por compartimientos delimitados por membranas, como se observa en la siguiente figura. En los primeros

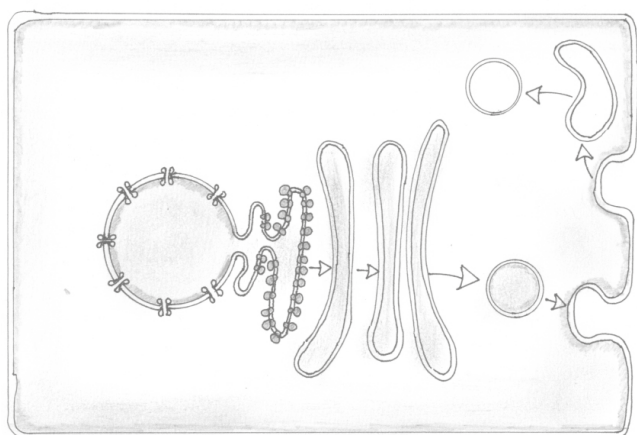


En los virus ARN de cadena negativa segmentada (Familia Orthomyxoviridae, Bunyaviridae y Arenaviridae) cada uno de los fragmentos genómicos sigue los pasos de biosíntesis de proteínas y ácidos nucleicos antes descritos. La característica común de estos virus es la posibilidad de reagrupación de sus genes, en células infectadas por más de un virus del mismo grupo. Este reordenamiento de información genética es una estrategia viral altamente efectiva para introducir nuevos tipos virales en la población humana.

El genoma de los arenavirus y de ciertas especies de bunyavirus contiene una parte de polaridad positiva y otra de polaridad negativa. La estrategia de replicación sigue el sentido de sus genomas con las características de los ARN(+) y de los ARN(-).

Los retrovirus (Familia Retroviridae) contienen ARN diploide en una cadena simple de polaridad positiva, el que es transcrito por la enzima trans-

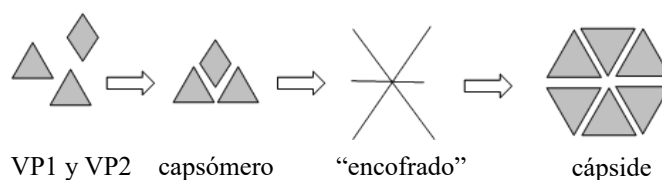
estadios de la traducción proteica los polirribosomas se unen al lado citoplásmico del retículo endoplásmico rugoso a través de un péptido de señal(1). Es así que la cadena polipeptídica que se sintetiza cae ahora dentro del lumen del retículo endoplásmico rugoso. Es aquí donde la cadena polipeptídica puede sufrir modificaciones químicas tales como glicosilación, puentes disulfuro, entre otros. Luego a través de vesículas de transporte las proteínas pasan del retículo endoplásmico al aparato de Golgi (2) donde los glúcidos de las proteínas pueden modificarse. Finalmente, las proteínas de la envoltura viral se transportan a la membrana celular a través de una vesícula de transporte (3).



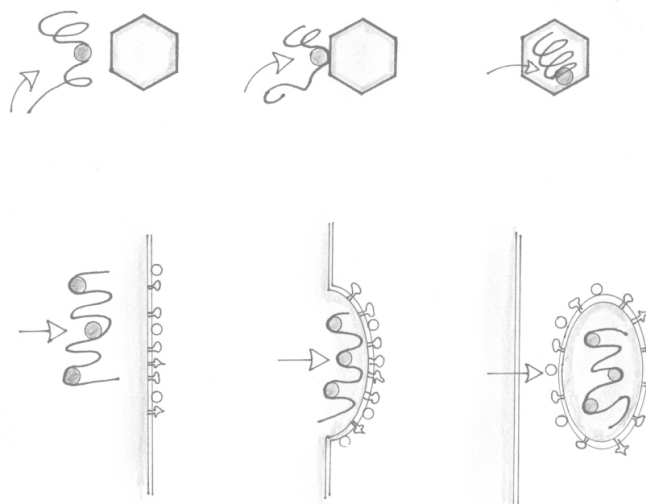
En el ensamble, el virus debe empaquetar sus estructuras y además distinguir las de las celulares. El ensamble de un virus, independiente del grado de complejidad estructural que presente, es un proceso altamente específico y coordinado entre múltiples pasos y reacciones, comparable al proceso de embriogénesis humano. Los pasos durante el ensamble viral deben ser estrictamente respetados en la construcción de la nueva partícula, ya que de ésta va a depender la continuidad del virus en la naturaleza. Además la nueva partícula debe ser construida de un modo que le permita una interacción fácilmente reversible; en el proceso que se desarrollará en otro hospedero susceptible. Distintos mecanismos le permiten resolver estas situaciones aparentemente contradictorias. Una de ellas es la participación de chaperones celulares y virales. Estas son proteínas especializadas en facilitar el plegado proteico de los polipéptidos recién sintetizados, evitando además que se asocien erróneamente a través de sus extremos “pegajosos”. Otras proteínas virales participan como “tablas de encofrado” que colocan y sostienen

en su posición a las unidades proteicas hasta lograr la adhesión entre ellas y conformar la unidad estructural final. Estas proteínas “de encofrado” son luego removidas por proteasas virales, desapareciendo de la estructura final en similitud con los procesos de apoptosis descritos en la embriogénesis .

El proceso de ensamble involucra la formación de una unidad estructural a partir de iguales o diferentes polipéptidos. En la figura se esquematiza la construcción de una unidad proteica como la unión de dos polipéptidos iguales (triángulos) con otro diferente (rombo). La unión de estos tres elementos da lugar a una unidad estructural denominada capsómero. La unión de los capsómeros forma la cápside viral.



La incorporación del ácido nucleico a la estructura proteica se denomina empaquetamiento o encapsidación. En algunos virus (genomas ARN negativos y retrovirus) las unidades proteicas se ensamblan solamente cuando están asociadas al ácido nucleico. En otros, como se esquematiza en la siguiente figura (A), el genoma se inserta en la cubierta proteica preformada; o (B) en el caso de influenza y retrovirus, las señales de empaquetamiento del ácido nucleico viral reconocen el lado citoplásmico de la membrana celular donde están insertadas proteínas virales.



La unión del camino de las proteínas con el camino del genoma viral requiere que los virus distingan ahora las estructuras propias de las celulares a fin de no equivocarse por ejemplo con el ácido nucleico celular. Esto se realiza incorporando señales de empaquetamiento en las secuencias genómicas virales las que serán reconocidas por las proteínas virales. Las dimensiones limitadas de las cápsides ya cerradas constituyen un límite estricto de espacio que condiciona la longitud del genoma a incorporar. Tan es así que los ácidos nucleicos que superan el 5 al 10% del genoma parental no serán encapsidados aún cuando posean las señales específicas.

El empaquetamiento de genomas segmentados representa otro desafío para la conformación de una estructura viral correcta, en tanto que las posibilidades de error aumentan. El ejemplo mejor estudiado es el virus influenza A, el que contiene ocho segmentos de ARN viral. La producción de una partícula viral infectiva de virus influenza requiere la incorporación de al menos una copia completa de cada uno de los 8 segmentos genómicos. Un mecanismo de empaquetamiento al azar, en un cálculo matemático de probabilidades ($8!/88$), demostró que se generaría como máximo sólo una partícula infectiva cada 400 ensamblajes. Esta relación, aunque parezca baja, está dentro del rango de partículas infectivas respecto a no infectivas que se encuentran en las preparaciones virales de los laboratorios. Por lo tanto, hasta que el mecanismo de empaquetamiento no se aclare, no debe descartarse que el virus influenza empaquete sus segmentos genómicos al azar.

De esto se desprende el concepto de que aquellos virus que no logren un apropiado ensamble no serán capaces de infectar un nuevo hospedero. Estas se denominan genéricamente partículas defectivas. En muchos casos para que se genere una partícula infectiva, el virión requiere de la incorporación de enzimas virales. Por ejemplo, los virus con genomas ARN de polaridad negativa, necesitan ensamblar a su estructura la enzima ARN polimerasa ARN dependiente. Esta enzima es sintetizada como una molécula proteica individual, que penetra en la estructura proteica ya ensamblada y se une directamente al genoma viral por uniones no-covalentes.

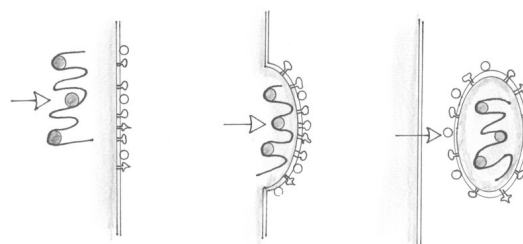
El virus abandona la célula infectada

La mayoría de los virus abandonan la célula infectada por uno de los siguientes mecanismos generales:

ellos son liberados al espacio extracelular por brotación o lisis de la célula o son transferidos directamente a una nueva célula hospedera.

Los virus envueltos en general abandonan las células infectadas por brotación a través de membranas celulares, proceso por el cual a su vez, adquieren la envoltura. La inserción de las glicoproteínas virales en la bicapa lipídica de la célula ocurre por un desplazamiento lateral de las proteínas celulares en esa porción de membrana. Las glicoproteínas se ubican exponiendo su dominio hidrofílico hacia el espacio extracelular, anclando en la porción de membrana el dominio hidrofóbico y proyectando un pequeño dominio hidrofílico en el citoplasma celular. En consecuencia, el ensamble final implica que la nucleocápside viral “embista” la membrana celular, logrando finalmente la fusión y desprendimiento de esta porción de la membrana celular.

De este modo los virus alcanzan el espacio extracelular.

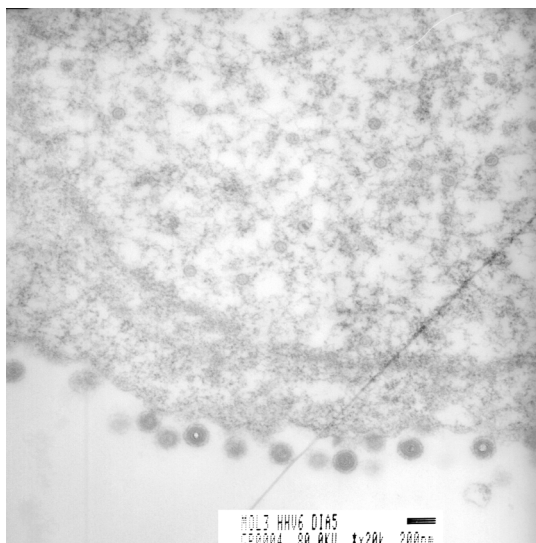


Sin embargo, los virus pueden adquirir sus envolturas a partir de membranas intracelulares. Los flavivirus, bunyavirus y coronavirus maduran por brotación a través del complejo de Golgi o por el retículo endoplásmico rugoso quedando en el interior de vesículas. Estas vesículas migran a la membrana plasmática con la que se fusionan, liberando los viriones por exocitosis.

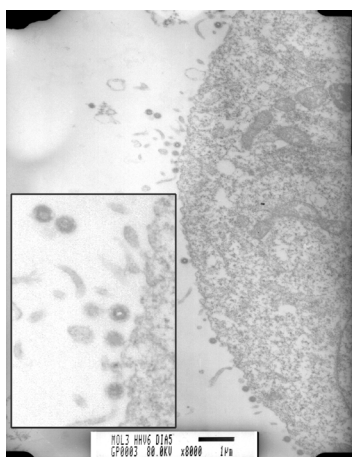
La liberación de los viriones no altera la integridad de la membrana plasmática, por lo tanto cientos o miles de viriones pueden ser liberados al espacio extracelular en pocas horas sin un daño celular significativo. En consecuencia, muchos de los virus que brotan a través de membranas plasmáticas son no citopatogénicos.

Los herpesvirus que ensamblan su nucleocápside en el núcleo celular, adquieren su envoltura y maduran en la membrana nuclear. Los viriones alcanzan el espacio extracelular por lisis celular. En células polarizadas (tienen una superficie celular apical y otra basolateral que son química y fisiológicamente dife-

rentes), los virus pueden tener afinidad por brotar a través de una de ellas o por ambas.



Microscopía electrónica de un linfocito T infectado con virus herpes 6 humano (HHV-6). Se observan nucleocápsides dentro del núcleo celular, las que adquieren su envoltura al brotar a través de la membrana nuclear. Se observa fuera de la célula las partículas virales completas.



Microscopía electrónica de un linfocito T infectado con HHV-6. En recuadro se observan las partículas virales brotando.

Los virus desnudos se acumulan en citoplasma o núcleo y son liberados por lisis celular. La destrucción de la célula ocurre por inhibición del metabolismo celular mediado por proteínas virales.

La transferencia directa de viriones de una célula infectada a otra no infectada se produce cuando las proteínas virales insertas en la membrana celular dan lugar a un fenómeno de fusión celular con las células vecinas, como en el ejemplo del virus respiratorio sincicial.

Sin embargo, no siempre se completa el ciclo de replicación, resultando entonces en una infección no productiva

Aún cuando un virus encuentre a su célula susceptible el ciclo de replicación puede interrumpirse en algunas de las etapas; abortando la infección viral y originando una infección no productiva. Por ejemplo, pueden ocurrir fallas en el clivaje de las proteínas virales o en su ensamblaje, defectos en la replicación de ácidos nucleicos.

Además, en ciertos modelos de infecciones virales, luego de ciclos de infecciones productivas, el virus realiza ciclos no productivos, con el objeto de no exponer sus proteínas al sistema inmune y persistir en su hospedero. En estos casos el genoma viral puede permanecer o persistir, integrado al genoma celular o en forma episomal libre expresando eventualmente proteínas que le permitirán proteger su genoma (proteínas no estructurales). De este modo la célula continúa con sus ciclos de mitosis, transmitiendo a su progenie: el ácido nucleico viral. En algún momento el ciclo no productivo puede por determinados estímulos iniciar ciclos de multiplicación productivos.

CAPÍTULO 4

PATOGÉNESIS DE LAS INFECCIONES VIRALES: UNA CARRERA DE POSTAS

La patogénesis estudia las rutas que recorre el virus para llegar a las poblaciones celulares y los mecanismos que utiliza para dañarlas

El órgano blanco señala el principal sitio patogénico donde replica un determinado agente.

La patogenia puede ser analizada desde una visión macroscópica o desde una visión microscópica:
En la visión macroscópica de la patogénesis los virus infectan hospederos susceptibles para perpetuarse en la naturaleza

La puerta de entrada es el inicio de una ruta patogénica

- a. La vía respiratoria es una de las principales puertas de entrada de agentes virales
- b. La puerta de entrada digestiva requiere ciertas particularidades en el virus que intente utilizarla.
- c. Las puertas genital y urinaria son un acceso utilizado por virus que suelen infectar persistentemente.
- d. Las mucosas oral y conjuntival así como una epidermis lesionada ofrecen el contacto directo como mecanismo de transmisión
- e. La puerta parenteral le permite al agente un pronto acceso a sus células blanco.

La primera base de esta carrera de postas suele ser la infección de un epitelio.

El virus utiliza frecuentemente la vía hematógica para diseminarse a células ubicadas a distancia :
La diseminación viral por vía nerviosa es una ruta de entrada al sistema nervioso central.

Diseminación viral por vía transplacentaria es la ruta de acceso al feto:
En la visión microscópica, cuando el virus replica en su célula hospedero, las huellas que deja depende del modelo de parasitismo establecido

La existencia de rutas patogénicas comunes a nivel celular caracteriza diferentes modelos de infección

1. En el modelo de infección viral productiva se generan partículas virales completas:
2. En el modelo de infección viral no productiva se expresan sólo algunas proteínas:

La evolución del parasitismo celular puede ser limitada o prolongarse durante un período de tiempo

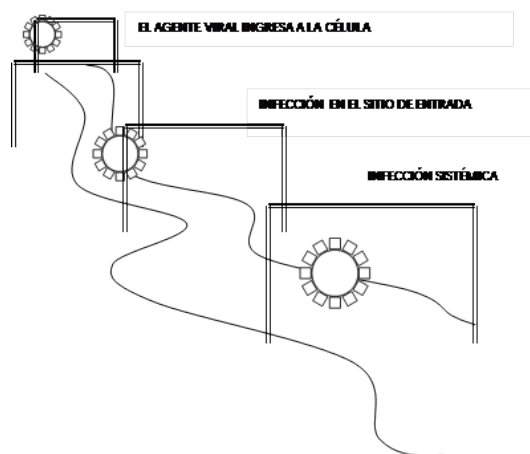
1. En las infecciones agudas el virus establece un parasitismo breve:
2. En las infecciones persistentes el virus establece un parasitismo prolongado:
 - 2.1 Las infecciones latentes son aquellas en las que parasitismo prolongado puede tener episodios agudos de reactivación
 - 2.2. En las infecciones crónicas la presencia de partículas virales es constante y demostrable:
 - 2.3 Algunos virus integran su ácido nucleico al genoma celular

La patogénesis estudia las rutas que recorre el virus para llegar a las poblaciones celulares y los mecanismos que utiliza para dañarlas

La complejidad estructural y fisiológica, ligada al desarrollo evolutivo de los organismos pluricelulares, obliga a los virus a sortear una serie de barreras en el hospedero para lograr replicarse en poblacio-

nes celulares susceptibles. La patogénesis viral se refiere a aquellas rutas que recorre un agente viral para alcanzar las células susceptibles y a los mecanismos utilizados por el virus para dañar esas poblaciones celulares. Este daño puede traducirse en signos y síntomas que caracterizan una determinada enfermedad en el hospedero infectado y puede el daño ser diferente en cada uno de los sitios o niveles donde llega el virus. En cada uno de estos niveles patogénicos, el virus deberá ir superando distintos obstáculos tales como: las barreras anatómicas, la respuesta inmune, y la biología de la célula hospedero, para avanzar el siguiente nivel. Como en una carrera de postas el testimonio se va posicionando en las diferentes bases a medida que el deportista avanza.

Cuando todos los niveles patogénicos son completados se puede producir la enfermedad o muerte del hospedero; mientras que la falla para superar alguna o algunas barreras puede significar la imposibilidad de infectar, o una infección abortiva o una no productiva.



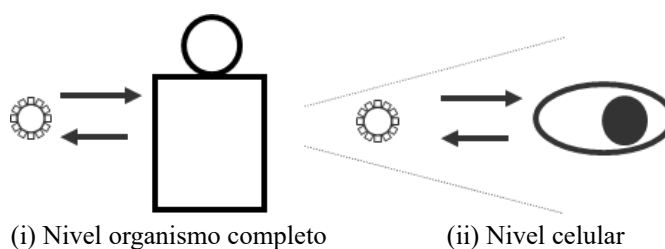
Es importante destacar que si el virus logra establecer con el hospedero la simbiosis parasitaria, el evento de “la enfermedad o muerte del hospedero” debe ser interpretado como un hecho relativamente inusual en la historia natural en la mayoría de las infecciones virales. Es así que la infección viral en el hospedero es un gradiente biológico que varía desde una infección subclínica (sin enfermedad) a una infección clínica (enfermedad: signos y síntomas característicos) y la muerte del hospedero. Este gradiente biológico puede ser dibujado como un hipopótamo, en donde la infección clínica se encuentra por encima del límite de agua, quedando por debajo las infecciones inaparentes o subclínicas que constituyen en general la mayor parte del animal.

El órgano blanco señala el principal sitio patogénico donde replica un determinado agente

Algunos virus infectan preferentemente determinados órganos, estos son denominados órganos blanco. El órgano blanco señala el principal sitio patogénico donde replica un determinado agente, aún cuando para acceder a este órgano haya sido necesario que el virus, en su ruta patogénica, replique en otros sitios del hospedero. El concepto de enfermedad con signos y síntomas característicos está unido al de órgano blanco: el daño funcional provocado por la replicación viral produce la clínica característica.

La patogenia puede ser analizada desde una visión macroscópica o desde una visión microscópica:

Los niveles patogénicos de una infección viral pueden ser analizados desde una visión macroscópica o desde una visión microscópica. En la primera visión se analiza el organismo completo, estudiando las rutas utilizadas por un virus para alcanzar las poblaciones celulares blanco analizando el organismo completo; en la segunda visión se analiza el nivel celular, estudiando los mecanismos utilizados por los virus para dañar a la célula. Es posible entonces definir dos niveles diferentes: (i) nivel organismo completo, y (ii) nivel celular; este último incluido en el primero, ya que los daños celulares se traducirán en alteraciones estructurales y/o fisiológicas de los órganos o sistemas del hospedero infectado.



Esta división presenta dos conceptos inclusivos: el nivel celular se encuentra incluido en el nivel organismo completo.

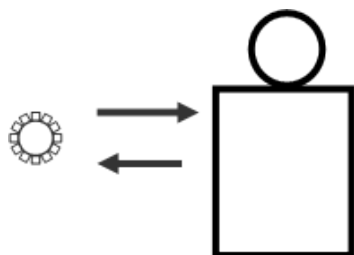
Cuando el estudio se realiza a nivel del organismo completo, la patogénesis estudia :¿cómo un virus entra al hospedero?, ¿dónde el virus inicia su ciclo de replicación?, ¿cómo se disemina en el hospedero?, ¿qué órganos y tejidos va a infectar? y ¿cómo va a ser transmitido?. A nivel celular los interogan-

Capítulo 4

Patogénesis de las infecciones virales:...

tes son : ¿cuál es la naturaleza del receptor viral en la célula hospedero?, ¿cuál es el mecanismo por el cual los virus entran a esa célula?, ¿cómo la infección viral altera las funciones celulares? y ¿cuáles son los mecanismos por los cuales los virus abandonan las células infectadas?

En la visión macroscópica de la patogénesis los virus infectan hospederos susceptibles para perpetuarse en la naturaleza



Desde una visión macroscópica de la relación agente-hospedero, los virus para perpetuarse en la naturaleza infectan a un hospedero susceptible, amplifican sus ácidos nucleicos y proteínas en células y salen del hospedero en la búsqueda de un nuevo susceptible. En este hospedero susceptible la infección puede quedar localizada en el sitio de entrada (infección localizada) o diseminarse en su organismo (infección sistémica).

Más allá de la gran variedad de virus y hospederos, existen puntos y estrategias comunes en estas rutas patogénicas, tales como:

1. Puerta de entrada del agente
2. Tropicismo celular
3. Replicación viral
4. Daño o alteración celular
5. Respuesta inmune del hospedero
6. Puerta de salida

En este capítulo nos vamos a detener en los conceptos: puerta de entrada, tropismo celular, daño o alteración celular y puerta de salida del agente.

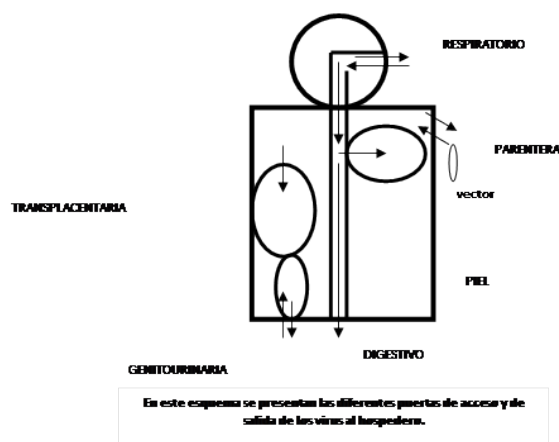
La puerta de entrada es el inicio de una ruta patogénica

La puerta de entrada es un concepto complejo que involucra la vía de acceso del agente al hospedero, el sitio donde el virus encuentra su primera célula susceptible, un mecanismo determinado de transmisión y el inicio de una ruta patogénica en particular. La puerta de entrada puede ser a veces la misma vía que utiliza el agente para salir del hospedero

infectado y alcanzar a otro hospedero susceptible (puerta de salida).

Los virus de acuerdo a sus características biológicas utilizan diferentes puertas de entrada y de salida del hospedero. Esto define distintos mecanismos de transmisión del agente:

1. Respiratoria
2. Digestiva
3. Genitourinaria
4. Piel y mucosas
5. Transplacentaria
6. Parenteral



a. La vía respiratoria es una de las principales puertas de entrada de agentes virales

El tracto respiratorio es una de las principales puertas de entrada de agentes virales, que llegan al hospedero susceptible bajo la forma de aerosoles, provenientes de gotitas de saliva, de estornudos o de tos eliminados por el hospedero infectado. Sin embargo, en el tracto respiratorio hay mecanismos naturales de defensa, con funciones de barreras primarias que intentan evitar la entrada de agentes infecciosos, tales como:

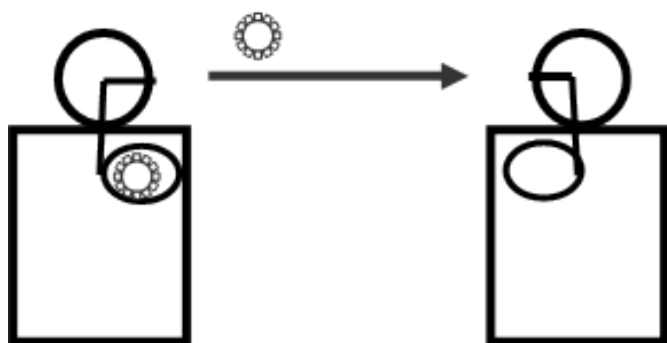
1. Las células epiteliales ciliadas, que están en permanente movimiento para expulsar materiales extraños
2. Las células secretoras de mucus, el cual engloba las sustancias extrañas que ingresan al epitelio respiratorio.
3. Los macrófagos alveolares.
4. La inmunoglobulina A secretoria.
5. La baja temperatura en el tracto respiratorio superior.

Capítulo 4

Patogénesis de las infecciones virales:...

A pesar de estas barreras anatómicas, fisiológicas e inmunológicas, muchos agentes virales (adenovirus, influenza, parainfluenza, respiratorio sincicial, sarampión y rinovirus, entre otros) logran vencerlas e inician la infección del tracto respiratorio. En contrapartida a las barreras del hospedero, las propiedades físico-químicas y la estructura del virión tienen influencia sobre la estabilidad de los virus en los aerosoles.

En general los virus que tienen como puerta de entrada la vía respiratoria, también la utilizan como puerta de salida, lo que caracteriza el mecanismo de transmisión de la vía respiratoria. Los virus que ingresan por esta vía, en general, establecen infecciones localizadas cercanas al sitio de ingreso o bien se diseminan localmente. Por ejemplo el virus respiratorio sincicial y el virus influenza pueden diseminarse desde los bronquios a los alvéolos pulmonares.



Transmisión por vía respiratoria

b. La puerta de entrada digestiva requiere ciertas particularidades en el virus que intente utilizarla.

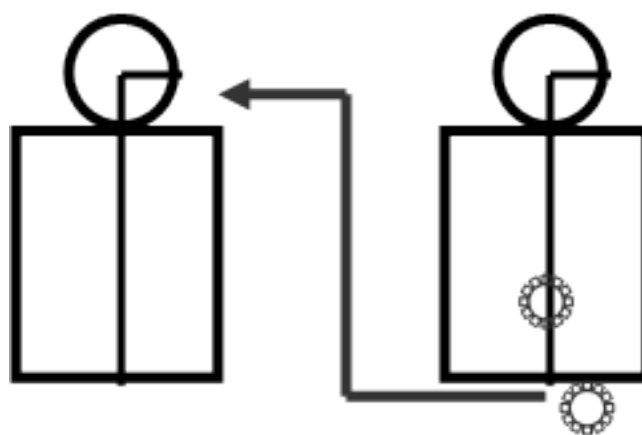
La parte media del tracto gastrointestinal es extremadamente inhóspita para ser colonizada por microorganismos, ya que posee mecanismos naturales de defensa tales como:

1. Un pH menor o igual a 2, originado por el ácido clorhídrico secretado por las células parietales gástricas.
2. Las proteasas secretadas por las células gástricas y pancreáticas.
3. Las sales biliares, que llegan al duodeno por el tracto biliar.
4. El mucus, secretado por células gástricas e intestinales.

5. La inmunoglobulina A específica.

Para que un virus pueda iniciar la infección debe ser altamente estable en medio un ácido y, además, resistente a sales biliares y enzimas proteolíticas. Muchos virus, en contrapartida, han evolucionado logrando una mejor adaptación al hospedero, de modo que el mecanismo proteolítico facilite la infección a la célula hospedero. Un ejemplo de este último concepto, lo constituyen astrovirus y rotavirus que requieren de una enzima proteolítica (tripsina, pancreatina o elastasa) para poder infectar las células intestinales.

En general los virus que utilizan como puerta de entrada el tracto gastrointestinal tienen como puerta de salida la misma vía, lo que corresponde al mecanismo de transmisión boca-año-boca.



Mecanismo de transmisión ano-boca

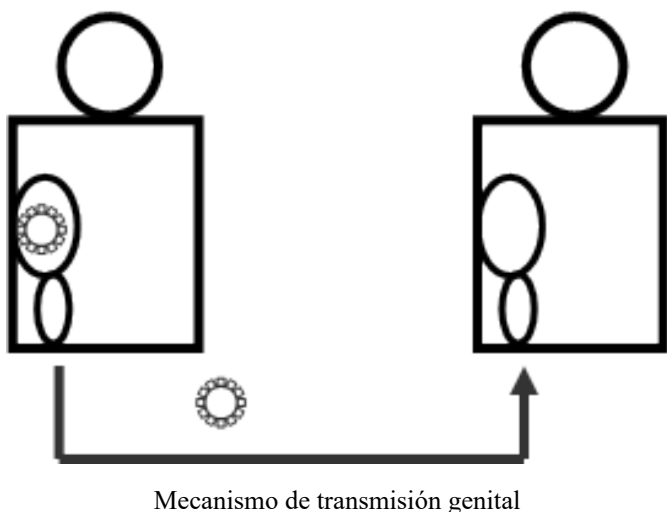
c. Las puertas genital y urinaria son un acceso utilizado por virus que suelen infectar persistentemente.

Muy poco se conoce sobre los factores del hospedero que facilitarían la invasión viral por el tracto génito urinario, pero es de suponer que los virus para acceder al lugar deben vencer barreras del hospedero tales como mucus cervical, pH de las secreciones vaginales, y la composición química de la orina. Estos virus suelen infectar persistentemente al hospedero.

La actividad sexual puede producir pequeñas áreas donde se pierde la solución de continuidad de las mucosas del tracto genital, que posibilitaría la entrada de un virus. Ejemplos son los virus de la inmunodeficiencia humana, el virus herpes simplex, el virus papiloma y virus de la hepatitis B, entre otros, que acceden a través de las mucosas.

Por otra parte, el filtrado glomerular de la sangre vi-

rémica lleva al virus a la orina, desde donde puede ser aislado en algunas ocasiones, como sucede por ejemplo con el virus polio BK, el virus sarampión, el virus rubeola, citomegalovirus y adenovirus.

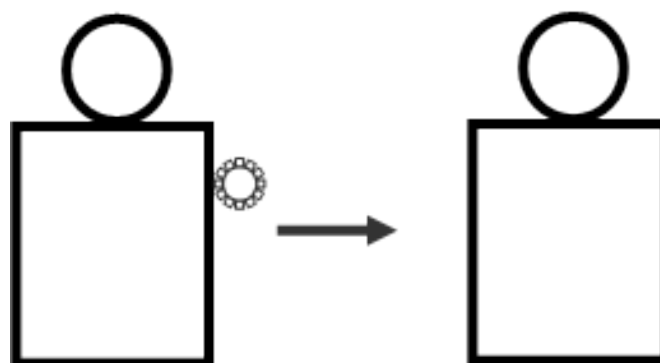


d. Las mucosas oral y conjuntival así como una epidermis lesionada ofrecen el contacto directo como mecanismo de transmisión

El contacto directo es el mecanismo de transmisión en las infecciones que tienen como puertas de entrada tanto las mucosas oral y conjuntival así como una lesión de la epidermis. La entrada del agente infeccioso se produce por una pérdida de la integridad de la barrera epidérmica o por el contacto del agente con la superficie de las mucosas. La capa externa de la epidermis está compuesta por células muertas queratinizadas del estrato córneo, relativamente impermeables, en las que el virus no puede replicar. Por lo tanto, sólo cuando se produce un daño a nivel epidérmico puede ingresar, alcanzando entonces las células con vida de la epidermis. En las mucosas oral y conjuntival en cambio la situación es diferente, la superficie en contacto con el exterior está formada por células con vida en un medio húmedo. Algunos ejemplos son el virus papiloma humano, el virus herpes simplex y el virus varicela-zoster.

La principales barrera para evitar la entrada de agentes infecciosos por vía conjuntival es la lubricación permanente de los ojos por las lágrimas. Ejemplo de virus que infectan la conjuntiva ocular son algunos serotipos de adenovirus, que producen la queratoconjuntivitis epidémica y conjuntivitis de piletas de natación, y el enterovirus 70 responsable de la conjuntivitis aguda hemorrágica. Por otra par-

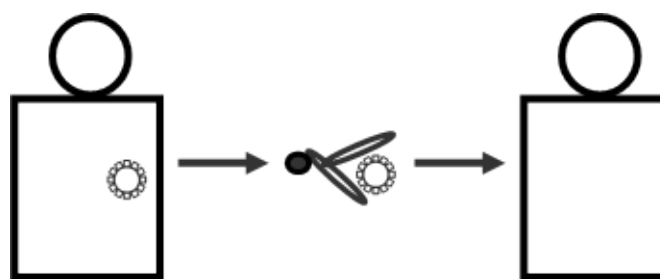
te la conjuntivitis ocular puede ocurrir luego de la fase virémica de una infección, siendo en este caso la conjuntiva un órgano blanco secundario en la infección sistémica. Un ejemplo es la conjuntivitis característica de la infección por el virus sarampión.



e. La puerta parenteral le permite al agente un pronto acceso a sus células blanco.

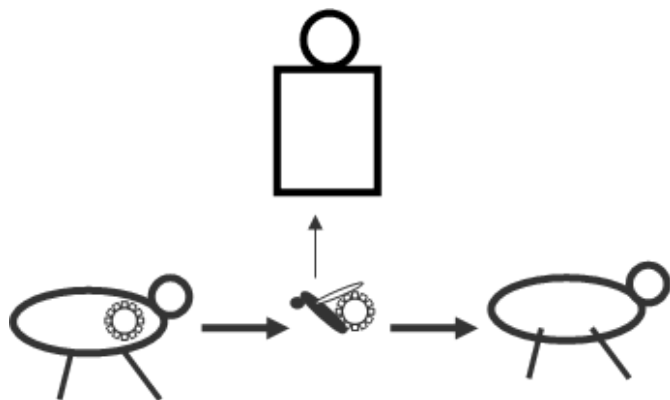
La entrada de virus también puede ocurrir por vía parenteral, a través de inyecciones, acupuntura, tatuajes o mordeduras de animales infectados, llegando el virus directamente al tejido subcutáneo o muscular. Ejemplo de esto son el virus de la rabia, el virus de la inmunodeficiencia humana, y los de la hepatitis B y C.

Otra situación por la picadura artrópodos infectados, en cuyo caso los virus llegan a la dermis accediendo a vasos sanguíneos, linfáticos o células dendríticas, para luego diseminarse a otros órganos; ejemplo de este mecanismo de transmisión son los virus dengue y de la fiebre amarilla. En estos casos el artrópodo (vector) propaga la infección entre un vertebrado enfermo y otro susceptible.



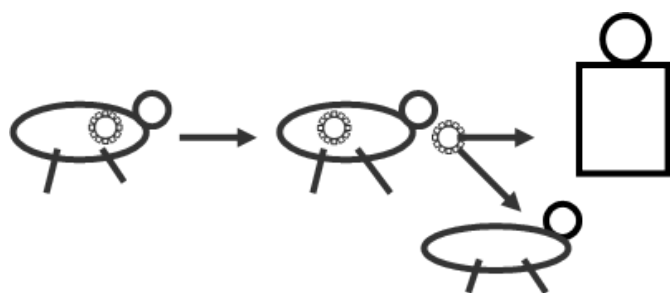
En otros casos el hombre es un hospedero accidental en un ciclo biológico de circulación de virus entre

otros vertebrados y el vector. Por ejemplo los virus de las encefalitis equinas, en cuyos ciclos de transmisión están involucrados: un vertebrado infectado (caballos o roedores, por ejemplo) que es picado por un mosquito (artrópodo), el que a su vez, transmite la infección a otro vertebrado y ocasionalmente al hombre.



Ciclo de transmisión vertebrado infectado-artrópodo-vertebrado susceptible

Otro ejemplo de transmisión por vía parenteral es a través de la mordedura de un animal infectado. Este es el mecanismo de transmisión del virus de la rabia, cuyo ciclo selvático se desarrolla entre vertebrados infectados como murciélagos, zorros, monos, etc., mientras que el ciclo urbano de la rabia involucra al hombre como hospedero terminal en la cadena de transmisión cuando es mordido por un animal infectado.



Finalmente, la piel es un órgano al que pueden llegar virus por vía sanguínea, es decir, luego de la fase virémica, el agente encuentra a este órgano blanco como un nivel patogénico más. Ejemplos son la infección por el virus sarampión, virus varicela-zoster y virus herpes simplex.

La primera base de esta carrera de postas suele ser la infección de un epitelio.

La primera población celular que infecta un virus, siempre que no ingrese por vía parenteral, es la epitelial, bien se trate de mucosas o de la capa basal de los epitelios queratinizados. Al llegar el virus a células susceptibles, utiliza diferentes estrategias según las características estructurales y fisiológicas de la población celular que infecta. De este modo, si se encuentra con células epiteliales polarizadas, algunos virus brotan preferencialmente por la superficie apical, mientras que otros lo hacen por la zona basal celular. Esto puede influenciar en el modelo patogénico de infección que va a seguir el virus, definiendo si la infección será localizada o sistémica. De este modo, si la brotación del virus se realiza exclusivamente hacia la superficie luminal, favorece el establecimiento de una infección localizada; mientras que si el virus brota hacia la superficie basal es muy probable que invada la mucosa subyacente y acceda fácilmente a los vasos sanguíneos o linfáticos, lo que posibilitará la infección sistémica. Cabe aclarar que no todos los virus tienen un modelo determinado de salida en células polarizadas, algunos incluso como el virus polio responden a un modelo bidireccional.

Otros virus producen el daño celular en las proximidades de su puerta de entrada. En estos casos la diseminación del agente ocurre principalmente como resultado de la infección contigua de las células adyacentes originando infecciones localizadas.

Por el contrario, los virus que utilizan las células susceptibles de la puerta de entrada para una primera replicación y luego a través del sistema linfático, sistema sanguíneo o sistema nervioso periférico se diseminan alcanzando su órgano blanco originan infecciones sistémicas.

Las infecciones sistémicas son entonces una consecuencia de la diseminación del virus a través de diferentes rutas, que posibilitan su acceso a órganos y tejidos lejanos al sitio de ingreso al hospedero. Las infecciones sistémicas pueden tener diferentes rutas de diseminación, tales como:

1. Vía hematológica
2. Vía nerviosa
3. Vía transplacentaria

El virus utiliza frecuentemente la vía hematológica para diseminarse a células ubicadas a distancia :

La secuencia de eventos que ocurren más frecuentemente es que el virus, luego de haber replicado en su sitio de entrada, alcanza los nódulos linfáticos periféricos, desde donde accede a los eferentes linfáticos, al ductus torácico y a la circulación sistémica.

La replicación viral en el sitio primario de infección se caracteriza por producir una viremia de bajo título infectivo, que tiene como objeto amplificar el inóculo viral inicial para asegurar que el virus pueda alcanzar otros sitios - por ejemplo células del sistema reticuloendotelial- donde vuelve a replicar, logrando alcanzar ahora un título infectivo alto, que asegure su recorrido a través del torrente sanguíneo. Una vez que el virus ha alcanzado la circulación sanguínea, puede viajar libre en el plasma o dentro de elementos celulares.

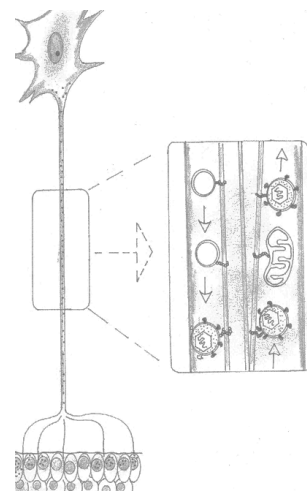
Cuando el virus ingresa al compartimento sanguíneo, diferentes mecanismos del sistema inmune se activan para intentar remover el virus circulante. Por lo tanto, la magnitud de la viremia será el resultado de una interacción dinámica entre la cantidad de virus en sangre y la eficiencia con la que es removido por el sistema inmune. A su vez, el nivel y la duración de la viremia dependen de múltiples factores del hospedero y del virus en particular, como por ejemplo el tamaño de las partículas virales, la composición química de la membrana viral, el modelo de interacción entre el virus y los macrófagos del sistema retículo endotelial, el nivel de anticuerpos específicos en el hospedero y la capacidad del agente para infectar células del endotelio vascular, entre otros. Los virus desde la sangre pueden acceder luego a sus órganos blanco.

La diseminación viral por vía nerviosa es una ruta de entrada al sistema nervioso central.

Los agentes que acceden al sistema nervioso central (SNC) deben tener en algún momento una fase virémica o bien hacer contacto con el sistema nervioso periférico. Es así que las vías de acceso al SNC son la vía neural y la vía hematógena.

En la diseminación por la vía neural el virus debe obligadamente replicar en las terminaciones sensitivas o motoras y desplazarse dentro de los axones como si fuese una organela celular. El transporte axonal rápido es un sistema de movimiento bidireccional - basado en microtúbulos- de desplazamiento de las organelas membranosas; la velocidad de este transporte alcanza los 200 a 400 mm diarios. Este

sistema fisiológico celular es utilizado por diferentes agentes virales para alcanzar el sistema nervioso, partiendo de un sitio primario de replicación que puede ser mucosas o piel. Ejemplos lo constituyen los virus rabia, herpes simplex y varicela-zoster.



En una neurona infectada por virus herpes simplex las partículas virales se desplazan por transporte axonal anterógrado por el axón y las dendritas para reactivar la infección en la mucosa

El virus rábico luego de replicar en las células musculares (sitio de entrada por la mordedura) alcanza por vía axonal al sistema nervioso central, desde donde a su vez, se disemina de un modo centrípeto a las glándulas salivales, papilas de la lengua, córnea, retina y folículos pilosos, principalmente. El virus varicela-zoster por su parte, se disemina a piel por vía hematógena y produce la clásica lesión de varicela y luego viaja a través de los axones al sistema nervioso, donde permanece latente durante toda la vida del hospedero. En su fase de reactivación el virus varicela-zoster utiliza la vía inversa: desde el sistema nervioso central inicia sus ciclos replicativos y alcanza la piel, produciendo las lesiones características del herpes zoster.

La vía del nervio olfatorio constituye un mecanismo particular en donde a partir del epitelio de la mucosa nasal los agentes antes mencionados pueden acceder al nervio olfatorio y al sistema nervioso central. La infección de las células de Schwann, de los linfáticos perineurales y del espacio endoneural, constituyen otros sitios a partir de los cuales los agentes virales pueden llegar al sistema nervioso central.

Los virus también pueden alcanzar el sistema nervioso central a través de la vía hematógena, por un camino que no resulta fácil. La barrera hematoencefálica hace necesario que el agente infecte el endo-

telio vascular o bien acceda a través de las fenestraciones del plexo coroideo. Los elementos celulares infectados representan otro mecanismo de ingreso. De este modo la invasión del sistema nervioso central por vía hematogena requiere una secuencia de eventos que involucran la infección de tejidos extraneurales, células de la sangre y de las membranas que separan el cerebro del fluido sanguíneo. Algunos ejemplos de los agentes que pueden ingresar por esta vía son virus herpes simplex, enterovirus, parotiditis, arbovirus y virus sarampión.

Las poblaciones celulares del sistema nervioso central tienen una susceptibilidad diferente a los agentes virales. Aún cuando el virus herpes simplex puede infectar todos los tipos celulares, el virus polio muestra un tropismo particular por la neurona motora de la médula espinal y el virus rábico por el sistema límbico.

Diseminación viral por vía transplacentaria es la ruta de acceso al feto:

Durante la fase virémica de la infección, determinados agentes virales también pueden atravesar la barrera placentaria y llegar al feto. Para lograrlo, la viremia tiene que ser importante en magnitud y duración a fin que el virus logre vencer las barreras de las membranas placentarias, que separan la sangre materna de la fetal, e ingresar al torrente sanguíneo fetal. Es necesario también considerar que la infección viral por sí misma puede alterar la función fisiológica de las membranas placentarias. Por ejemplo, en la infección por el virus rubeola, es posible observar focos celulares dañados en el epitelio coriónico y en las células endoteliales de los vasos sanguíneos fetales. Las consecuencias de la infección viral en el feto dependerán del estadio del desarrollo fetal, de las células fetales susceptibles a la infección viral y de las alteraciones celulares producidas. En este caso, si las alteraciones no involucran la muerte de la célula se establece una infección persistente con defectos congénitos severos. Ya en el año 1941 Sir Norman Gregg expresaba: La alta frecuencia de la asociación de cataratas y alteraciones cardíacas congénitas me hace pensar en un factor causal común. ¿No sería este factor algo tóxico o infeccioso que produce un freno parcial en el desarrollo fetal?. Esta fue la primera observación que permitió relacionar la primoinfección por virus rubeola en la mujer embarazada y alteraciones con-

génitas en el feto.

El virus herpes simplex, otro ejemplo de infección congénita, produce un efecto citolítico en un amplio rango de células neuronales llevando a la muerte fetal.

En la visión microscópica, cuando el virus replica en su célula hospedero, las huellas que deja depende del modelo de parasitismo establecido

¿Qué efectos puede producir la infección viral en la célula?



El primer paso para establecer la relación simbiótica parasitaria entre el hospedero y el virus es la adsorción del virus a la superficie de la célula hospedero. Este proceso tiene lugar mediante la colisión al azar del virión con una proteína receptora de la membrana plasmática celular. Debido a que la capacidad de un virus para infectar una célula depende en gran medida de su capacidad para unirse a dicha célula, la distribución de estas proteínas receptoras desempeña un papel crucial en la especificidad de tejidos y hospederos de los virus animales. Por ejemplo, los receptores del virus polio se encuentran en la nasofaringe, en el intestino, y en las células del asta anterior de la médula espinal, de este modo el virus polio sólo podrá infectar a las células de la nasofaringe, del intestino y del asta anterior de la médula espinal. Por otra parte existen receptores del virus del sarampión en la mayoría de los tejidos, lo que le permitirá un amplio rango de poblaciones celulares. Estas diferencias en la distribución de los receptores contribuyen a explicar la diversidad de sus modelos patogénicos.

La lista de potenciales receptores celulares para virus es muy amplia, pero en términos generales se puede establecer que :

1. Diferentes virus pueden utilizar la misma estructura celular como receptor. Por ejemplo, los residuos de ácido siálico son componentes muy importantes de la estructura del receptor para los virus influenza A y B; y los gangliósidos, para el virus rábico y ciertos paramixovirus. Recientemente, un grupo de científicos reveló que la estructura tridimensional de

la proteína de fusión del virus sarampión, que posee una forma de arpón que le permitiría anclarse en la célula hospedero, tiene similitudes estructurales con las proteínas de fusión del HIV, del virus influenza y del virus Ebola. Estas similitudes estarían revelando un ancestro común en su historia evolutiva, así como mecanismos similares de agresión al hospedero.

2. Ciertas moléculas de la superficie celular, que cumplen un papel funcional en la célula, son utilizadas como receptores celulares por el virus. Por ejemplo: el receptor para el virus del sarampión (CD46) y herpes 6 humano, es una proteína de membrana que regula la activación de componentes del complemento.

3. Algunos virus interactúan con más de una molécula receptora, por ejemplo el virus del sarampión que, además de utilizar el receptor CD46, necesita interactuar con la moesina.

Para todos los virus, es esta unión virus-receptor celular la primera etapa de una secuencia de eventos que hará posible que el genoma viral llegue al compartimiento intracelular para iniciar la replicación de su material genético y obtener como resultado la progenie viral.

Una vez que el virus logra ingresar a la célula, la visión microscópica de la relación agente-hospedero puede estudiar la multiplicación del virus o bien el resultado de este proceso, aspecto en el cual nos vamos a detener. Cuando el virus replica en su célula hospedero, las huellas que deja son diferentes para cada agente y dependen tanto del virus como de la célula, en una interacción genética y proteica compleja.

Clásicamente se ha asumido que los virus matan a las células al apoderarse de su maquinaria de transcripción y traducción, alterando la integridad de la membrana celular. Es decir la célula es acosada y asesinada por el virus y muere por necrosis ya que pierde la integridad de la membrana celular y el DNA se degrada al azar. Este colapso del metabolismo celular es el resultado de la interrupción de vías metabólicas de las proteínas y la reducción de la transcripción del ARNm celular. Este mecanismo es utilizado por los pircornavirus y adenovirus. A su vez, los adenovirus codifican proteínas estructurales, entre ellas las proteínas del pentón, que se acumulan en las células infectadas produciendo una altísima citotoxicidad y por ende, la muerte celular.

Otro mecanismo que desencadena la muerte celular es mediante la inserción de proteínas virales en la membrana de la célula infectada. Esto induce un cambio en la permeabilidad celular que lleva a la pérdida del equilibrio osmótico. Finalmente, la alteración de la homeostasis es otro mecanismo que lleva a un daño celular irreversible, por ejemplo los rotavirus y citomegalovirus producen un aumento del calcio intracelular que altera la membrana plasmática produciendo la muerte celular.

Mientras resulta claro que ciertos virus acosan con su parasitismo el metabolismo celular, otros parecen matar las células activando un mecanismo de suicidio celular o muerte celular programada denominada apoptosis. La apoptosis es un mecanismo fisiológico utilizado en los organismos multicelulares para la eliminación de aquellas células cuya utilidad ha finalizado, o bien, son en ese momento peligrosas. Por ejemplo, durante el desarrollo embrionario, numerosas poblaciones celulares mueren por apoptosis: tal es el caso de las células ubicadas en los espacios interdigitales durante la embriogénesis de la mano, ciertas poblaciones neuronales en la maduración del sistema nervioso, los linfocitos autoreactivos y los linfocitos citotóxicos al eliminar sus células blanco, entre otros. Numerosos genes celulares modulan la apoptosis, en especial la familia de genes bcl-2. Las células que mueren por apoptosis presentan un patrón característico de condensación de la cromatina nuclear en la periferia del núcleo, producido por las endonucleasas celulares que cortan el ADN en fragmentos de 180-200 pares de bases. La membrana plasmática de la célula apoptótica permanece intacta, en ella aparecen unas formaciones que semejan "ampollas" (cuerpos de apoptosis) desde donde brota material citoplasmático y/o material nuclear.

Las proteínas virales pueden modular la vía apoptótica induciendo o inhibiendo la muerte celular programada. Algunos virus codifican genes que inhiben la vía apoptótica, lo que le permitiría al virus completar su ciclo de replicación antes que la célula finalice su vida. Otros virus han adquirido genes homólogos al gen bcl-2, como en el caso del herpesvirus saimiri (virus simiano), revelando la importancia de la anti-apoptosis en algunos mecanismos patogénicos. Otros ejemplos son ciertas proteínas del virus de Epstein-Barr, de citomegalovirus y de adenovirus.

En contraste, algunos virus necesitan replicarse en

células apoptóticas, quizás en parte porque su ciclo replicativo se completa justo antes de la muerte celular. Por ejemplo la proteína tat del virus de la inmunodeficiencia humana induce la apoptosis de los linfocitos T luego de la unión de la proteína viral gp120 al receptor CD4. Finalmente, la muerte celular programada puede ser un importante mecanismo de defensa del hospedero, mediante el cual elimina las células infectadas e impide la diseminación del agente.

Antes de la muerte, la célula puede experimentar diferentes cambios visibles al microscopio óptico, tales como la aparición de cuerpos de inclusión, que corresponden a áreas celulares con acumulación de proteínas virales o cambios en la membrana celular por acumulación de antígenos virales. A su vez, los antígenos presentes en las membranas celulares pueden actuar como agentes de fusión de membranas llevando a la formación de células gigantes multinucleadas (sincicios celulares). Estos cambios en la fisonomía celular se denominan efecto citopático del virus, y son la primera herramienta de aproximación para el diagnóstico virológico.

La existencia de rutas patogénicas comunes a nivel celular caracteriza diferentes modelos de infección

Los modelos de infección se definen como rutas patogénicas comunes a diferentes agentes virales. Diferentes modelos de infección celular son utilizados, en ciertas circunstancias, por un mismo agente y representan el resultado de una particular relación virus-célula producida en ese momento y mantenida luego en un corto o prolongado período de tiempo. Algunos modelos pueden identificarse según el ciclo viral conduzca o no a la producción de partículas virales, asegurando de este modo su progenie a través mecanismos distintos. Es así que pueden caracterizarse las infecciones virales en productivas y no productivas.

1. En el modelo de infección viral productiva se generan partículas virales completas:

Algunos agentes virales llevan a cabo en la célula hospedero un ciclo viral completo, expresando tanto los genes que codifican para las proteínas virales reguladoras como así también aquellos que lo hacen para las proteínas virales estructurales (proteínas de la cápside, del core, de la envoltura). El resultado fi-

nal es la multiplicación de partículas virales. El modelo de infección viral productiva ocurre en células permisivas, es decir en células que otorgan al agente un medio propicio para la prosecución de todos los pasos de la multiplicación viral. Un ejemplo clásico es la infección de las neuronas por virus polio.

2. En el modelo de infección viral no productiva se expresan sólo algunas proteínas:

En este tipo de infección el agente no realiza un ciclo replicativo completo, y expresa sólo los genes que codifican para las proteínas que regulan y mantienen su persistencia como ácido nucleico. El ácido nucleico viral puede persistir en la célula hospedero en forma libre, ya sea plasmídica o episomal, o integrado al genoma celular; situación en la que el ácido nucleico viral se replica con la mitosis celular. Por ejemplo el genoma del virus herpes simplex se mantiene en forma libre o plasmídica en las neuronas, con una muy pobre expresión proteica.

En el modelo de infección viral no productiva, las proteínas reguladoras virales pueden afectar la expresión de los genes celulares, y a pesar de que no hay síntesis de partículas virales, se puede modificar el comportamiento de genes celulares, transformando a la célula en oncógena. Un buen ejemplo lo constituyen los virus oncógenos, tales como el virus papiloma humano.

Es importante resaltar que estos dos modelos descriptos (infección productiva e infección no productiva) no se excluyen, sino más bien se complementan. Las infecciones no productivas tienen en algún momento de su historia natural una fase de actividad productiva, que le permitirá al agente su transmisión a otro hospedero susceptible. En el ejemplo anterior del virus herpes simplex, éste realiza durante los períodos de reactivación y en la mayoría de las infecciones primarias, una infección productiva en piel y mucosas, lo que le permite asegurar su mecanismo de transmisión. Lo mismo es válido para virus papiloma humano, que según el grado de diferenciación de las células epiteliales, produce ciclos productivos o no productivos. En la superficie del epitelio, el proceso de queratinización celular otorga a esta célula próxima a su muerte, un medio intracelular propicio para los ciclos replicativos completos del virus papiloma humano y la producción de partículas virales.

La evolución del parasitismo celular puede ser limitada o pro-

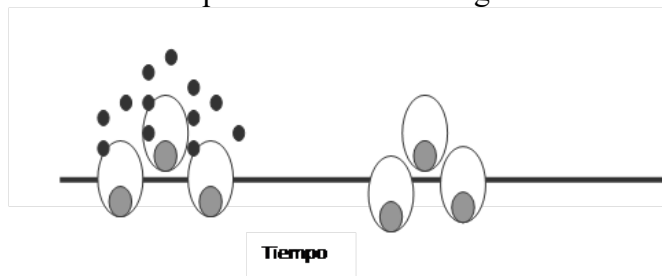
longarse durante un período de tiempo

La evolución del parasitismo puede seguir diferentes caminos, que involucran mecanismos virales y celulares complejos, muchos de ellos, adquiridos mediante un proceso de evolución en la relación agente-hospedero. De este modo el parasitismo viral en el hospedero puede ser limitado o prolongarse en el tiempo, caracterizando así la infección aguda o la infección persistente respectivamente.

1. En las infecciones agudas el virus establece un parasitismo breve:

Son infecciones limitadas en el tiempo que se resuelven a través de la eliminación del agente o del hospedero. P.ej.: rubéola, sarampión, hepatitis A, rabia. El virus puede aislarse desde antes que el individuo se enferme hasta unos días después de la aparición de signos y síntomas. La excreción viral se produce durante un corto período. También es probable que en el curso de una infección aguda el hospedero no presente signos ni síntomas, por lo tanto curse una infección aguda asintomática.

En la siguiente figura se esquematiza la resolución de la infección por eliminación del agente.



En esta figura se esquematiza en el tiempo la historia natural de una infección aguda a nivel celular. En un primer momento las poblaciones celulares están infectadas, en un segundo momento la infección se resuelve.

2. En las infecciones persistentes el virus establece un parasitismo prolongado:

Son aquellas infecciones en las que el agente permanece por meses, años o durante toda la vida en el hospedero. Es una permanencia en el tiempo de la relación agente hospedero. La primera pregunta que surge ante la perspectiva de una persistencia es ¿cómo puede permanecer en el hospedero el parásito si el hospedero posee un arsenal biológico de defensa tanto específico como inespecífico? Para que un virus persista después de una fase aguda de replicación en un hospedero inmunocompetente,

necesita evadir la respuesta inmune o regular su capacidad destructiva, a fin de no eliminar la célula que lo hospeda.

Ciertos agentes virales no producen lisis celular, entre ellos los arenavirus son buenos ejemplos de virus que establecen infecciones persistentes en roedores y luego se transmiten a su progenie infectando hasta sus células germinarles. Otros virus, sin embargo, deben limitar su capacidad destructiva manteniéndose silentes, con un genoma listo para expresar sólo en algunas ocasiones todo su potencial. Tal es el caso del virus herpes simplex, ya antes comentado.

La evasión del sistema inmune es otra estrategia que puede ser producida de muy diferentes modos. Los priones, por ejemplo, son proteínas celulares (pero con otro tipo de conformación) propias del hospedero y por lo tanto no inmunogénicas, representando un excelente ejemplo del mecanismo de imitación molecular mediante el cual el sistema inmune tolera su presencia. La tolerancia de las células T, también se produce cuando el feto es infectado muy tempranamente y su sistema inmune madura con la presencia del virus, a quien lógicamente reconoce como propio, en algunos casos. Tal es el caso de las infecciones congénitas con el virus de la hepatitis B, virus rubeola, citomegalovirus, parvovirus B19, virus de la leucemia humana a células T y virus de la inmunodeficiencia humana. Así mismo el sistema inmune no puede acceder con facilidad a ciertos sitios del hospedero, los que se convierten en excelentes escondites. La barrera hematoencefálica es la puerta que cierra uno de aquellos escondites: el sistema nervioso central. Además, las neuronas están también intrínsecamente ocultas al sistema inmune por expresar en sus membranas pocas moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad. Es así como numerosos virus persisten en el sistema nervioso central, tales como los integrantes de la Familia Herpesviridae, poliomavirus JC, sarampión y rubeola. Otros escondites son los epitelios, pues su falta de vascularización impide el acceso de los elementos formes del sistema inmune. Un ejemplo es la persistencia del virus papiloma humano en piel y mucosas. También los epitelios glandulares se incluyen en estos escondites, utilizados por diferentes miembros de la Familia Herpesviridae tales como el virus herpes 6 humano, el virus herpes 7 humano y el citomegalovirus; que persisten en las glándulas salivales y en el epitelio tubular renal. Una de las

Capítulo 4

Patogénesis de las infecciones virales:...

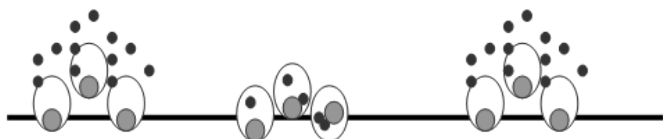
estrategias más agresivas sin duda, consiste en infectar directamente a las células del sistema inmune, como por ejemplo a la célula que realiza la función de un director de orquesta de las defensas específicas. Tal es el caso del virus de la inmunodeficiencia humana que replica en los linfocitos TCD4+. La inmunidad humoral también puede ser burlada, por ejemplo algunos virus producen en la membrana de la célula infectada proteínas virales que la fusionan a las células no infectadas; de este modo se propagan de célula a célula sin contactar con el espacio intercelular ni con las inmunoglobulinas. Un ejemplo es el virus respiratorio sincicial y el virus sarampión. Otras veces la estrategia de ocultamiento depende únicamente del agente, es entonces cuando éste cambia de composición antigénica ante las defensas pre-existentes, mediante mutaciones de las proteínas virales que lo conforman. Tal es el caso del virus influenza o del virus de la inmunodeficiencia humana.

Cualquiera sea el mecanismo utilizado, todos ellos se esconden y persisten, hasta que en un determinado momento salen a la luz para propagar su genoma a nuevos hospederos susceptibles.

Las infecciones persistentes pueden clasificarse según la actividad viral en: infecciones latentes, infecciones crónicas, infecciones lentas e infecciones con integración y transformación celular.

2.1 Las infecciones latentes son aquellas en las que parasitismo prolongado puede tener episodios agudos de reactivación

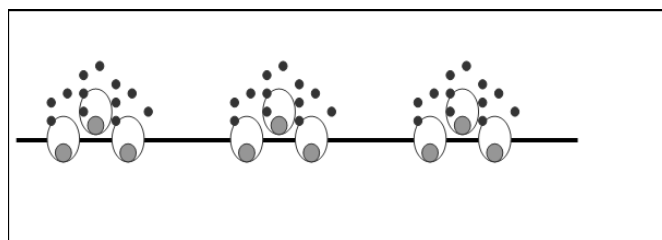
Son infecciones persistentes con episodios agudos de reactivación que permiten el aislamiento del agente. La excreción viral no es constante y entre los episodios agudos el virus no es detectable, persistiendo el genoma viral en forma episomal en la célula hospedero. Es así que en la latencia el virus no genera una infección productiva y se producen cantidades limitadas de ARNm viral. A nivel celular existe una persistencia viral y a nivel del organismo completo puede asociarse a una enfermedad recidivante. Ej: virus herpes tipo 1 o 2, virus varicela-zoster.



En esta figura se esquematiza en el tiempo la historia natural de una infección persistente latente a nivel celular. La infección productiva se alterna con momentos de infección no productiva.

2.2. En las infecciones crónicas la presencia de partículas virales es constante y demostrable:

Las infecciones crónicas son infecciones persistentes en las que la excreción viral es constante y demostrable. La expresión viral es completa y hay cantidades importantes de ARNm viral. A nivel celular existe una persistencia viral y a nivel del organismo completo una enfermedad progresiva. Ej: el virus de la hepatitis B en un 10% de las infecciones, el virus de la hepatitis C, la infección congénita por el virus rubéola. En algunas situaciones puede no haber síntomas, pero sí signos que se relacionan con la actividad viral, por ejemplo elevación de enzimas hepáticas en las infecciones por virus hepatotropos.



En esta figura se esquematiza en el tiempo la historia natural de una infección persistente crónica a nivel celular. La infección productiva persiste en el tiempo.

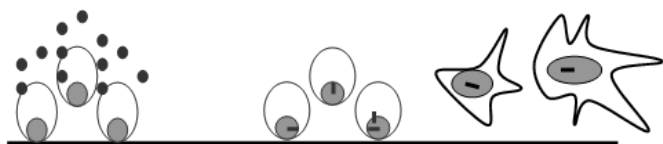
Dentro de este modelo se ubican las infecciones lentas. Estas se definen como infecciones persistentes crónicas con un largo período de incubación, seguido por otro prolongado de enfermedad que se ubica al final de la historia natural del proceso y suele finalizar con la vida del hospedero. El virus es usualmente detectable durante todo el proceso. A nivel celular existe una persistencia viral y a nivel del organismo completo la enfermedad aparece al final de la historia natural. Ej: virus de la inmunodeficiencia humana.

Es importante reconocer que algunas infecciones persistentes tienen características de más de un tipo de las citadas categorías, el virus de la inmunodeficiencia infecta de un modo diferente tipos celulares distintos, la evolución de la infección por el virus de la hepatitis B puede estar caracterizada por un estado de portación asintomático o por una clínica al final de la historia natural de hepatitis crónica ac-

tiva, cirrosis o carcinoma hepatocelular.

2.3 Algunos virus integran su ácido nucleico al genoma celular

Ciertos agentes virales persisten en su hospedero integrándose al genoma celular. Esta integración significa que los genes virales se ubican dentro del ADN celular y son transcritos y replicados como los celulares. De algún modo estos genes pueden alterar la expresión de proteínas celulares normales (oncogenes o genes oncosupresores) y luego de muchos años de persistencia alterar el ciclo celular, en un proceso complejo y que requiere múltiples pasos. Los retrovirus, el virus de la hepatitis B y C, el virus papiloma humano, el virus Epstein-Barr, son algunos ejemplos de agentes que pueden tener esta ruta patogénica.



En esta figura se esquematiza en el tiempo la historia natural de una infección persistente con integración del ácido nucleico viral al genoma celular. En una primera etapa se produce una infección productiva, luego el ácido nucleico viral se integra al genoma y en la última etapa la célula puede transformarse.

El genoma humano contiene entre 30 y 50 secuencias del retrovirus endógeno humano K (HERV-K) que se integraron antes de la aparición del Homo sapiens, y algunas de sus proteínas son similares a las del virus de la inmunodeficiencia humana. Este inquietante descubrimiento señala una coevolución de la relación agente hospedero.

CAPÍTULO 5

BIOLOGÍA DE LA RESPUESTA INMUNE

La inmunidad es la capacidad del hospedero de liberarse de una carga extraña

En una playa de Sicilia, una historia de espinas de rosas y larvas de estrella de mar interrumpe el descanso de un zoólogo e inicia la ciencia de la inmunología

El sistema inmune es un ejemplo fascinante del ingenio biológico

FABULA DE LOS SEIS NIÑOS DE OJOS VENDADOS

El sistema inmune tiene la plasticidad de tratar con una gran diversidad de patógenos y lo realiza con diferentes estrategias: una es innata y otra es adaptativa

La respuesta inmune innata, evolutivamente más antigua, se inicia con las barreras fisiológicas y con el reconocimiento de microorganismos

Las barreras fisiológicas impiden que el agente ingrese al medio interno

Los mecanismos innatos reconocen las "firmas" que los microorganismos llevan en su composición molecular

Los monocitos/macrófagos y los polimorfonucleares fagocitan agentes extraños

Las células errantes de Metchnikoff se ponen en movimiento.

El complemento y los anticuerpos aumentan la eficiencia de la fagocitosis

El agente al "pisar" eosinófilos, basófilos y células cebadas las activan y ellas explotan liberando mediadores químicos inflamatorios

El sistema del complemento: proteínas que "complementan" la actividad fagocitaria, la quimiotaxis de leucocitos y facilita la localización de los antígenos por parte de los linfocitos B y las células presentadoras de antígenos

Las quimiocinas como mensajeros celulares en la respuesta inmune innata

Los interferones son quimiocinas especializadas en inhibir la replicación viral y el crecimiento celular, activar macrófagos, células NK y linfocitos T citotóxicos e inducir la expresión de moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad

El ARN viral de doble cadena es un PAMP activa el mecanismo del interferón de clase I

Construyendo en las células un mecanismo de resistencia viral

Las células citotóxicas naturales o "natural killer" (NK) son "verdugos" que destruyen las células infectadas o bien les ordenan suicidarse.

La respuesta inmune adaptativa, “ahora el detalle es lo que cuenta”

Los principales efectores de la respuesta inmune adaptativa son los linfocitos B y los linfocitos T

La respuesta inmune adaptativa reconoce antígenos diferentes con un gran repertorio linfocítico

Otras quimiocinas actúan como mensajeros solubles en la respuesta inmune adaptativa

Los linfocitos B son fábricas de anticuerpos, estas proteínas se unen específicamente a lo extraño

Las inmunoglobulinas son las moléculas efectoras de la respuesta inmune humoral

Construyendo una inmunoglobulina

Los linfocitos T son un conjunto de células que ayudan a los linfocitos B en la producción de proteínas y lisan células modificadas por los antígenos

Funcionalmente los linfocitos T $\alpha\beta$ pueden ser citotóxicos o cooperadores

Los linfocitos T cooperadores (CD4) generan señales que “ayudan” a los linfocitos B, a los linfocitos T citotóxicos (CD8) y a los fagocitos a cumplir sus funciones inmunológicas

Los linfocitos T citotóxicos (CD8) destruyen células infectadas por virus

Los linfocitos T reconocen al antígeno “de la mano” de una molécula propia del complejo mayor de histocompatibilidad

Doherty y Zinkernagel proponen la hipótesis del reconocimiento antigénico a través de una doble señal: las cadenas poliméricas $\alpha\beta$ del TCR, reconocen al antígeno extraño en el contexto de moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad (CMH)

Construyendo células que expresan CMH tipo I y tipo II, en un individuo

Las moléculas de histocompatibilidad pertenecen a la superfamilia de las inmunoglobulinas

La función biológica de las moléculas de histocompatibilidad es rescatar péptidos extraños del interior de las células y exponerlos en la membrana celular.

En las mucosas, las células M funcionan como un puente entre el agente infeccioso y las células del sistema inmune

La inmunidad es la capacidad del hospedero de liberarse de una carga extraña

Los vertebrados están expuestos en forma continua a la interacción con microorganismos, con sus productos metabólicos y/o con macromoléculas que pueden causar enfermedad. El hospedero, en respuesta a esta exposición genera una respuesta inmune que tiene por objetivo limitar la infección en

curso y generar una inmunidad duradera hacia ese agente agresor en particular. La palabra inmunidad proviene del latín: *immunis* exento de servicio; en origen común con la palabra municipio, *lat munius*, servicio hecho a la comunidad; alude a las situaciones especiales de algunos legisladores romanos de estar exentos de los tributos o cargas municipales. Llevando este concepto al terreno biológico, la inmunidad generada por un sistema biológico de de-

fensa es la capacidad del hospedero de liberarse de una carga extraña.

En una playa de Sicilia, una historia de espinas de rosas y larvas de estrella de mar interrumpe el descanso de un zoólogo e inicia la ciencia de la inmunología

En 1883, cuando se anudaba el tercer momento histórico en el cual R Koch y L Pasteur comenzaban a demostrar que los microorganismos producían enfermedades, un nuevo “buscador de microbios”, Elis Metchnikoff hacía su aparición. Este investigador excéntrico y muy intuitivo enuncia una teoría propia, fantástica e increíblemente acertada, de cómo la humanidad resiste los embates de los microorganismos dañinos. Las investigaciones de Metchnikoff acabarían por demostrar que los sistemas de defensa en todos los animales tienen sus raíces en los organismos primitivos que han poblado la tierra desde que empezó la vida.

Es así, que la historia de la ciencia de la inmunidad se inició mientras Metchnikoff, zoólogo ruso, paseaba por las playas de Messina en Sicilia, Italia, y recogió de la arena una larva de estrella de mar con la finalidad de estudiar su sistema digestivo. Sentado en su mesa de trabajo y con la torpe impaciencia que lo caracterizaba, logró introducir partículas de carmín en el interior de la larva. La transparencia de las larvas le permitió observar a través de la lente de su microscopio, unas células errantes y vagabundas que fluían hacia las partículas de carmín y se las comían.

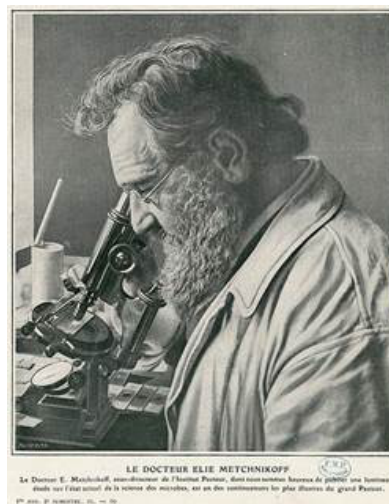
- Qué extraño este sistema digestivo, le comentó dubitativo a su mujer, hay células que comen lo que las larvan comen. Atribulado siguió observando los frascos con larvas, mientras su mujer llevó los chicos al circo. En él comenzaba a dibujarse el pensamiento que si algo extraño ingresaba a la larva estas células vagabundas se movilizarían hacia el elemento extraño. Impaciente y sin lograr comprender “el extraño fenómeno”, se dirigió al jardín de su casa a fin de ordenar sus pensamientos. Al observar las rosas, en particular sus espinas, le hicieron recordar lo que sucedía cuando se lastimaba con ellas, rápidamente la lesión se rodeaba de una zona caliente y un líquido blanquecino aparecía.

-¿Que sucedería entonces si le clavo la espina a la larva? Exclamó. Fue corriendo a su laboratorio y de inmediato perforó una larva con la más aguda de las espinas. Sus pensamientos perturbaron su sueño

durante toda la noche. A primera hora de la mañana, fue a observar aquella larva hincada. Al colocarla en el microscopio, vio que la espina del rosal estaba rodeada de masas celulares, aquellas mismas células errantes del carmín. Fue entonces que se trasladó a Viena para proclamar la teoría de que células errantes se ocupan de comer lo extraño. Se dirigió al laboratorio del Profesor Claus, un amigo, y le contó su experimento. Claus, estupefacto, accedió a publicar el nuevo descubrimiento en su revista. Exaltado aún por su descubrimiento, Metchnikoff comenzó a pensar un nombre para estas células vagabundas. Fue entonces cuando Claus se dirigió a su biblioteca y pensó en una síntesis: que sucede con estas células... se comen los microorganismos... si son células que comen deben llamarse en griego... células que comen.

- ¡ fagocitos! Exclamó.

Video historia de Elie Metchnikoff & Paul Ehrlich
<https://www.youtube.com/watch?v=HGEuopke-Ck>



Elie Metchnikoff: “existe un mecanismo constante en la inmunidad que es la fagocitosis. Su importancia no será negada por mucho tiempo”

https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Metchnikoff,_Elie_CIPB1258.jpg

Si bien la descripción del mecanismo de fagocitosis que realizara Metchnikoff fue decisivo para empezar a comprender la biología de los mecanismos de defensa del hospedero infectado, la fagocitosis es sólo un eslabón de una intrincada red de mecanismos que puestos en acción intentarán eliminar el agente extraño y guardar la memoria inmunológica de aquella agresión.

El sistema inmune es un ejemplo fascinante del ingenio biológico

El sistema inmunitario constituye un ejemplo fascinante del ingenio biológico y tiene la plasticidad de tratar con la gran diversidad molecular de patógenos. “Reconocen” una variedad de moléculas extrañas distinguiéndolas de las propias. El reconocimiento de lo no propio, la especificidad y la memoria constituyen la esencia del sistema inmune .

Cuando agentes patógenos invaden el organismo, los detectan y se movilizan para eliminarlos. “Recuerdan” cada una de las infecciones, de modo que cualquier reinfección por un mismo microorganismo reciba un trato más eficaz. Es más, todo ello lo realizan a costa de un exiguo presupuesto de defensa, en el que participa tan sólo una pequeña parte del genoma y de los recursos del organismo.

FABULA DE LOS SEIS NIÑOS DE OJOS VENDADOS



Había una vez seis niños que con sus ojos vendados pretendían definir la naturaleza de un elefante. Raúl tocando el colmillo del elefante dijo que este debería parecerse a la rama de un árbol. Leonardo tocando la cola se imaginó estar frente a una terrible serpiente. Nicolás al abrazar su pata, creyó que era el tronco de un árbol. Jorge, Federico y Ariel acariciando el lomo del elefante llegaron a la conclusión después de mucho discutir, que se trataba del último dinosaurio sobreviviente de la Tierra. Como los seis niños no llegaron a un acuerdo en sus teorías, decidieron destaparse los ojos y miraron sorprendidos al elefante.

Moraleja: para comprender el sistema inmunitario es necesario verlo en su totalidad, en donde los diferentes elementos se coordinan.

El sistema inmune tiene la plasticidad de tratar con una gran diversidad de patógenos y lo realiza con diferentes estrategias: una es innata y otra es adaptativa

El sistema inmune tiene la plasticidad de tratar con una gran diversidad de patógenos y lo realiza con múltiples estrategias. Una de ellas es (i) la innata, evolutivamente más antigua, que se inicia con el reconocimiento de microorganismos así como de ciertos patrones moleculares compartidos por los microorganismos. Esta estrategia moviliza diferentes tipos celulares así como citoquinas que resultan las más apropiadas a la estructura o microorganismo reconocido. Se denomina innata pues los genes responsables se heredan de los progenitores. Utiliza una serie limitada de receptores codificados por el genoma en una amplia variedad de células inmunes o en células epiteliales en respuesta a diferentes clases de patógenos.

A partir de la innata se genera otra estrategia: (ii) la adaptativa, evolutivamente más reciente, que acorde al antígeno presentado por la célula presentadora de antígenos conduce a la proliferación y diferenciación de linfocitos T (respuesta celular) y de los linfocitos B (respuesta humoral) capaces de reconocer con más detalle al antígeno y de recordar infecciones pasadas; así como también a la síntesis de numerosas citoquinas las que activan diferentes procesos. Estos complejos procesos median la muerte de las células infectadas (citotoxicidad) y la producción de anticuerpos. Se denomina adaptativa pues los genes responsables son el resultado de rearrreglos o modificaciones genéticas como consecuencia del estímulo antigénico recibido.

La respuesta inmune innata, evolutivamente más antigua, se inicia con las barreras fisiológicas y con el reconocimiento de microorganismos

La respuesta inmune innata da cuenta de una respuesta temprana, caracterizada por una serie de barreras fisiológicas e integran elementos celulares de primera línea que reconocen a los microorganismos y promueven la síntesis de citoquinas.

Sin embargo, es también capaz de reconocer con especificidad algunos patrones moleculares que forman parte de microorganismos. De este modo es posible el inicio de la actividad celular propia para la des-

trucción de aquellos. Este último aspecto dio lugar al abandono del término “inespecífico”.

Las barreras fisiológicas impiden que el agente ingrese al medio interno

La forma más sencilla de evitar la infección es impedir que los agentes patógenos se introduzcan en el organismo. Para esto existen barreras anatómicas y fisiológicas que impiden su ingreso a las células del hospedero, que en su conjunto constituyen la primera línea de respuesta inmune adaptativa. La eficacia de algunos de estos mecanismos es notable. Los epitelios cubren como un envoltorio al huésped, aislándolo del medio. Es así como la piel intacta es una barrera fisiológica muy eficaz frente al contacto con la mayoría de los microorganismos. La capa externa está constituida por células queratinizadas, muy unidas, que en general, los organismos infecciosos no logran atravesar; a su vez, los ácidos grasos y las secreciones sudoríparas y sebáceas liberadas por las glándulas forman una película protectora sobre la superficie. La continua descamación de la capa superficial elimina los microorganismos que han logrado adherirse.

Por otra parte en las mucosas, el moco bloquea la adherencia de los agentes infecciosos a las células epiteliales; las partículas quedan atrapadas para ser luego eliminadas por los movimientos ciliares, la tos, los estornudos, etc .

A su vez, muchos epitelios están colonizados por bacterias en la zona que se comunican con el exterior, estos agentes ocupan receptores y compiten por los nutrientes con aquellos que intentan ingresar. Las lágrimas, las secreciones nasales y la saliva, son inhibidores del crecimiento microbiano a través de la lisozima, enzima que destruye la pared bacteriana.

Sin embargo, si los microorganismos logran atravesar las barreras citadas, ya dentro de la célula hospedera, intervienen otros mecanismos de defensa innatos.

Los mecanismos innatos reconocen las “firmas” que los microorganismos llevan en su composición molecular

Evolutivamente se incorporaron genes compartidos por otras especies animales que codifican para proteínas que reconocen determinadas estructuras moleculares de microorganismos e inician una res-

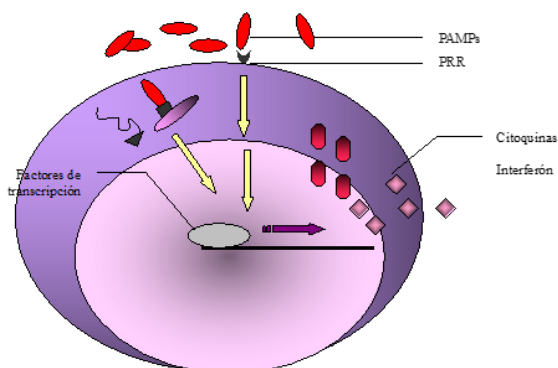
puesta inmune. Las células dañadas o necróticas del hospedero también debían ser retiradas para su reemplazo por tejido sano.

Los mecanismos innatos reconocen las “firmas” que los microorganismos llevan en su composición. Estas son diferentes patrones moleculares que evolutivamente estuvieron asociados a microorganismos. Se denominan “patrones”, pues son estructuras moleculares compartidas por microorganismos que representan, como fue caracterizado anteriormente, “una firma molecular” de una determinada clase de patógeno. Su reconocimiento ofrece al hospedero la posibilidad de generar la respuesta adecuada al patógeno. Lo que posibilita el reconocimiento de más de 1000 estructuras moleculares. Sin embargo, un paso más adelante, también lo hacen a patrones moleculares de necrosis u otros procesos inflamatorios de las células en el hospedero, que deben ser eliminados para la “reconstrucción” de los tejidos.

Patrones moleculares asociados a patógenos	Moléculas reconocidas		Algunos receptores
Ácidos nucleicos	ARNmc	Virus	TLR7 y TLR8
	ARNbc	Virus	TLR3
Proteínas	Pilina	Bacterias	TLR1 y TLR2
	Flagelina	Bacterias	TLR5
	Peptidoglicano	Bacterias	TLR2 y NLR
Lípidos de la pared celular	Lipopolisacárido	LPS	Bact. Gram neg TLR4
		Ácido lipoteicoico	Bact. Gram pos TLR1, TLR2 y TLR6
Glúcidos	Envolturas virales	Virus	TLR4
	Manano	Hongos y bacterias	TLR4
	Glucanos	Hongos	TLR4
Patrones moleculares asociados a daño celular			
Proteínas inducidas por estrés	Proteínas de choque térmico		CD91
Cristales	Uratos		TLR2 y TLR4
Proteínas nucleares			TLR2 y TLR4

Lo referido genera una respuesta con un grado de especificidad a determinadas moléculas de los agentes microbianos o bien a señales moleculares de las células dañadas: los patrones moleculares asociados a patógenos (PAMP) y los patrones moleculares asociados a daño celular (DAMP); como se observan algunos ejemplos en la tabla siguiente.

Los PAMP del microorganismo activan en las células hospederas a través de receptores (PRR) ubicados en la célula determinados genes hasta entonces en “silencio” que conducen a la síntesis de citoquinas y interferón (en otros términos, activan la transcripción). Estos PRR pueden estar ubicados en la membrana celular o en el citosol. En el citosol pueden estar asociados al sistema de endomembranas celulares o estar libres. El ingenio biológico aumenta pues estas distintas ubicaciones permiten el reconocimiento de los patógenos ubicados en diferentes sitios dentro de la célula hospederas. En esta figura se ilustra la ubicación y el modo en que los PAMPs activan en las células a través de su receptor (PRR) la “lectura” (transcripción) de genes celulares claves para la síntesis de citoquinas e interferón, entre otras moléculas.



Con más detalle, estos receptores PAMP y DAMP son diversos en su estructura, mecanismo de reconocimiento, ubicación y acción. Se expresan en gran cantidad en células fagocíticas y en células dendríticas (presentadoras de antígenos), así como en las células de diferentes tejidos. Una categoría de ellos se denomina receptores tipo Toll (Toll like receptors) una familia de receptores encontrados en *Drosophila* y luego en otros animales que corresponden a glicoproteínas de transmembrana. Sin embargo también se han encontrado los receptores tipo NOD, que corresponden a una familia de 20 proteínas ubicadas en el citosol que reconocen DAMP y PAMP. Estos receptores tipo NOD reconocen las secuencias proteicas de peptidoglicano, N-acetil cisteína y N acetil murámico en las células bacterianas ubicadas en el citosol de la hospederas. También existen receptores de ADN microbiano que reconocen secuencias no metiladas los DNR (las eucariotas metiladas).

La activación de los PRR, es también una señal de “ajuste de detalles”, pues interviene en la activación de una respuesta innata acorde la patógeno y su ubicación (activación de macrófagos, reclutamiento de neutrófilos, interferón I, síntesis de citoquinas, entre otros). Así también en la modulación de la respuesta adaptativa (maduración de células dendríticas, interferón II y síntesis de citoquinas).

Los monocitos/macrófagos y los polimorfonucleares fagocitan agentes extraños

Sin embargo, el mejor modo de eliminar un patógeno es “comerlo y digerirlo”. Un importante grupo de células fagocíticas son los macrófagos, cuyos precursores, los monocitos, “viajan” hasta los tejidos donde se diferencian en macrófagos maduros. Los macrófagos depende del sitio en el que se encuentren reciben nombres diferentes: células de Kupfer en el hígado, células de la microglia en el sistema nervioso central y osteoclastos en el tejido óseo. Como se supone, sus funciones son además de las inherentes al tejido que pertenecen son la fagocitosis y la secreción de factores solubles o quimiocinas para producir el proceso inflamatorio. Se encuentran ubicados estratégicamente en lugares en los que tienen mayores posibilidades de “capturar” lo extraño, por ejemplo recubriendo superficies donde fluye sangre o recubriendo cavidades sinoviales.

Otro importante grupo de células fagocíticas son los polimorfonucleares neutrófilos, los cuales circulan por el torrente sanguíneo y pueden abandonarlo para llegar a los tejidos agredidos, respondiendo a factores quimiotácticos secretados por otras células (macrófagos) o sistemas solubles (complemento).

Las células fagocíticas están permanentemente patrullando nuestro medio interno, listas para responder a numerosos y variados estímulos que le avisen de la presencia de “algo extraño”. Para hacer este trabajo eficientemente, las células macrofágicas expresan sobre su superficie una variedad de receptores para proteínas, hormonas, inmunoglobulinas, proteínas del sistema del complemento, toxinas, polisacáridos y lípidos. A través de estos receptores, los macrófagos “atrapan” microorganismos y responden a quimiocinas con dos objetivos:

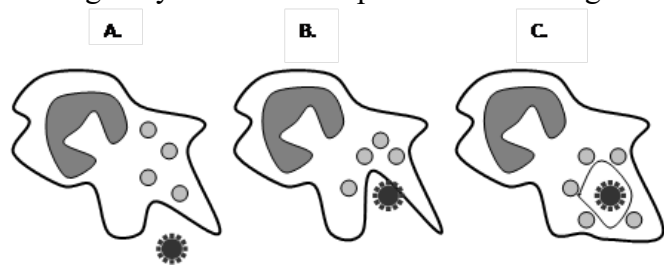
- Internalizar al microorganismo adherido, para luego degradarlo a través de procesos bioquímicos.
- Expresar sobre su membrana las moléculas de-

gradadas, asociadas a moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad, que son proteínas propias de las células del hospedero, cuya función es presentar a el sistema inmune, el agente extraño en el contexto de lo propio modificado.

Las células errantes de Metchnikoff se ponen en movimiento

El primer paso del mecanismo de la fagocitosis requiere que el microorganismo se adhiera a la superficie de la célula fagocítica (A), lo que es mediado por mecanismos de reconocimiento primitivos e innatos. Así el microorganismo adherido a la membrana celular, inicia la fase de internalización o ingestión cuando es rodeado de prolongaciones citoplásmicas (B). Finalmente queda dentro de la célula en una vacuola (fagosoma), la que se funde con lisosomas, formándose un fagolisosoma.

Debido a la acción de las enzimas lisosomales (proteolíticas e hidrolíticas), bajo pH, mieloperoxidasa y iones halógenos, el microorganismo es degradado (C). La fagocitosis se lleva a cabo con un gran gasto de oxígeno y formación de peróxido de hidrógeno.



Etapas de la fagocitosis

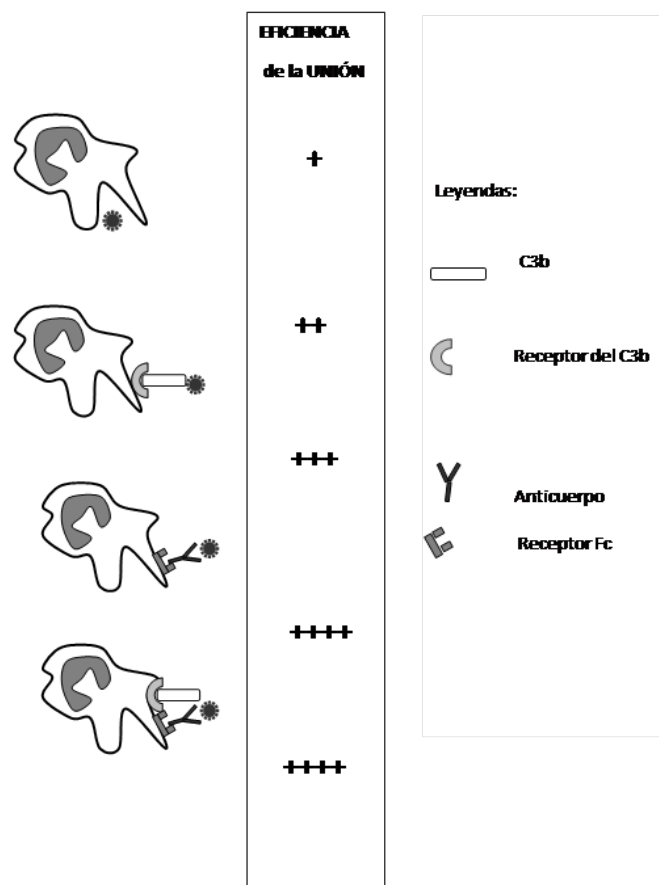
La facilitación y potenciación de la adherencia entre los agentes infecciosos y las células fagocíticas ha sido resuelta con sorprendente facilidad en pocos millones de años de evolución biológica. Durante este tiempo se han desarrollado los sistemas de opsonización mediados por complemento y anticuerpos, que promueven una fagocitosis más eficiente. Uno de estos mecanismos es que a través de procesos evolutivos, los carbohidratos de superficie de muchos microorganismo han adquirido la capacidad para activar la vía alterna del complemento, generando actividad de C3 convertasa, que divide a la fracción C3 del complemento en C3b (que se une a la superficie del microorganismo) y C3a. Las células fagocíticas poseen un receptor para el C3b, por lo que se favorece la interacción microorganismo-fagocito y se inicia la ingestión y degradación.

Adicionalmente la fracción C3a desprendida, actúa como mensajero a “larga distancia” para convocar más células fagocíticas al lugar de la infección.

¿Pero qué ocurriría si el microorganismo tuviera una constitución física y química tal que le permitiera burlar la ingestión fagocítica o no ser capaz de activar la vía alterna del complemento?. De nuevo, los procesos evolutivos han encontrado una solución ingeniosa: la fagocitosis mediada por anticuerpos.

Los anticuerpos tienen también la capacidad de opsonizar: pueden unirse por su porción Fab al microorganismo y gracias a la presencia de un receptor para el Fc de la inmunoglobulina sobre la célula fagocítica, se favorece la fagocitosis (tal como se observa en la figura siguiente). Adicionalmente la IgG y la IgM activan a la fracción C1q del complemento llevando a la generación de C3b.

El complemento y los anticuerpos aumentan la eficiencia de la fagocitosis



El agente al “pisar” eosinófilos, basófilos y células cebadas las activan y ellas explotan liberando mediadores químicos inflamatorios

La inflamación (del latín inflammatio, hacer fuego)

es una reacción del hospedero producida entre otras células, por los eosinófilos, basófilos, células cebadas y plaquetas. Su función es aumentar el flujo sanguíneo hacia la región donde está el agente extraño así como la permeabilidad vascular y promover la migración de leucocitos desde el endotelio vascular local a la zona inflamada.

Los eosinófilos son células con poca capacidad fagocítica, pero que respondiendo a factores quimiotácticos, liberan al exterior el contenido de sus gránulos como respuesta a algunos parásitos que por su tamaño no pueden ser fagocitados. Se encargan de la destrucción extracelular de grandes agentes.

Los basófilos responden a agentes quimiotácticos y liberan el contenido de los gránulos frente a ciertos estímulos.

Los mastocitos o células cebadas son activadas por el patógeno y liberan grandes cantidades de mediadores químicos, produciendo una reacción inflamatoria aguda.

Según J Regueiro y C Larrea, estas células son “verdaderas minas del sistema inmune”, el patógeno al pisarlas las activa y explotan liberando grandes cantidades de mediadores químicos preformados.

Las plaquetas también participan en los procesos inflamatorios y reparan luego el tejido dañado.

El sistema del complemento: proteínas que “complementan” la actividad fagocitaria, la quimiotaxis de leucocitos y facilita la localización de los antígenos por parte de los linfocitos B y las células presentadoras de antígenos

El sistema del complemento es un conjunto de aproximadamente veinte proteínas que constituyen un sistema enzimático que actúa en cascada en el plasma y cuya función principal es ayudar a la eliminación de los patógenos y al inicio de la inflamación.

El complemento no se activa frente a estructuras propias del huésped porque a lo largo de la evolución, “lo propio” ha adquirido la habilidad de cubrirse con proteínas que lo inactivan. Tales son por ejemplo el inhibidor de la fracción C1 del complemento, la vitronectina, la clusterina; proteínas solubles y componentes de membrana como el CD35 y el CD46, entre otros.

Existen tres mecanismos de activación del sistema del complemento:

a. La vía alterna es la más primitiva y se activa con las paredes celulares de ciertos microorganismos.

b. La vía clásica se activa cuando los anticuerpos se han unido al antígeno. Una vez activada la vía clásica, las células propias no son lisadas pues están protegidas por proteínas reguladoras de la actividad del complemento.

c. La vía de las lectinas que se activa cuando los macrófagos fagocitan materiales extraños y liberan interleuquina 1, interleuquina 6 y el factor de necrosis tumoral alfa. Estas quimiocinas estimulan a los hepatocitos a secretar una proteína, la lectina ligadora de manosa. La manosa es un componente importante de las paredes celulares bacterianas, de ciertas envolturas virales y de los inmunocomplejos. De este modo la lectina ligadora de manosa se une al patógeno y activa el complemento por la vía clásica o por la vía alternativa.

Finalmente, las funciones más importantes del complemento pueden resumirse en:

a- Aumentar la adherencia de los microorganismos a la superficie celular: opsonización.

b- Desencadenar una reacción inflamatoria aguda.

c- Activar el metabolismo de la célula fagocítica.

d- Formar el complejo de ataque a la membrana celular, a través de los factores terminales de la activación del complemento, promoviendo la lisis celular a través de la formación de poros en las membranas de los organismos extraños.

e- Eliminar los inmunocomplejos (productos resultantes de la interacción antígeno-anticuerpo), proceso que evita el daño de éstos sobre diferentes órganos, en especial el riñón.

Las quimiocinas como mensajeros celulares en la respuesta inmune innata

Una de las formas de comunicación entre células es mediante la síntesis de pequeñas proteínas, que reciben el nombre genérico de citoquinas o quimiocinas (del griego: cyto, célula; kinesis, movimiento). Las citoquinas son producidas en los primeros instantes de la activación celular e inmediatamente liberadas al espacio extracelular, para “avisar” a otras células que hay una respuesta inmune en marcha. Para que las células puedan recibir este mensaje, es necesario que en su membrana tengan receptores para quimiocinas, de modo tal, que al unirse la molécula de citoquina le transmita una señal de activación al interior celular. Algunas citoquinas están particularmente involucradas en comunicar células

que intervienen en la respuesta inmune inespecífica y son producidas principalmente por células del linaje monocito-macrófago: interleucina (IL) 1, IL6, IL12 y el factor de necrosis tumoral. Las funciones principales de estas interleucinas son la inducción de fiebre (a temperatura elevada la respuesta inmune específica funciona mejor y la multiplicación del agente viral se reduce), la activación de macrófagos, la activación de células NK y la activación de linfocitos T cooperadores. Por su parte, el factor de necrosis tumoral es el principal iniciador de la respuesta inflamatoria e inductor de la expresión de moléculas de adhesión en los endotelios, facilitando la unión de leucocitos circulantes y la migración de estos al interior del tejido infectado.

Los interferones son quimiocinas especializadas en inhibir la replicación viral y el crecimiento celular, activar macrófagos, células NK y linfocitos T citotóxicos e inducir la expresión de moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad

Los interferones son una familia de glicoproteínas de bajo peso molecular sintetizados por las células eucariotas en respuesta a diferentes PAMP, tales como virus, ARN bicatenario, endotoxinas, estímulos antigénicos, agentes mitógenos, y otros microorganismos de parasitismo intracelular (listerias, clamidias, rickettsias, protozoos). Los interferones son específicos de la especie pero no del agente infeccioso. Esta familia de quimiocinas comparten la propiedad de inhibir la replicación viral y el crecimiento celular, activar monocitos, macrófagos, células NK, y linfocitos T citotóxicos, inducir el aumento de la expresión de moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad y, finalmente, inducir acción pirógena. Hasta el momento se han reconocido diferentes tipos de interferones: el interferón clase I, citocina principalmente con actividad antiviral, corresponde al interferón α (producido por los leucocitos infectados por virus) y al β (producido por los fibroblastos y posiblemente por todos los tipos celulares infectados por virus); y el interferón clase II, interferón inmune, corresponde al interferón γ , producido por los linfocitos participantes en la respuesta inmune específica.

Los interferones secretados, son distribuidos localmente y por la circulación general a otras células del organismo. La unión del interferón a su receptor celular inicia una serie de señales que inducen la transcripción de un conjunto de genes en el núcleo

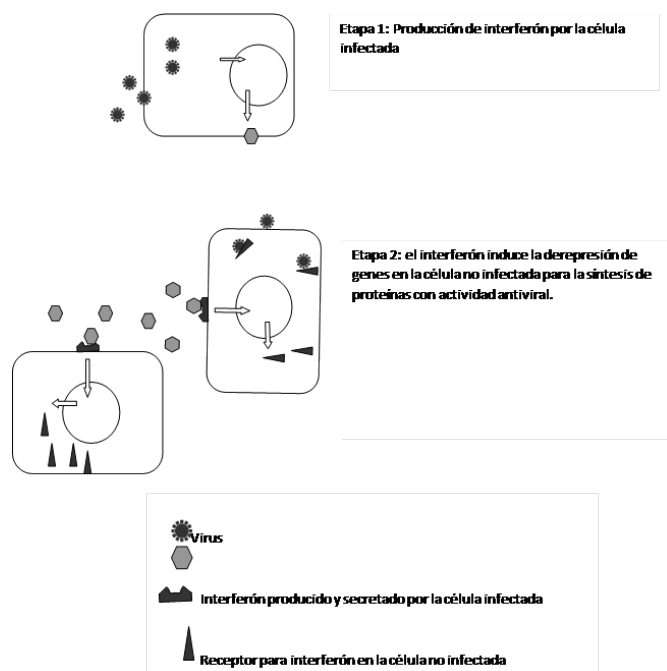
celular. Existen entre 50 y 100 proteínas diferentes inducidas por los interferones. Algunas participan en los mecanismos antivirales y otras son importantes en el metabolismo de las células no infectadas.

El ARN viral de doble cadena es un PAMP activa el mecanismo del interferón de clase I

La actividad antiviral se activa por la presencia de ARN viral de doble cadena (PAMP) en las células del hospedero infectado. El ARN de doble cadena no es un componente celular común, ya que las células contienen ARN celular y nuclear asociados a proteínas (ribonucleoproteínas), que previenen la formación de dobles cadenas y lo mantienen en una estructura de hebra simple. En cambio, durante una infección viral, los virus ARN pueden contener dobles cadenas de ácidos nucleicos como material genético o lo pueden generar durante la replicación viral. Los virus ADN, por su parte, producen en las células infectadas, como consecuencia de la transcripción de su genoma, moléculas complementarias de ARN en grandes cantidades; parte de las hebras de ARNm logran traducirse a proteínas, mientras que otras se acumulan “saturando” la capacidad de los ribosomas para traducirlo, este “sobrante” de hebras de ARNm se asocian formando dobles cadenas, lo que induce la síntesis de interferón de clase I en la célula infectada. Así, las células infectadas por un virus secretan interferón, el que se fija a receptores de células vecinas no infectadas. Esta unión desreprime genes en la célula no infectada que codificarán para nuevas proteínas con actividad enzimática (endorribonucleasas) que interferirán en la replicación viral.

El resultado final consiste en establecer un cordón de células no infectables alrededor del foco de infección, con el objeto de impedir la diseminación viral. Este cordón de células no infectables también resistirá la sobreinfección por un segundo virus no relacionado con el primero. En el caso de una infección producida por una elevada relación virus-célula, la acción antiviral de las enzimas inducidas por el interferón se incrementa hasta finalizar con la vida celular.

Construyendo en las células un mecanismo de resistencia viral



Las células citotóxicas naturales o “natural killer” (NK) son “verdugos” que destruyen las células infectadas o bien les ordenan suicidarse.

Las células NK son linfocitos que reconocen estructuras glicoproteicas extrañas en la superficie de las células infectadas por virus (también a células tumorales). A diferencia de los otros linfocitos no expresan un receptor específico, ni maduran en el timo. Su mecanismo de reconocimiento es complejo.

El mecanismo de acción de las células NK es a través de la liberación de sustancias (perforinas) contenidas en gránulos celulares que producen poros en las membranas de las células infectadas. El resultado es la lisis de las células infectadas y el control de la diseminación de la infección. Otro mecanismo de acción de las células NK es la inducción de la apoptosis en las células infectadas.

La respuesta inmune adaptativa, “ahora el detalle es lo que cuenta”

Los principales efectores de la respuesta inmune adaptativa son los linfocitos B y los linfocitos T

La respuesta inmune adaptativa reconoce con individualidad una cantidad aproximada de 10^7 estructuras moleculares diferentes. Hay dos tipos de respuesta inmune adaptativa. La respuesta inmune humoral mediada por los linfocitos B, que es la responsable de la síntesis y liberación de anticuerpos a la sangre y los tejidos y la respuesta inmune celular mediada por los linfocitos T, que es la responsable de la lisis de células infectadas.

La diferenciación inicial de las células que intervienen en el sistema inmune específico ocurre en los órganos linfoides primarios (en timo los linfocitos T y en médula ósea los linfocitos B); en estos órganos adquieren la especificidad para reconocer al antígeno. Estas células una vez diferenciadas migran a los órganos linfoides secundarios, que son entre otros el hígado, los nódulos linfáticos, el bazo; donde ocurre el reconocimiento y la inducción de la respuesta inmune. Estos órganos “filtran” la linfa proveniente de una zona del cuerpo (en el caso de los ganglios), de la circulación general (el bazo) y del sistema digestivo (las placas de Peyer) para atrapar los antígenos que hayan llegado a ese lugar, ya sea como complejos proteicos o presentados por células macrófagicas (células dendríticas y macrófagos).

Las funciones efectoras del sistema inmune se desarrollan en los tejidos linfoides terciarios, que corresponden a los sitios de ingreso de antígenos al organismo (mucosas y piel).

La respuesta inmune adaptativa reconoce antígenos diferentes con un gran repertorio linfocítico

La respuesta inmune adaptativa tiene las siguientes características:

- **Especificidad:** reconoce individualmente antígenos diferentes. Las respuestas inmunitarias son específicas para diferentes componentes estructurales de proteínas complejas, polisacáridos y otros antígenos. Los componentes estructurales que son reconocidos individualmente se denominan determinantes antigénicos o epítopes. Esta delicada distinción ocurre pues los linfocitos T y los linfocitos B expresan en sus membranas receptores que distinguen cada uno de los determinantes antigénicos. Lo curioso es que los linfocitos adquieren los receptores específicos para cada epítipo sin estimulación antigénica; es decir que en los individuos no inmunes existen clones linfocitarios con diferentes receptores para

reconocer y responder a un enorme repertorio antigénico .

- **Diversidad:** posee un repertorio linfocítico elevado que le permite distinguir al menos 10⁹ determinantes antigénicos distintos. Esto es debido a la variabilidad estructural de los receptores linfocitarios en el sitio de unión con el antígeno.
- **Memoria:** tiene memoria inmunitaria, pues la exposición a un antígeno (respuesta primaria) aumenta la capacidad para responder nuevamente al mismo antígeno (respuesta secundaria). Las respuestas secundarias suelen ser más rápidas, cuantitativamente mayores y cualitativamente diferentes a la respuesta primaria.
- **Autolimitación:** la respuesta inmune adaptativa decae luego de la estimulación antigénica, ya que la eliminación del agente suprime el estímulo de la activación linfocitaria .
- **Discriminación:** la respuesta inmune distingue entre lo que es propio y aquello que es extraño. El sistema inmune tiene la característica de reconocer lo propio porque durante la vida fetal se eliminan los clones celulares capaces de reaccionar contra sus propios antígenos. En circunstancias patológicas puede fallar este reconocimiento y el sistema inmune considerar extraño a constituyentes propios, lo que da lugar a reacciones de autoinmunidad.

Las respuestas inmunitarias tienen diferentes momentos o estadios.

-El reconocimiento: Es el momento en que se unen los antígenos extraños a los receptores específicos situados en los linfocitos. Los linfocitos B expresan en sus membranas receptores que son los anticuerpos (inmunoglobulinas) que pueden unirse a antígenos proteicos, polisacáridos o lipídicos en su forma soluble. Los linfocitos T, por otra parte, tienen receptores (TCR) que reconocen péptidos cortos anclados en las superficies de otras células.

-La activación: una vez que los linfocitos han reconocido lo extraño ocurren dos eventos. Primero se diferencian, adquiriendo las funciones que les permitan eliminar el antígeno. Luego proliferan, expandiendo así los clones linfocitarios y amplificando la respuesta. La activación linfocitaria necesita, en términos generales, dos tipos diferentes de señales: una de ellas es la proporcionada por el antígeno y la otra es proporcionada por mensajeros solubles liberados por otras células del sistema inmune del

huésped. En este momento los linfocitos migran a los lugares del encuentro con el antígeno.

-La eliminación de lo extraño: es el momento en el cual los linfocitos despliegan mecanismos de acción para eliminar el agente extraño. Además del mecanismo específico efector, sea el celular o el humoral, el sistema inmune específico tiene una actividad disparadora de diferentes sistemas inespecíficos tales como el complemento, la fagocitosis y la citólisis producida por los NK.

Otras quimiocinas actúan como mensajeros solubles en la respuesta inmune adaptativa

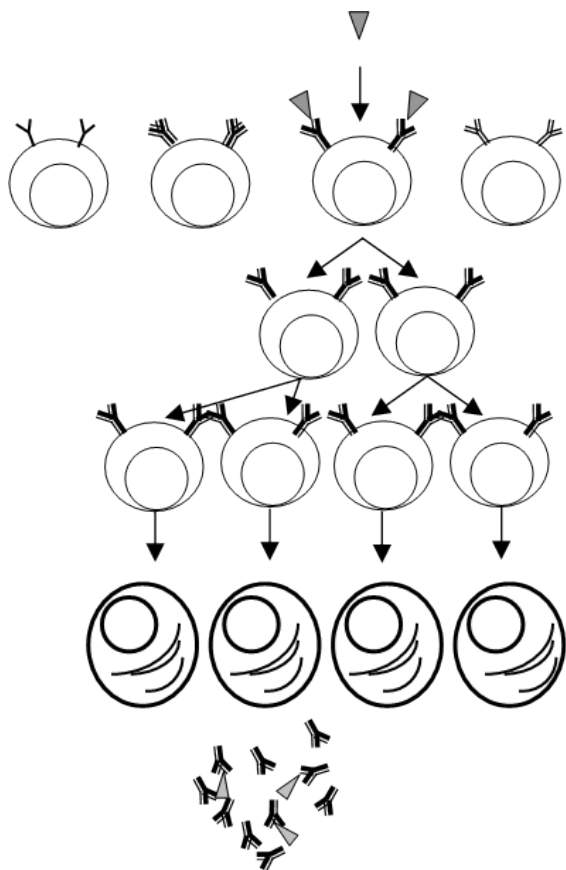
Algunas quimiocinas son mensajeros en la respuesta inmune adaptativa y son principalmente secretadas por los linfocitos T, para comunicarse con otros linfocitos T, linfocitos B, macrófagos y células NK. Es así que los linfocitos T secretores de linfocinas regulan y dirigen la respuesta inmune, tanto la adaptativa como la adaptativa. Las principales quimiocinas involucradas son las IL2, IL4, IL5, IL9, IL10, IL13, IL14, IL15, IL17 y el factor de necrosis tumoral.

Los linfocitos B son fábricas de anticuerpos, estas proteínas se unen específicamente a lo extraño

Los linfocitos B son células que fabrican anticuerpos. La letra B deriva de bolsa de Fabrizio, un anexo de la cloaca de los pollos donde se diferencian estos linfocitos. En los mamíferos no hay un equivalente de este órgano, sino que su función está repartida en varios lugares. Durante la embriogénesis, el primer sitio de desarrollo de LB es la placenta y la sangre del embrión; luego se establece en el hígado y bazo fetal; por último se establece en la médula ósea, donde continúa durante la vida adulta. A diferencia de los LT, los LB se producen durante toda la vida. Los distintos estadios de diferenciación de las células se reconocen por la presencia de glicoproteínas específicas de membrana, las denominadas "CD" (del inglés clusters of differentiation, grupos de diferenciación).

Los linfocitos B se originan a partir de la célula madre indiferenciada, "stem cell" (CD34+), que luego madura a linfocito Pre-Pre B, estadio en el que empiezan lo rearrreglos de los genes que codifican las cadenas de inmunoglobulinas. Cuando el rearrreglo no lleva a la producción de una molécula correcta

de inmunoglobulina, la célula es eliminada. Si, por el contrario, el rearrreglo fue productivo, los linfocitos preB sintetizan cadenas μ (cadenas pesadas de IgM). Luego comienza el rearrreglo de los genes que codifican la cadena liviana; si éste fue exitoso se expresa IgM en la membrana y se denomina LB inmaduro. En una etapa posterior el linfocito B inmaduro pasa a LB maduro o virgen, cuya característica es poseer IgM y/o IgD de membrana. Gracias a estas recombinaciones genéticas, en los cuales se cortan y combinan trozos de DNA, a la hora de nuestro nacimiento el sistema inmune ya posee la capacidad de reconocer y reaccionar contra todos los antígenos a los que nos enfrentaremos durante toda nuestra vida. Cuando ingresa un antígeno al organismo, el clon de linfocitos B que tenga especificidad para ese antígeno lo reconocerá, se activará y se diferenciará en células plasmáticas; dedicando sus recursos a la producción de anticuerpos. En este estadio se denominan células plasmáticas y aunque sólo viven unos pocos días, segregan suficientes cantidades de anticuerpos (inmunoglobulinas) que ayudan a controlar la infección. Parte de la descendencia de ese clon activado de linfocito B permanecerá en circulación y actuará de memoria del sistema inmunitario, facilitando una respuesta más rápida y efectiva ante una posterior exposición al mismo antígeno.



Modelo de selección clonal. Cada linfocito tiene los genes que codifican un anticuerpo específico y varias moléculas del mismo en la superficie, funcionando como receptores. En el diagrama, el antígeno se une a la célula capaz de fabricar su anticuerpo complementario; esta reacción en la superficie celular origina la selección de un clon de células hijas que fabricarán y segregarán ese anticuerpo específico.

Los agentes infecciosos tienen en su estructura muchos determinantes antigénicos. Cada uno de estos determinantes antigénicos estimulará un clon específico de linfocitos B, por lo tanto durante una infección responderán muchos clones de linfocitos B generando una respuesta “policlonal”.

Las inmunoglobulinas son las moléculas efectoras de la respuesta inmune humoral

Las inmunoglobulinas son un grupo de proteínas presentes en suero y espacios intercelulares de todos los mamíferos, que pueden encontrarse en forma soluble como anticuerpos o anclados a la membrana celular de los linfocitos B constituyendo en ellos el receptor para antígenos (BCR). Todas las inmunoglobulinas comparten un mismo patrón de estructura formado por cuatro cadenas polipeptídicas: dos cadenas pesadas idénticas y dos livianas también idénticas entre sí, unidas por enlaces disulfuro. Tanto las cadenas pesadas como las livianas están formadas por una estructura básica de 110 aminoácidos denominadas dominio inmunoglobulina, que se repiten cuatro veces en cada una de las cadenas pesadas y dos veces en cada una de las cadenas livianas.

Las proteínas que presentan esta estructura pertenecen a la superfamilia de las inmunoglobulinas. Una superfamilia corresponde a un grupo de proteínas que comparten al menos un 15% de la secuencia de aminoácidos. Los miembros de esta superfamilia son moléculas de superficie celular o solubles que intervienen en la respuesta inmune cuyos genes se encuentran en diferentes cromosomas y que probablemente derivan de un gen precursor común. Integran esta superfamilia: las inmunoglobulinas, el TCR, las moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad de clase I y de clase II, el CD2, CD3, CD4, CD8, CD28, el receptor para el Fc, diferentes moléculas de adhesión intercelular (ICAM 1 e ICAM 2) y el receptor del factor de crecimiento derivado de las plaquetas, entre otras.

Todas las moléculas de inmunoglobulinas tienen

tanto en las cadenas pesadas como en las cadenas livianas un extremo amino terminal y otro carboxilo terminal. La secuencia de aminoácidos de las cadenas pesadas y livianas de distintas inmunoglobulinas revela una variabilidad importante en el extremo amino terminal. Esta región se conoce como región variable de las inmunoglobulinas y se identifica como VL para las cadenas livianas y VH para las pesadas. Esta variabilidad no está distribuída de modo uniforme en toda la región variable, sino que se encuentra en tres segmentos de diez aminoácidos cada uno, no contiguos, denominados región hipervariable. Las secuencias de aminoácidos ubicadas entre estas tres regiones hipervariables son las responsables del plegamiento de la inmunoglobulina al hacer contacto con la superficie del antígeno.

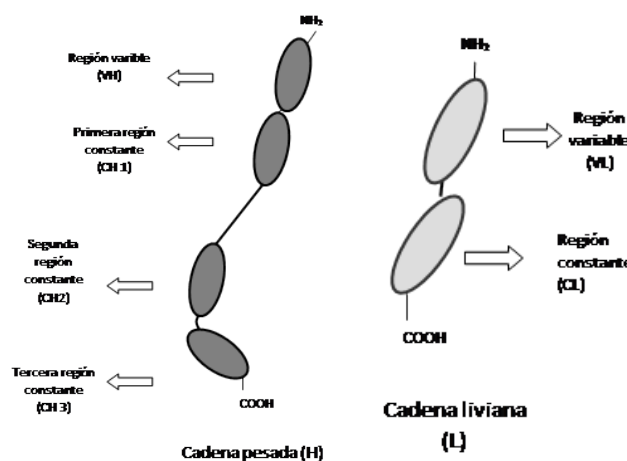
La secuencia de aminoácidos hacia el extremo carboxilo terminal de la molécula, se encuentra altamente conservado entre las distintas inmunoglobulinas y se lo identifica como CL (región constante en las cadenas livianas) y CH (región constante en las cadenas pesadas). Sin embargo existen pequeñas variaciones en la secuencia de aminoácidos de las regiones constantes de las cadenas pesadas y livianas; esto define cinco clases o isotipos diferentes de cadenas pesadas (μ , δ , γ , α y ϵ) y dos clases de cadenas livianas (κ y λ). Las inmunoglobulinas formadas por cada uno de estos tipos de cadenas pesadas se conocen como IgM, IgD, IgG, IgA e IgE, respectivamente, y pueden contener cualquiera de los dos tipos de cadenas livianas. A su vez pequeñas diferencias entre las cadenas pesadas de IgG e IgA permiten diferenciar cuatro subclases de IgG (IgG1, IgG2, IgG3 e IgG4; que van a contener respectivamente las cadenas pesadas $\gamma 1$, $\gamma 2$, $\gamma 3$ y $\gamma 4$) y dos subclases de IgA (IgA1 e IgA2) que va a contener las cadenas pesadas $\alpha 1$ y $\alpha 2$. Finalmente cada uno de los nueve isotipos de inmunoglobulinas (IgM, IgD, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1, IgA2 e IgE) pueden contener dos cadenas livianas κ o dos cadenas livianas λ .

Construyendo una inmunoglobulina

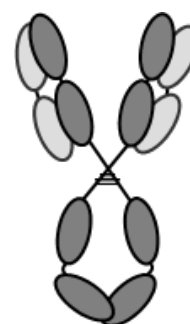
1. Una molécula de inmunoglobulina está formada por una unidad que se repite, denominada estructura básica de inmunoglobulina, constituída por 110 aminoácidos



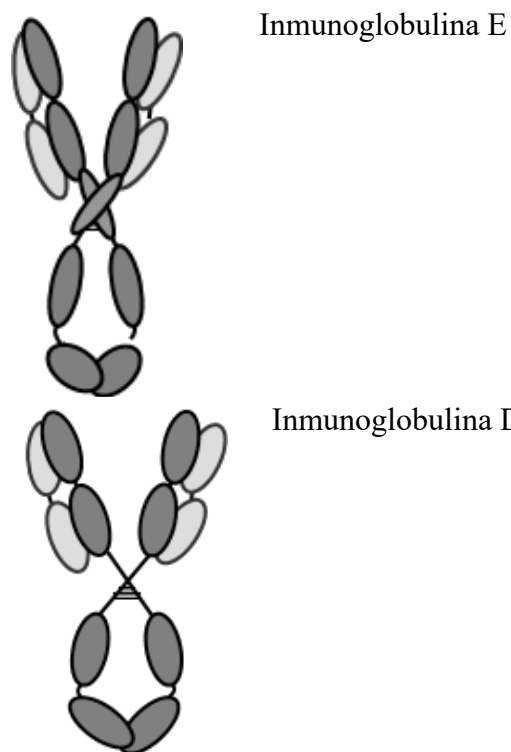
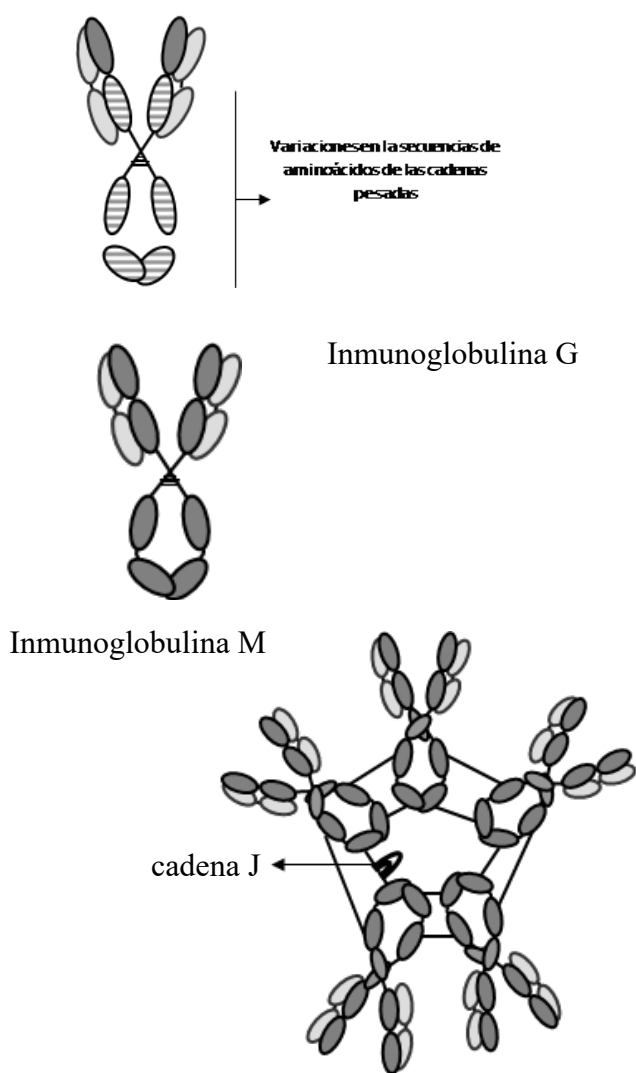
2. Cuatro de estas estructuras básicas forman una cadena pesada de inmunoglobulinas (H) y dos de ellas una cadena liviana (L), presentando cada una de ellas un extremo amino terminal y un extremo carboxilo terminal. Cada cadena pesada tiene una región variable en el extremo amino terminal (VH) y tres o cuatro regiones constantes (CH 1, CH 2 y CH3). Cada cadena liviana tiene una región variable en el extremo amino terminal (VL) y una región constante (CL).



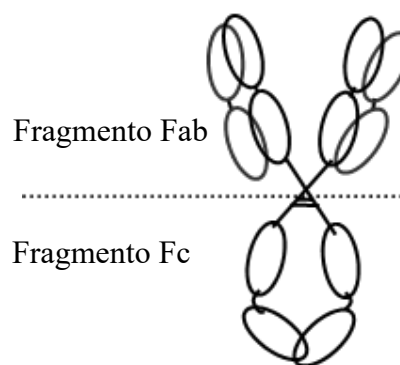
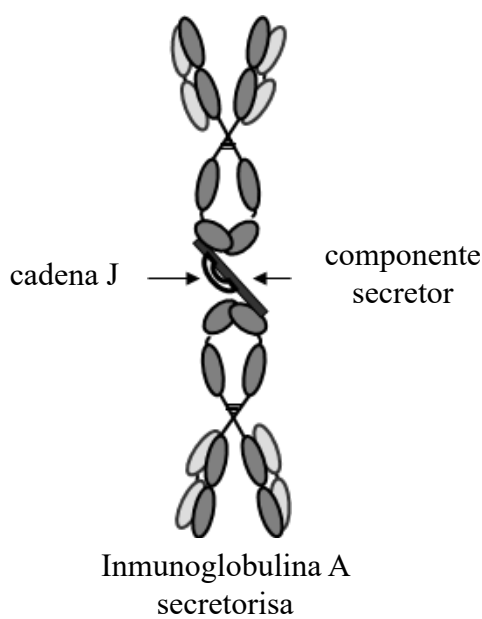
3. Dos cadenas pesadas y dos cadenas livianas forman una molécula de inmunoglobulina. Las cadenas se asocian a través de uniones de puentes disulfuro:



4. Las variaciones en la secuencia de aminoácidos en las regiones constantes de las cadenas pesadas (señaladas en el dibujo con trama rayada), definen cinco clases o isotipos diferentes de inmunoglobulinas (IgM, IgD, IgG, IgA e IgE), que se diferencian en función y en estructura.



Otro aspecto interesante es que la digestión enzimática de las inmunoglobulinas resultan dos fragmentos: el fragmento Fab (del inglés: fragments antigen-binding), con afinidad y especificidad para unirse al antígeno y el fragmento Fc (del inglés crystallizable fragment) con funciones efectoras propias de cada isotipo de inmunoglobulinas.

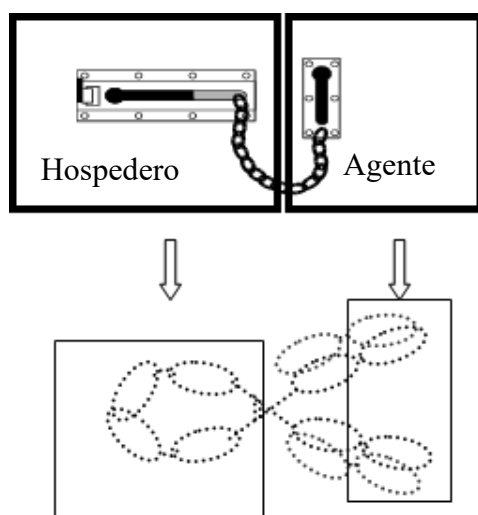


El fragmento Fab cumple la función específica de la inmunoglobulina que es unirse al antígeno, recubriéndolo de tal modo que no alcance a sus receptores celulares. Esta función se denomina neutralización, y es similar a lo que ocurre con un jugador de rugby cuando es aprisionado por sus adversarios y no puede alcanzar la pelota. Esta función es realizada por las IgG, IgM e IgA.

Por otra parte, distintos leucocitos e incluso las plaquetas expresan en sus membranas receptores específicos para la región Fc para los isotipos de inmu-

noglobulina IgG, IgM e IgA (FcR: receptor para el Fc). La unión de la inmunoglobulina al FcR sólo es posible cuando la inmunoglobulina está unida al antígeno. Esta unión inmunoglobulina – FcR dispara diferentes mecanismos celulares, por ejemplo si se une Ig-Ag al receptor FcR de los macrófagos, aumenta la eficiencia del proceso de endocitosis (para fagocitar patógenos y destruirlos y/o para la presentación antigénica). Esta función es realizada por la IgG y la IgA. Las inmunoglobulinas G y A también están involucradas en procesos de citotoxicidad dependiente de anticuerpos cuando el complejo antígeno-inmunoglobulina se une a través de la porción Fc al FcR de las células NK. Esto mejora el proceso de lisis celular llevado a cabo por las células NK. Por otra parte la IgE al ligarse al antígeno, estimula la degranulación de los eosinófilos y mastocitos a los que está unida desde su porción Fc.

De este modo las moléculas de inmunoglobulinas tienen una estructura que les permite ser bifuncional y representan un anclaje entre el antígeno extraño y el huésped: mientras que la región Fab está unida al antígeno a través de la zona hipervariable, la porción Fc está unida a los sistemas celulares del huésped (linfocitos, fagocitos, células NK ó complemento).



Esta figura esquematiza la estructura bifuncional de las inmunoglobulinas (cadena) la cual por una parte está ligada al agente extraño, y por la otra lo está al huésped.

La inmunoglobulina G es la principal inmunoglobulina del suero y representa el 80% del total de las inmunoglobulinas. Está presente en el plasma sanguíneo y en los líquidos tisulares. Aparece tardíamente en la respuesta primaria a patógenos y es la

responsable de la respuesta secundaria. Brinda inmunidad pasiva “in utero” y en el recién nacido; y es la responsable de la memoria inmunológica.

La inmunoglobulina M representa el 10% del total de las inmunoglobulinas y está constituida por cinco monómeros unidos por una cadena J (del inglés: joining, unión). Tiene la particularidad estructural de que cada una de las cadenas pesadas están constituidas por una región variable y 4 regiones constantes. Por su tamaño no atraviesa la placenta. Está estrechamente relacionada con la respuesta primaria.

La inmunoglobulina A representa el 15% del total de inmunoglobulinas; una pequeña proporción está presente en el suero en forma de monómero, pero la mayor parte de la IgA sérica está en forma de dímero que se mantiene unido por una cadena J. La IgA cuando es transportada a la superficie de las mucosas adquiere una proteína denominada pieza secretoria. La IgA tiene un papel muy importante en la protección de los epitelios mucosos del tracto digestivo, respiratorio y genitourinario.

La inmunoglobulina D se encuentra sobre las células B y liga antígenos, interviniendo en la señal de reconocimiento.

La inmunoglobulina E está presente en pequeñas cantidades. Estructuralmente las moléculas de IgE poseen cuatro dominios en la región constante; el último dominio (CH4) es el que le permite ligarse a la superficie de los mastocitos y de los basófilos. Cuando dos moléculas de IgE en la superficie de estas células se entrecruzan, las células se degranulan liberando histamina y otros mediadores químicos. Está relacionada con la respuesta inmune a parásitos. Cuando se une al antígeno puede fijarse por su extremo Fc a la membrana celular de los mastocitos y de las células cebadas, promoviendo su degranulación.

Los linfocitos T son un conjunto de células que ayudan a los linfocitos B en la producción de proteínas y lisan células modificadas por los antígenos

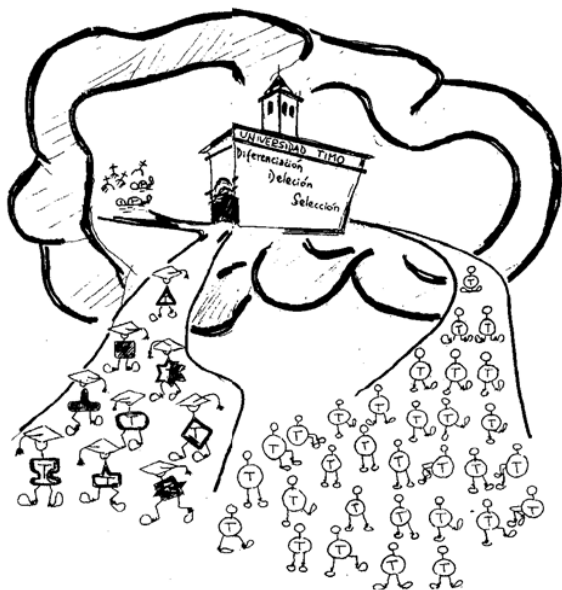
Los linfocitos T son un conjunto de células que ayudan a los linfocitos B en la producción de proteínas y lisan células modificadas. A pesar de lo eficaz que es el mecanismo de acción de los linfocitos B, ellos sólo constituyen una parte del sistema inmunitario. Las células T son tan complejas como esenciales para la competencia inmunológica.

La diferenciación de los linfocitos T inmaduros

provenientes de médula ósea se produce dentro del microambiente del timo, allí se diferencian en linfocitos T colaboradores, T citotóxicos y en T supresores; adquiriendo los marcadores de superficie y funciones características. En el timo se seleccionan los clones de linfocitos T que reconocerán antígenos extraños en el contexto de lo propio (CMH) y se eliminan (delección) los clones de linfocitos T que reaccionan contra antígenos propios. La mayoría de los timocitos mueren durante estos procesos de selección dentro del timo; sólo una minoría se diferenciarán en forma exitosa en LT maduros que expresarán el marcador CD4+ ó CD8+. Finalmente, los linfocitos T maduros migrarán a los órganos linfoides periféricos (secundarios y terciarios) y la sangre.

Luego de esta selección y aprendizaje, nuestro organismo dispone de los clones linfocitarios capaces de reconocer los antígenos extraños a los que se enfrentará a lo largo de su vida.

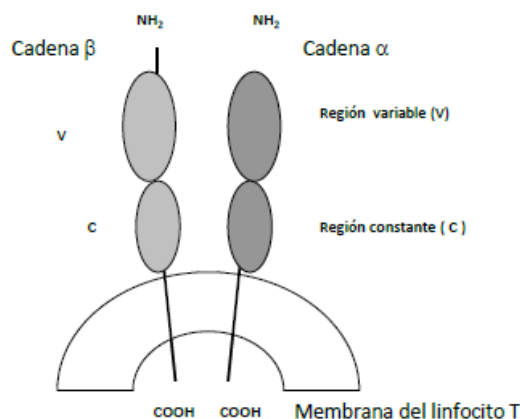
¿Cuáles son las funciones de las poblaciones de linfocitos T? Los linfocitos T colaboradores o helper, ayudan al linfocito B para la producción de anticuerpos y para la diferenciación de linfocitos T citotóxicos efectores. Los linfocitos T citotóxicos son los que destruyen células infectadas por acción directa. Los linfocitos T supresores son los que autolimitan la respuesta inmune. Participan también en la eliminación de células B y T dirigidas contra elementos del propio organismo.



La Universidad del Tímo: en la diferenciación de los linfocitos T

Los linfocitos T se han especializado en recono-

cer antígenos acoplados a moléculas de histocompatibilidad que se presentan en la superficie de células. Para esto, los linfocitos T maduros tienen un receptor en su membrana que genéricamente se denomina complejo TCR (T cell receptor: receptor de la célula T). Además del complejo TCR los linfocitos disponen en su membrana de otras proteínas que se llaman colectivamente moléculas accesorias, denominadas CD3 e iguales en todos los linfocitos T. A través de estas moléculas accesorias los linfocitos T se anclan de manera inespecífica a las células de su entorno para inspeccionar mediante el complejo TCR los fragmentos de antígenos contenidos dentro de las moléculas del CMH. De producirse un reconocimiento TCR-antígeno, se desencadena una serie de reacciones químicas en el interior del linfocito que llevan a su activación. Si no se produce un reconocimiento el linfocito T se separa de la célula y continúa con la vigilancia. El TCR tiene una estructura que lo incluye en la superfamilia de las inmunoglobulinas.



La mayor parte de los linfocitos tiene las cadenas polimórficas α y β formando el TCR y se denominan linfocitos T $\alpha\beta$. Este es el caso de los linfocitos T cooperadores (CD4 positivos) y citotóxicos (CD8 positivos). Sin embargo existe una pequeña población de linfocitos T que tiene las cadenas polimórficas γ y δ , se denominan linfocitos $\gamma\delta$, son CD4 Y CD8 negativos y se desconoce su función.

Funcionalmente los linfocitos T $\alpha\beta$ pueden ser citotóxicos o cooperadores

Los linfocito T $\alpha\beta$, de acuerdo a la función que desempeñen en la respuesta inmune, se subdividen en linfocitos T cooperadores y en linfocitos T citotóxi-

cos, que expresan en sus membranas marcadores celulares o coreceptores, que también los diferencian y condicionan su función biológica. En su mayoría los linfocitos T cooperadores expresan la molécula CD4, mientras que los citotóxicos se caracterizan por expresar la molécula CD8. A su vez, los linfocitos T $\alpha\beta$ CD4 positivos se subdividen, de acuerdo a las quimiocinas que puedan sintetizar, en linfocitos Th1, que sintetizan IL2 e interferón tipo II (inmune), y linfocitos Th2 que sintetizan IL4, IL5, IL10 e IL13.

Los linfocitos T cooperadores (CD4) generan señales que “ayudan” a los linfocitos B, a los linfocitos T citotóxicos (CD8) y a los fagocitos a cumplir sus funciones inmunológicas.

Los linfocitos T cooperadores ayudan a otros tipos celulares a través de la emisión de “señales”. Estas señales pueden ser transmitidas por interacción directa entre moléculas presentes en la membrana del linfocito T cooperador y la célula receptora de la señal, o a través de las quimiocinas. Es así que los linfocitos T cooperadores ayudan a los linfocitos B para la producción de anticuerpos y a los linfocitos T citotóxicos para su proliferación y diferenciación en células efectoras de la citotoxicidad.

Los linfocitos T citotóxicos (CD8) destruyen células infectadas por virus

Los linfocitos T citotóxicos tienen por función biológica destruir o lisis células modificadas, es así que interactuando directamente con las células infectadas liberan “proteínas balas” denominadas perforinas, las que actúan sobre la membrana plasmática de la célula infectada, “perforándola”. El resultado final es la lisis de la célula diana. En algunos casos la lisis se induce por interacción entre moléculas de la membrana del linfocito T (CD 95L) y la célula infectada (CD95), lo que dispara en la célula diana el mecanismo de muerte celular programada o apoptosis.

Los linfocitos T reconocen al antígeno “de la mano” de una molécula propia del complejo mayor de histocompatibilidad

Doherty y Zinkernagel proponen la hipótesis del reconocimiento antigénico a través de una doble señal: las cadenas polimórficas $\alpha\beta$ del TCR, reconocen al antígeno extraño en el contexto de moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad (CMH)

A lo largo de los últimos cien años se aceptaba la idea que tanto las bacterias como los virus podían desencadenar por sí solos el funcionamiento de la red defensiva del huésped. Sin embargo las preguntas sobre el modo mediante el cual el sistema inmune distingue las células sanas de las infectadas y a qué obedece la variabilidad de respuesta inmunitaria hacia un mismo antígeno entre diferentes huéspedes comenzaron a encontrar explicaciones recién a partir de la década de 1970. Doherty y Zinkernagel coincidieron por casualidad trabajando en la Universidad Nacional de Australia con el virus de la coriomeningitis linfocitaria. Les interesaba averiguar porqué morían los ratones de laboratorio infectados con el virus de la coriomeningitis linfocitaria, siendo que el agente no mata a las células infectadas. Partían de la hipótesis que los linfocitos T que atacaban a las células infectadas de la médula espinal, desencadenaban una reacción inflamatoria letal. Para someter su hipótesis a prueba, estos investigadores aislaron células T citotóxicas del líquido cerebroespinal de ratones infectados con el virus; las cultivaron luego con células extraídas de ratones sanos de la misma estirpe, y las expusieron luego al virus. Según lo esperado, las células T citotóxicas destruyeron a las células ahora infectadas. Pero, cuando repitieron el experimento utilizando células T y células infectadas correspondientes a ratones de diferentes estirpes, las células T no eran capaces de destruir las células infectadas a menos que compartieran proteínas del Complejo Mayor de Histocompatibilidad (CMH). A partir de estos experimentos, Doherty y Zinkernagel propusieron la hipótesis del reconocimiento antigénico a través de una doble señal, esto es que los linfocitos T para desencadenar una respuesta inmune deben “ver” simultáneamente al péptido antigénico y a proteínas del CMH. Es decir el sistema inmune será capaz de defendernos siempre que vea lo extraño unido a moléculas propias. Este resultado inesperado les valió el Premio Nobel de Medicina en 1996 y cimentó las bases de una explicación pormenorizada de los mecanismos de reconocimiento, activación y regulación del sistema inmune.

Los linfocitos T $\alpha\beta$ se han especializado a través de procesos biológicos evolutivos, en el reconocimiento de pequeños péptidos antigénicos presentes en la membrana de la célula infectada; pero para poder “reconocer algo extraño”, el linfocito T necesita

“ver eso extraño” unido a “algo propio”, que son las moléculas del CMH. Pero ocurre, que los linfocitos T colaboradores están biológicamente programados para “ver” diferente que los linfocitos T citotóxicos. Esto es, los linfocitos T cooperadores necesitan “ver” al péptido antigénico unido a CMH de clase II, mientras que los linfocitos T citotóxicos sólo pueden “ver” a los antígenos si estos están unidos a CMH de clase I.

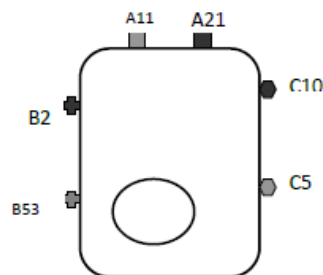
Las moléculas del CMH son proteínas de membrana propias de cada huésped, que están presentes en las células nucleadas. Se diferencian en dos tipos de CMH, la clase I y la clase II. Todas las células de los tejidos, pueden expresar moléculas de clase I y unas pocas células, las presentadoras de antígenos, pueden expresar además moléculas de clase II. Existen varias versiones para cada clase de moléculas de CMH y todas ellas coexisten simultáneamente en la membrana de la misma célula. Cada versión está codificada por un gen diferente y en los humanos las versiones de las moléculas de clase I son A, B y C. Las versiones de clase II son DR, DQ y DP. Todas las células pueden por lo tanto, presentar péptidos a los linfocitos T utilizando cualquiera de sus moléculas de clase I y las células macrofágicas pueden también hacerlo con cualquiera de sus moléculas de tipo II.

A su vez, cada molécula de histocompatibilidad tiene muchos alotipos, pero cada individuo posee como máximo dos, uno heredado del padre y el otro heredado de la madre. Por ejemplo un individuo genéticamente puede ser para la clase I A : A2 y A30 ; otro puede ser A11 y A23. Un tercero podría tener otras dos moléculas IA diferentes. Cuando se analiza una muestra suficientemente grande de individuos, se advierte que la diversidad de moléculas IA que existen es muy grande. Lo mismo ocurre con las otras variedades de moléculas de histocompatibilidad. Esto hace que cada individuo tenga su “marca genética propia” de histocompatibilidad. Este hecho explicaría que ciertas enfermedades autoinmunes tengan más frecuencia entre individuos que codifican ciertas moléculas de CMH. Aún no se conoce el mecanismo, pero en principio se atribuye a una falla en esas moléculas de CMH para eliminar durante la vida fetal a los clones de linfocitos T autoreactivos o a una falla para presentar ese antígeno en particular a los linfocitos T, haciendo de alguna manera que un péptido propio del huésped le parezca extraño al linfocito T. Por otra parte, las moléculas del CMH

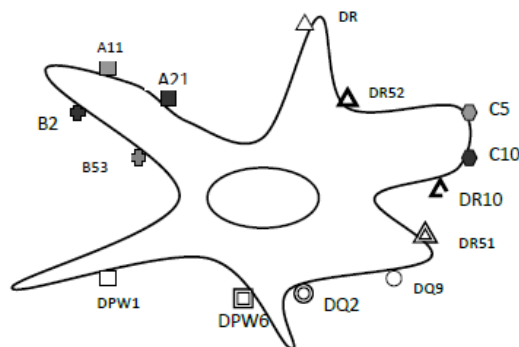
son las responsables del rechazo de injertos. Tampoco está claro el mecanismo, pero el hecho concreto es que al transplantar un órgano de un individuo a otro, la principal respuesta inmune celular se genera contra las moléculas del CMH del injerto, que normalmente serán diferentes a las del hospedero.

Construyendo células que expresan CMH tipo I y tipo II, en un individuo

Una misma célula expresa simultáneamente las versiones A, B y C de moléculas del CMH de tipo I, y para cada versión existen hasta dos variantes posibles en un mismo individuo. En la figura, una célula renal exhibe sus moléculas del CMH de tipo I (Las moléculas de tipo I se esquematizan como figuras llenas).



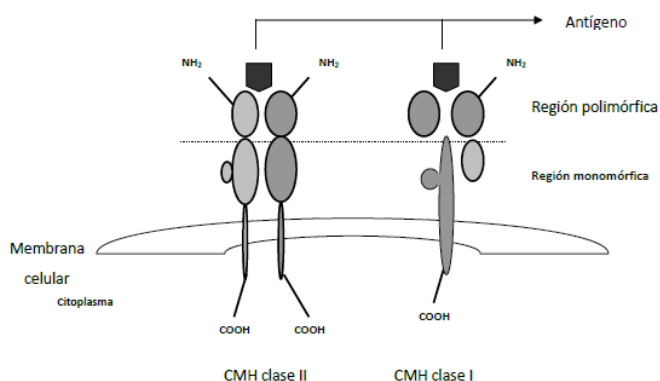
Un macrófago, del mismo individuo al que pertenece la célula renal, exhibe además de las CMH de tipo I, las moléculas del CMH de tipo II en sus versiones DR, DQ y DP en diferentes cantidades de variantes cada una: cuatro variantes de la versión DR, dos variantes de la versión DQ y dos variantes de la versión DP, en esta situación. (Las moléculas de tipo II se esquematizan como figuras vacías).



Las moléculas de histocompatibilidad pertenecen a la superfamilia de las inmunoglobulinas

Las moléculas de histocompatibilidad pertenecen a

la superfamilia de las inmunoglobulinas, tienen un extremo amino terminal y otro extremo carboxilo terminal; una región polimórfica y otra región monomórfica.



Cada variante de molécula (clase I y clase II) tiene una estructura única y diferente en su región pleomórfica (esto es, todas las moléculas A1 son idénticas entre ellas y diferentes a las A2, las que a su vez son idénticas entre sí), lo que hace que cada variante sea capaz de unirse mejor a algunos antígenos que a otros. Sin embargo, existe una gran flexibilidad, lo que hace que la gran mayoría de las veces sea necesario que el antígeno cumpla sólo con ciertos requisitos mínimos para que una determinada molécula de histocompatibilidad lo pueda unir, como por ejemplo estar constituido por un número determinado de amino ácidos y tener un amino ácido en particular en una posición dentro de la secuencia del péptido. De este modo, la región pleomórfica de esta molécula de histocompatibilidad está dotada biológicamente para unir una amplia variedad de péptidos antigénicos, siempre y cuando éstas compartan los requisitos estructurales.

La región monomórfica es la que ancla la molécula de histocompatibilidad a la membrana celular e interactúa con el co-receptor CD4 ó CD8 de los linfocitos.

Conviene aclarar aquí que la variabilidad del TCR $\alpha\beta$ es diferente del polimorfismo de las moléculas de histocompatibilidad. Cada individuo genera un número ilimitado de regiones variables diferentes en el TCR, y todas ellas coexisten en un mismo individuo, sólo que cada clon de linfocitos T expresa en su membrana un único tipo de TCR $\alpha\beta$, que reconocerá específicamente a un antígeno en particular. En el caso de las moléculas de histocompatibilidad, cada individuo dispone de un número limitado de moléculas diferentes, que coexisten en cada célula;

lo que ocurre es que esas moléculas son, en general, todas distintas de un individuo a otro.

La función biológica de las moléculas de histocompatibilidad es rescatar péptidos extraños del interior de las células y exponerlos en la membrana celular

La función biológica de las moléculas de histocompatibilidad es la de “patrullar” el medio intracelular, uniendo los péptidos extraños que encuentre en la célula huésped y exponiéndolos en su membrana celular. De este modo las moléculas de histocompatibilidad “presentan” o “muestran” a los LT componentes antigénicos extraños del huésped. Las moléculas de clase I muestran el antígeno a los linfocitos T citotóxicos (CD8) y las de clase II hacen lo propio a los linfocitos T cooperadores (CD4). Esto no es fruto de la casualidad, sino que responde a una complementariedad estructural entre los linfocitos T y las moléculas de histocompatibilidad. La razón de ésta selectividad está en la interacción entre el coreceptor CD4 y CD8 y las moléculas clase II o clase I respectivamente. Por lo tanto, un linfocito T citotóxico (CD8) no puede “identificar” una exposición antigénica hecha por una molécula clase II porque no tiene complementariedad estructural con esta molécula para aproximarse al escenario y “ver de cerca”.

En las mucosas, las células M funcionan como un puente entre el agente infeccioso y las células del sistema inmune

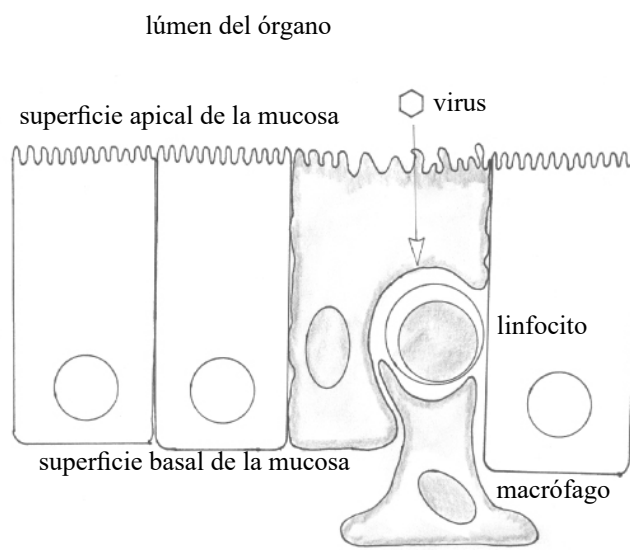
Las barreras mucosas son el sitio de contacto y puerta de entrada de numerosos agentes infecciosos. Es por ello que en estas superficies se encuentra una parte muy importante del repertorio del sistema inmune, a menudo organizado en folículos linfoides o bien como células libres del sistema inmune. El principal isotipo de inmunoglobulina en estas superficies es la IgA, que a modo de ejemplo de su importancia, solo en el tracto gastrointestinal duplica la cantidad total de IgG producida por el huésped. Las células efectoras en las superficies mucosas son las células plasmáticas productoras de IgA y en especial los linfocitos T CD4+ y los T CD8+.

El sistema inmune asociado a mucosas opera en las superficies en contacto con el medio externo como una red asociada al tracto gastrointestinal, respiratorio y genital; así como en conjuntiva, oído medio y conductos de glándulas mamarias. En estas superfi-

Capítulo 5

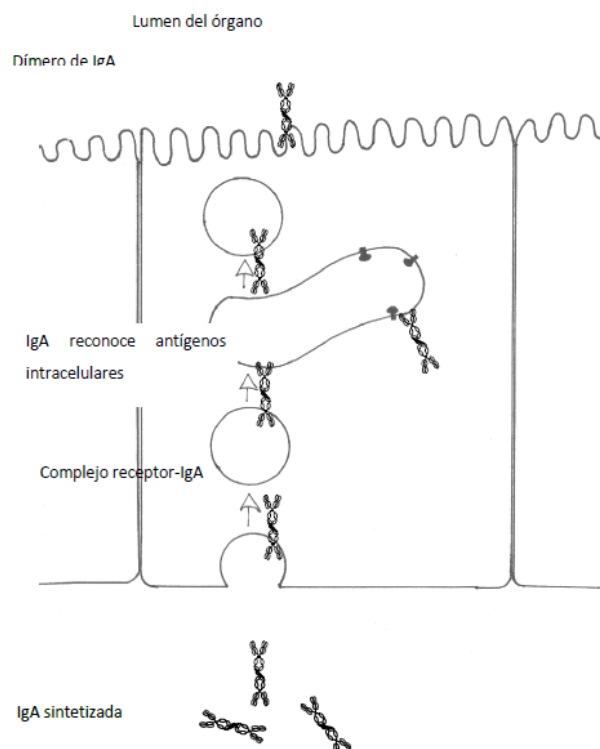
Biología de la respuesta inmune

cias externas se localizan las células M las que poseen una forma e importancia particular. Ubicadas en la mucosa por su parte apical están en contacto con la luz del órgano y por su parte basal poseen una superficie con invaginaciones que forman como “bolsillos” en donde se ubican diferentes células del sistema inmune tales como linfocitos B, linfocitos T, macrófagos y células dendríticas. En estas células ingresan antígenos, presentes en el lumen del órgano, que por un mecanismo de transcitosis (simple tránsito celular) atraviesan estas células en vesículas endocíticas para ser liberados en estos “bolsillos” ocupados por las células del sistema inmune. De este modo estas células representan un momento clave para el desarrollo de la respuesta inmune en las mucosas pero también son el primer tramo del camino por el cual diversos virus y bacterias (reovirus, rotavirus, poliovirus, Salmonella spp., Escherichia coli enteroinvasiva) atraviesan la barrera mucosa del huésped. Es decir las células M son puente entre el antígeno y las células presentadoras de antígenos.



Así es que bajo la superficie de las mucosas, el antígeno presentado estimulará los clones específicos de linfocitos B, los que una vez diferenciados en células plasmáticas sintetizarán la IgA en la forma de dímeros. Estos dímeros de IgA se unen a un receptor de inmunoglobulina presente en la superficie basal de las células epiteliales. Este complejo receptor-IgA dímero es endocitado por las células epiteliales a las que atravesará por un mecanismo de transcitosis, mecanismo similar al utilizado por el antígeno, hasta llegar a la superficie apical. En el lumen las proteasas liberarán el receptor del dímero de IgA. Sólo una parte del receptor el denominado

componente secretor, permanecerá unido al dímero de IgA. Es importante considerar que durante este mecanismo de transcitosis la inmunoglobulina puede encontrarse con antígenos virales específicos y neutralizarlos intracelularmente.



Los conceptos expresados en este capítulo respecto a las interacciones receptor ligando, así como la subdivisión de poblaciones celulares con funciones diferentes, es una visión simplificada de estas situaciones a fin de facilitar el acceso a la comprensión del sistema inmune en movimiento. En esta simplificación se han omitido a menudo conceptos contrastantes tales como por ejemplo: la identificación de células citotóxicas que son CD4+; la actividad de células LAK, naturalmente asesinas que son indistinguibles de las NK; la descripción de diferentes subpoblaciones funcionales de células T CD4+ (CD29+/ CD45RO, con función colaboradora y CD45RA, con función supresora y citotóxica; la participación de subpoblaciones de células CD8, algunas de las cuales producen interleuquina 2 (CD28) y otras sólo responden a interleuquina 2 (CD 116/ CD 18) así también como la participación de innumerables moléculas accesorias que intervienen, refuerzan, facilitan y/o inducen acontecimientos intracelulares relacionados a los procesos de presentación antigénica, activación y mecanismos efectores de la respuesta inmune.

CAPÍTULO 6

El sistema inmune en movimiento

En el comienzo lo innato domina la escena

La mayoría de los agentes se detienen en las murallas: no pueden atravesar la piel y las mucosas

Cuando el agente ingresa a las células de los epitelios, "la situación se complica"

El sistema inmune innato activa al sistema inmune adaptativo

Las células infectadas también le avisan al sistema inmune que han sido "atacadas"

Los linfocitos B reconocen al agente invasor en su forma soluble y presentan sus fragmentos a los linfocitos T cooperadores

El movimiento de células, su tráfico y sitios de alojamiento de la respuesta adaptativa

Respuesta inmune humoral en el diagnóstico de las infecciones virales

La respuesta celular elimina a las células infectadas

Los mecanismos adaptativos de defensa se integran

Uniendo las fuerzas: la respuesta adaptativa se combina con la innata

El sistema inmune "repliega las fuerzas"

El sistema inmune y el neuroendocrino se comunican

Este capítulo del sistema inmune en movimiento es un modo de comprender una serie de dinámicas contra el agente infeccioso en la que participan diferentes estructuras biológicas y mecanismos que se reconocen y comunican generando una red intrincada de eventos. La integración y cooperación entre moléculas, células y mecanismos que constituyen el sistema inmune es un ejemplo fascinante del ingenio biológico, capaz de mantener una continua vigilancia, reconocer una variedad de patrones asociados a patógenos así como una ilimitada cantidad de sustancias extrañas, distinguiéndolas de las propias, mantener la tolerancia hacia los componentes del propio organismo y recordar cada una de las infecciones.

En el comienzo lo innato domina la escena

La mayoría de los agentes se detienen en las murallas: no pueden atravesar la piel y las mucosas

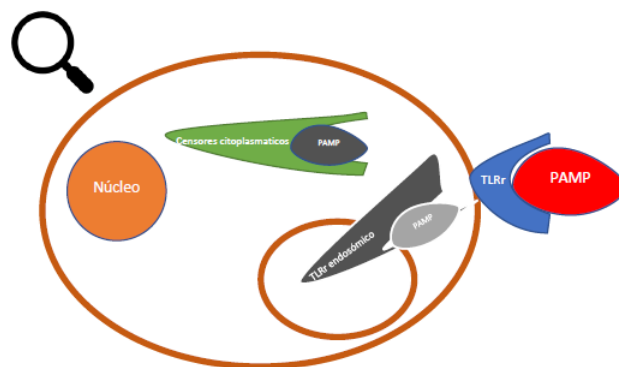
La superficie humana está cubierta por epitelios y mucosas que constituyen una barrera física, fisiológica (movimientos ciliares, lisozima y jugos gástricos) y microbiológica (el microbioma que tapiza estos tejidos epiteliales, ocupa receptores y compite con probables nuevos agentes).

Al ingresar un microorganismo al aparato respiratorio debe sobrevivir al sistema de filtración de aire de las vías respiratorias. La capa mucociliar atrapa muchos de ellos y con movimientos de ciliares intentan desalojarlos. La tos y el estornudo, con una

gran turbulencia, limpian la vía respiratoria. La salivación lleva a otro grupo de microorganismos a un sitio aún más inhóspito: el tracto digestivo. Aquellos agentes que ingresan al tracto gastrointestinal tendrán la dura tarea de sobrevivir a los jugos gástricos, con un medio muy ácido (pH 2 a 3) y poblado de enzimas. Aquellos que logran hacerlo llegan al intestino delgado en donde las enzimas pancreáticas y la bilis intentarán químicamente eliminarlo. También el movimiento peristáltico impide el contacto del virus con sus receptores, y para los que permanecen adheridos, la descamación se ocupa de arrastrarlos. La colaboración de una numerosa flora normal que ocupa sus receptores y compite por sus nutrientes, complica aún más la situación de este desdichado agente. En el tracto génitourinario, el agente tiene que ascender “río arriba” y bajo condiciones muy adversas en un trayecto tortuoso y prolongado en donde se encontrará con un pH desfavorable, sustancias como la urea y otros productos finales metabólicos que generan un medio hipertónico.

Cuando el agente ingresa a las células de los epitelios, “la situación se complica”

Cuando los microorganismos logran atravesar las “murallas” y acceder a las células y al espacio intercelular, el sistema inmune comienza a desplegar mecanismos adaptativos reconociendo en ellos una serie limitada de estructuras microbianas no presentes en las células del hospedero. Estos son patrones moleculares asociados a patógenos (PAMP) o patrones moleculares asociados a daño celular (DAMP), respectivamente (ver capítulo anterior). Los PAMP representan una firma molecular de una determinada clase de patógeno. Nuevamente, su reconocimiento ofrece al hospedero la posibilidad de generar la respuesta adecuada al patógeno. Esta interacción se produce pues la células del hospedero contienen receptores para PAMP (PAMP_r) que cuando se activan inducen señales en el ADN del hospedero que inician la síntesis de determinadas proteínas. Entre ellos los PAMP_r y otros tipos de sensores están ubicados en las membranas celulares o endosómicas citoplasmáticas, como se aprecia en la siguiente ilustración:



En la siguiente figura se ilustra la importancia de la activación de los PAMP_r en la respuesta innata (activación de macrófagos, reclutamiento de neutrófilos, interferón I y síntesis de citoquinas), así como su aporte con la adaptativa (maduración de células dendríticas, interferón II y síntesis de citoquinas).



Por otra parte, la vía alterna del complemento se activa por la superficie de muchos microorganismos, al carecer éstos de los mecanismos inhibitorios del complemento. Es probable que la ausencia de ácido siálico en la superficie del agente infeccioso así como la presencia de determinados polisacáridos sean los factores activadores del complemento. El resultado de la activación del complemento es la lisis celular, la quimiotaxis y la opsonización. Es así que el sistema del complemento es capaz de lisar las membranas de muchos microorganismos, de atraer fagocitos (quimiotaxis) y de recubrir la superficie de los microorganismos para que los fagocitos a través del receptor para el complemento, se adhieran al complejo agente-complemento y lo fagociten (opsonización). Si estos mecanismos no detienen el avance del agente, al menos generan el escenario propicio

para atraer células y moléculas a la zona crítica. Diferentes poblaciones celulares crean en la zona de conflicto un medio propicio para la actividad del sistema inmune. En este escenario interviene un aumento del flujo sanguíneo, para que los elementos formes lleguen con mayor facilidad, así como el aumento de moléculas de adhesión en las células endoteliales a fin de atrapar fagocitos y linfocitos, extravasándolos hacia la zona crítica. Finalmente la expresión en los endotelios de moléculas que inducen la coagulación local con el objetivo de impedir que el agente infeccioso se disemine por vía hematológica.

Los macrófagos liberan interleuquinas 1 y 6 que van a coordinar una acción generalizada de respuesta inmune frente a la infección, estimulando el catabolismo celular con el objeto de inducir un aumento en la temperatura corporal (fiebre) por vía hipotalámica y salida de las células fagocíticas de la médula ósea. Además estimula a los hepatocitos para la producción de proteína C reactiva y lectina. La lectina es una proteína específica de carbohidratos que se une a la manosa, glúcido presente en las membranas de los microorganismos y no de las células propias. Las lectinas son proteínas que imitan la acción de los anticuerpos, uniéndose a los microorganismos y provocando la activación de la vía clásica del complemento. Sin embargo a diferencia de los anticuerpos, estas proteínas no presentan especificidad ni su síntesis es específica para un antígeno, sino que son sintetizadas en respuesta a cualquier antígeno que provoque la liberación de interleuquina 6.

Las células infectadas por un virus, secretan interferones clase I cuya función es principalmente interferir con la replicación viral. El resultado final es una masa de células no infectables alrededor de aquellas infectadas que secretaron interferón. Además el interferón viral induce el aumento de la expresión de moléculas del CMH de tipo I para estimular la posterior destrucción de células infectadas por los linfocitos T citotóxicos y la activación de las células NK.

Las células NK son “verdugos” que destruyen de un modo innato a las células infectadas. De este modo se destruyen las “fábricas de virus”, limitándose la amplificación del agente. El mecanismo de reconocimiento que utilizan las células NK son ciertos carbohidratos ubicados en las membranas celulares. Su actividad está inhibida por el reconocimiento de moléculas del CMH de clase I. Por lo cual, si la cé-

lula carece de CMH de clase I (por efecto de la infección viral) la célula será “atacada”.

El sistema inmune innato activa al sistema inmune adaptativo

Cuando los virus comienzan a invadir el organismo, algunos de ellos son fagocitados, digeridos y presentados al sistema inmune por los macrófagos. La presentación antigénica es el punto de partida para la activación de los clones linfocitarios B y T.

Las células presentadora de antígenos contienen grandes cantidades de moléculas de histocompatibilidad de clase II, que son esenciales para presentar los antígenos a los linfocitos T colaboradores. Las células presentadoras de antígenos más eficaces son las células dendríticas, los macrófagos y los linfocitos B.

Las células macrofágicas fagocitan a los microorganismos, los procesan en sus lisosomas, los unen a moléculas del CMH clase II recién sintetizadas y finalmente exponen este complejo en su membrana. Este complejo es “visto y reconocido” por los linfocitos T colaboradores; pero entre millones de células T colaboradoras circulando en el torrente sanguíneo, muy pocas están programadas para “leer” la presentación de ese antígeno. Sólo aquellos linfocitos T colaboradores cuyo TCR sea complementario a ese antígeno en particular se unirán al macrófago y recibirán la señal de la invasión a través de los factores solubles liberados por los macrófagos (interleuquina 1, 4 y 12). De esta manera los linfocitos T colaboradores (Th) empezarán a activarse. Sin embargo, existen otras poblaciones celulares que son presentadoras de antígenos tales como las células de Langerhans en la piel y las células dendríticas foliculares que se encuentran en los folículos linfáticos de los ganglios y en el bazo. Las células presentadoras de antígenos contienen grandes cantidades de moléculas del histocompatibilidad de clase II, que son esenciales para presentar los antígenos a los linfocitos T colaboradores.

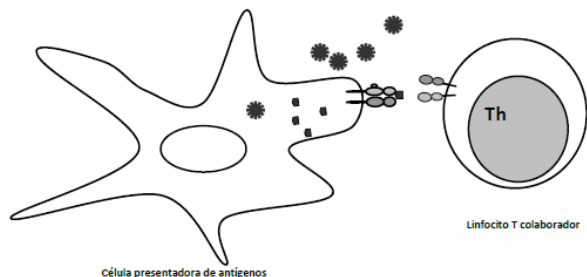
Una vez activados, estos linfocitos T colaboradores proliferan y se diferencian en linfocitos T efectores tipo Th1 y Th2, los que a su vez estimularán la multiplicación y diferenciación de linfocitos T citotóxicos y linfocitos B, respectivamente.

Los linfocitos T colaboradores Th 1 se diferencian frente a antígenos intracelulares (virus y bacterias intracelulares) y coordinan la inmunidad celular, activando a los macrófagos, a las natural killer y a

los linfocitos T citotóxicos.

Por su parte, los linfocitos T colaboradores Th 2 se diferencian frente a antígenos solubles o extracelulares (bacterias extracelulares) y coordinan la inmunidad humoral, activando los linfocitos B.

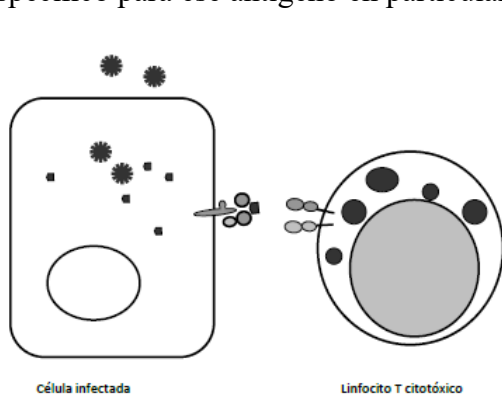
La generación de células efectoras predominantemente Th1 o Th2 es dependiente de señales que reciba el linfocito T cooperador en el momento del reconocimiento antigénico.



Algunas de las células reconocen al enemigo y lo presentan al sistema inmune. En esta figura, una célula presentadora de antígeno le muestra al TCR del linfocito T colaborador (Th) fragmentos del agente invasor en el marco de moléculas del MCH tipo II.

Las células infectadas también le avisan al sistema inmune que han sido "atacadas"

En el caso particular de las infecciones virales, donde la fuente de antígenos está en el citoplasma, los antígenos son unidos a moléculas CMH de clase I y luego expuestos sobre la membrana de la célula infectada. Este complejo será "visto y reconocido" por aquellos linfocitos T citotóxicos (Tc) que tengan un TCR específico para ese antígeno en particular.

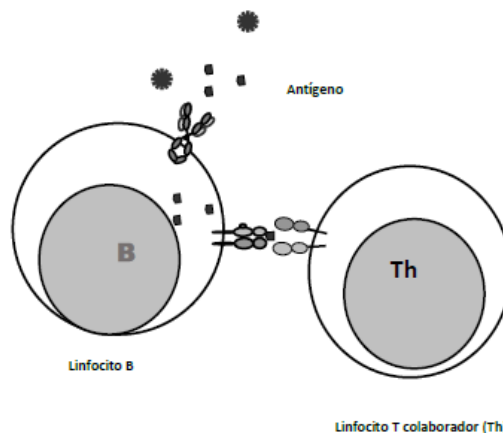


Las células infectadas exponen en sus membranas moléculas del CMH tipo I modificada por el antígeno. Este complejo es presentado a los linfocitos T citotóxicos.

Los linfocitos B reconocen al agente invasor en su forma soluble y presentan sus fragmentos a los linfocitos T coope-

radores

Los linfocitos B (LB) reconocen al antígeno en su forma soluble (libre de otras proteínas), sin contexto del CMH. Este reconocimiento es a través del receptor del linfocito B, una molécula de IgM y/o IgD que tienen en su superficie y que estructuralmente es complementaria al antígeno. La unión de un antígeno a la inmunoglobulina de membrana de las células B es el acontecimiento que inicia la activación del linfocito B y por lo tanto la respuesta inmune humoral. Las células B aumentan de tamaño, contienen cantidades mayores de ARN celular y pasan del estadio de reposo G0 al G1 del ciclo celular. De esta forma están listas para recibir las "señales" solubles (citocinas) liberadas por los LT cooperadores y proliferar. Las células B activadas se caracterizan por expresar cantidades aumentadas de moléculas de CMH clase II y gran cantidad de receptores de membrana para las citocinas. Los antígenos proteicos ya unidos a las inmunoglobulinas de superficie de los LB son internalizados y procesados por las células B, para luego ser expresados junto con los antígenos del CMH clase II y presentados a los LT cooperadores específicos para ese antígeno. Las interacciones entre estos grupos de células inducen la activación y diferenciación de las células B en células plasmáticas, productoras de anticuerpos. Así mismo las células T secretan citocinas (IL4, IL6, TNF) que también inducen la activación de las células B, generando una expansión de la respuesta inmune.



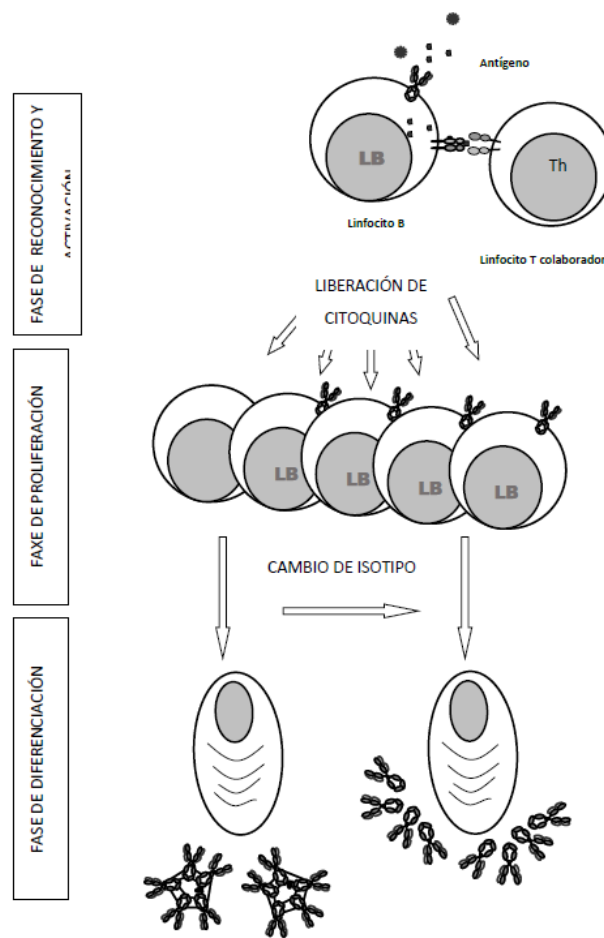
Los linfocitos B reconocen el antígeno sin las moléculas del CMH y se activan. Actúan también como células presentadoras de antígenos, exponiendo en su membrana el complejo antígeno-CMH de tipo II.

La activación, diferenciación y proliferación linfocitaria

Las interacciones entre los linfocitos B y los linfocitos T cooperadores inducen la activación y proliferación de los linfocitos B y la expansión del clon específico del antígeno. Así mismo los linfocitos T cooperadores secretan citocinas (interleuquinas 4, IL6, TNF α y TNF β) que además de ayudar a los procesos de activación y proliferación linfocitaria, inducen la diferenciación de linfocitos B en células plasmáticas, productoras de anticuerpos. En una primera etapa los linfocitos B se diferencian en células plasmáticas productoras de anticuerpos de tipo IgM, que si bien son específicos para neutralizar el antígeno que estimuló su síntesis, son de baja afinidad, es decir tienen una baja fuerza de unión entre el determinante antigénico (epítipo) y el anticuerpo (parátipo). A continuación y con el objetivo de generar una respuesta inmune altamente eficaz, los linfocitos T cooperadores a través de la liberación de citocinas, inducen en los linfocitos B un reordenamiento en los genes que codifican las cadenas pesadas de las inmunoglobulinas, resultando en la producción de anticuerpos de otros isotipos, con idéntica especificidad, pero de mayor afinidad. Es así que posterior a la producción de IgM los linfocitos B se diferencian en células plasmáticas productoras de anticuerpos tipo IgG. A su vez por acción de citocinas los linfocitos B se diferencian luego en células plasmáticas productoras de anticuerpos tipo IgG de alta afinidad. Este reordenamiento génico en los linfocitos B se conoce con el nombre de cambio de isotipo.

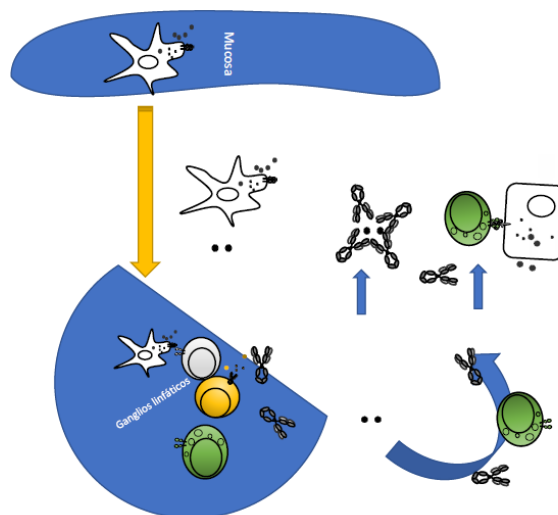
El movimiento de células, su tráfico y sitios de alojamiento de la respuesta adaptativa

En la siguiente figura se aprecia el movimiento y tráfico celular desde la mucosa donde la célula dendrítica, célula presentadora de antígenos, reconoce el antígeno y se dirige hacia el ganglio linfático a través de la circulación linfática, en donde realiza la presentación antigénica a los linfocitos T cooperadores. En el ganglio linfático llegan también los antígenos. Éstos son reconocidos y presentados por los linfocitos B a los linfocitos T cooperadores. Luego los linfocitos B se diferencian en células plasmáticas que sintetizan las inmunoglobulinas. Por otra parte proliferan y se diferencian LT citotxi-



Las interacciones entre los linfocitos B y los linfocitos T cooperadores inducen la activación y proliferación de los linfocitos B y la expansión del clon específico del antígeno. En una primera etapa los linfocitos B se diferencian en células plasmáticas productoras de anticuerpos de tipo IgM; luego por un reordenamiento genético resulta la producción de anticuerpos de otros isotipos (IgG) de idéntica especificidad pero de mayor afinidad.

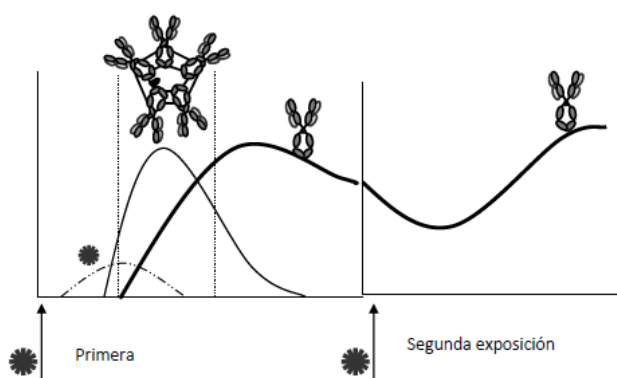
cos que luego salen a la circulación para llegar a sus células blanco infectadas. Lo propio hacen las inmu-



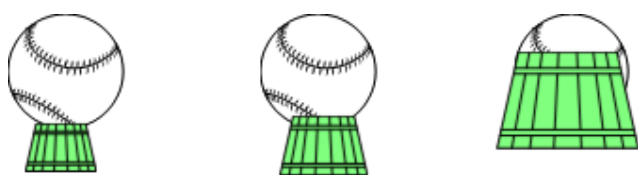
noglobulinas a fin de neutralizar antígenos solubles y realizar sus otras funciones.

Respuesta inmune humoral en el diagnóstico de las infecciones virales

Durante un período aproximado a los 45 días de iniciada la respuesta inmune humoral, es posible detectar en el suero del individuo anticuerpos de tipo IgM e IgG contra ese antígeno en particular, pasado este tiempo sólo queda circulando en suero anticuerpos de tipo IgG, correspondiendo a la memoria inmunológica. En la respuesta inmunitaria típica que sigue a una estimulación antigénica secundaria los anticuerpos aparecen más rápidamente y alcanzan mayores títulos que en el caso de una estimulación antigénica primaria. Los anticuerpos son fundamentalmente de tipo IgG.



Cinética de respuesta inmune humoral primaria y secundaria



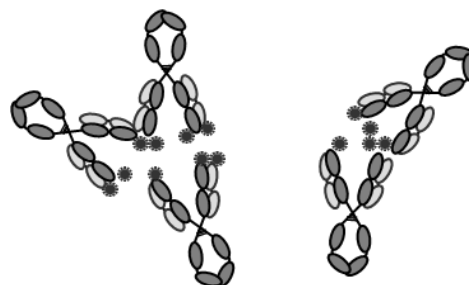
Esta figuras simbolizan la maduración de afinidad. El antígeno es la pelota y el cesto es el anticuerpo específico. La reacción antígeno anticuerpo de la izquierda es de baja afinidad, la central de afinidad media y la de la derecha de alta afinidad.

La producción de anticuerpos en respuesta a antígenos proteicos necesita imprescindiblemente de la intervención de las células T cooperadoras. A estos antígenos se los denomina “antígenos timo-dependientes”. Por el contrario, los antígenos no proteicos (ácidos nucleicos, polisacáridos y lípidos) inducen respuesta de anticuerpos sin necesidad de linfocitos

T cooperadores y se denominan “antígenos timo-independientes”. Estos antígenos no pueden ser procesados y presentados asociados al MCH por los linfocitos B y por lo tanto no pueden ser reconocidos por las células T. Los antígenos timoindpendientes no inducen la respuesta de maduración que se produce en el caso de los antígenos timodependientes, por lo tanto no se induce el cambio de isotipo de IgM a IgG ni tampoco la maduración de afinidad de los anticuerpos.

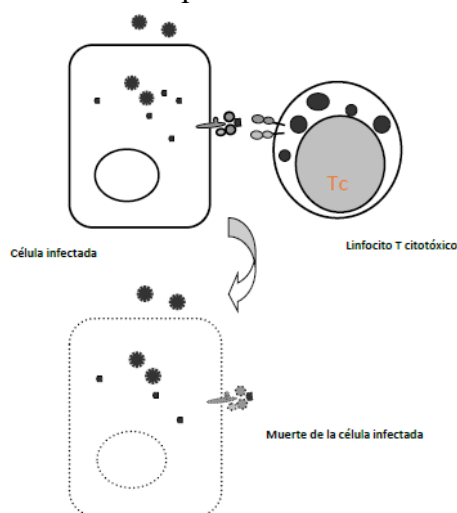
Los mecanismos celulares activados se ponen en movimiento para eliminar células infectadas y agentes virales circulantes.

Los anticuerpos, uniéndose directamente a los virus los neutralizan, bloqueando de este modo los receptores virales e impidiendo que el virus se adhiera a los receptores celulares. Esto impide que nuevas células sean infectadas.



La respuesta celular elimina a las células infectadas

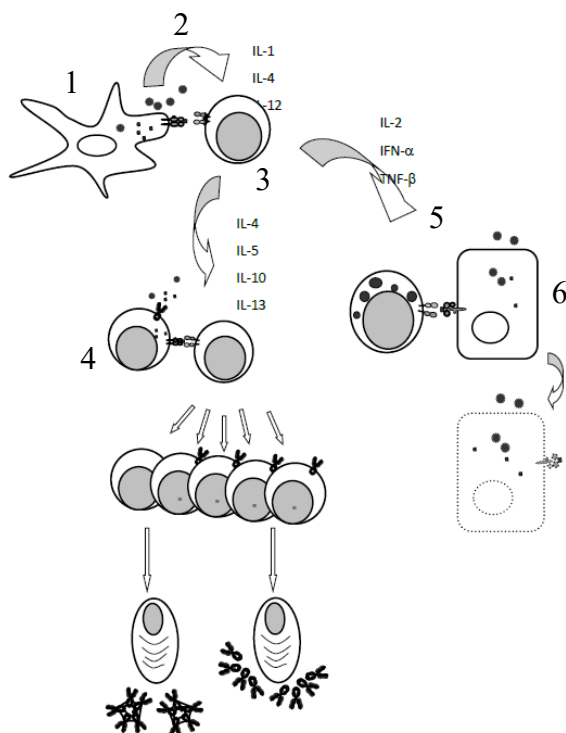
Por otra parte, los linfocitos T citotóxicos van a sacrificar las células infectadas, rompiendo sus membranas a través de mecanismos químicos mediados por perforinas o por inducción del mecanismo de apoptosis. Esto hace que el contenido de las células infectadas se vuelque al torrente sanguíneo y se interrumpa el ciclo de replicación viral.



Los mecanismos adaptativos de defensa se integran

En la figura se ilustra la integración de los mecanismos adaptativos

1. Un virus es fagocitado por un macrófago
2. Un fragmento del antígeno es presentado a las células T colaboradoras asociado a moléculas del CMH de clase II
3. Los LT colaboradores se diferencian en LT colaboradores de tipo 1 y tipo 2 y proliferan
4. Los LT colaboradores de tipo 2 activados (en rosa) secretan linfoquinas que causan la proliferación y diferenciación de los LB en células plasmáticas secretoras de anticuerpos
5. Las células T colaboradoras de tipo 1 (en color azul) secretan linfoquinas que inducen la proliferación de T citotóxicos
6. Los linfocitos T citotóxicos reconocen el antígeno extraño conjuntamente con moléculas del CMH de clase I en la membrana de la célula infectada y la lisan.

**Uniendo las fuerzas: la respuesta adaptativa se combina con la innata**

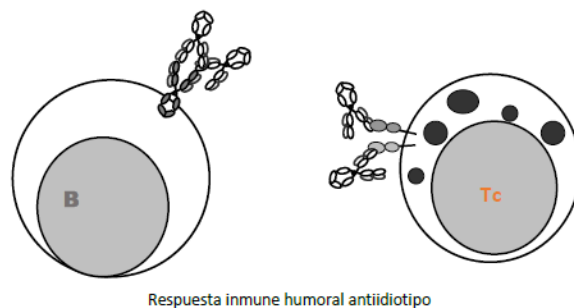
La respuesta inmune humoral mejora la actividad del sistema inmune inespecífico, activando al complemento por la vía clásica a través de la forma-

ción del complejo antígeno anticuerpo y mejorando la fagocitosis y la citotoxicidad de las células NK a través de la interacción del complejo antígeno anticuerpo con el receptor Fc del fagocito.

El sistema inmune “repliega las fuerzas”

El llamado a tregua se produce principalmente por la eliminación del estímulo antigénico. La producción de anticuerpos disminuye, pues los anticuerpos disponibles “esconden” el antígeno a la “mirada” del BCR de los linfocitos B aún no activados. Por su parte los linfocitos T citotóxicos limitan la multiplicación del agente infeccioso por destrucción de las células infectadas.

Además el TCR y el BCR son objetos también de una respuesta inmune, comportándose como antígenos e induciendo una respuesta que puede inhibir la del antígeno original. Así es que las regiones constantes del BCR y del TCR son idénticas en todos los diferentes clones linfocitarios; generando una carga antigénica tan grande que produce tolerancia a dicha región. No ocurre lo mismo frente a las regiones variables del BCR y del TCR: al ser secuencias únicas no hay una carga tal que pueda inducir tolerancia, por lo tanto esta región variable (idiotipo) genera una respuesta inmune (antiidiotipo). Los anticuerpos antiidiotipo se unen al idiotipo (BCR o TCR) compitiendo con el antígeno por el mismo sitio receptor. La respuesta inmunitaria antiidiotipo es de dos tipos: humoral y mediada por células.



Respuesta inmune humoral antiidiotipo

El sistema inmune y el neuroendocrino se comunican

El sistema inmune y el sistema neuroendocrino producen citoquinas (IL1, IL2, IL6, IFN α), neuropéptidos (encefalinas, péptido intestinal vasoactivo, etc) y hormonas (β endorfinas, TSH, ACTH, etc.) para la que ambos tienen receptores. Es así, por ejemplo, que la IL1 sintetizada en tejidos inflamados activa

el eje hipotálamo-hipófisis-suprarrenales, induciendo fiebre y sueño; la hormona melanocito estimulante liberada por los macrófagos y por la hipófisis es un fuerte antiinflamatorio natural; así como el sistema inmune activado sintetiza beta endorfinas, las que son reconocidas por las terminaciones nerviosas locales, aliviando el dolor.

CAPÍTULO 7

EL LABORATORIO, UN ESPACIO PARA LOS POSTULADOS DE KOCH

Una historia de astillas de madera, ratones y microscopios demuestra por primera vez la causa de una enfermedad infecciosa

Los postulados de Henle-Koch se apoyan en técnicas de diagnóstico directo

Los postulados serológicos de causalidad se sustentan en la detección de anticuerpos

Para el estudio de la causalidad en las infecciones congénitas, los postulados serológicos contemplan la dinámica particular de las inmunoglobulinas en el recién nacido

Los postulados de causalidad en las infecciones persistentes incluyen estudios serológicos y detección directa del virus

Los postulados de causalidad se han adaptado a los nuevos conocimientos de la historia natural de la enfermedad infecciosa

El laboratorio en movimiento es el espacio en donde se prueba la etiología de una enfermedad

Una vez en el laboratorio las muestras pueden ser procesadas para la detección del agente o la respuesta inmune

El aislamiento viral es una técnica que se fundamenta en la capacidad infectiva del agente

Construyendo una seroneutralización viral

Construyendo un enzoinmunoensayo

Construyendo una inhibición de la hemoaglutinación

En algunas situaciones los anticuerpos son indicadores de infección y no de protección

Una historia de astillas de madera, ratones y microscopios demuestra por primera vez la causa de una enfermedad infecciosa

El laboratorio es un espacio de experimentación, donde deben combinarse, de manera conveniente, cuotas de conocimientos previos, de imaginación y de destreza en el manejo de técnicas y aparatos; para abocarse a trabajar en una hipótesis con sistemática, rigor científico y entusiasmo.

Así es entonces que es en el laboratorio donde se intenta demostrar que ciertas enfermedades son pro-

ducidas por microorganismos; pero ¿cuál fue la primera evidencia que un microorganismo era capaz de producir una enfermedad específica?; ¿cómo se diseñó el experimento que demostró el origen infeccioso de una enfermedad?

Corría el año 1887 y por aquel entonces Robert Koch (1843-1910) trabajaba en una pequeña ciudad alemana, Wollstein, como médico generalista. Su esposa le había regalado un microscopio a fin que pudiera tener un pasatiempos para distraerse de los problemas de sus enfermos. Al poco tiempo se sintió cautivado por aquel “nuevo aparatito” y

pasaba gran parte de las noches trajinando con su microscopio. Al principio aprendió a graduar la luz y luego a limpiar la suciedad de los cristales. Examinaba cuanta cosa tenía por delante en los tiempos que le permitían sus pacientes. Pero a Koch le inquietaba en particular una enfermedad del ganado llamada carbunco, que por aquel entonces dieztaba los espacios económicos de los granjeros. Fue entonces cuando se le ocurrió colocar en la platina del microscopio unas gotas de sangre provenientes de animales muertos por carbunco; un día observó la presencia de unos bastoncitos y su ánimo se inquietó. ¿Qué serían? Otros hombres de ciencia habían observado estos bastoncitos, sin embargo no pudieron demostrar que fuera la verdadera causa del carbunco, aunque estos no aparecían en la sangre de los animales sanos.

¿Cómo podía demostrar que esos bastoncitos eran la causa de la enfermedad? ¿Cómo probar que estaban vivos? En ese momento la historia escribe una página mágica, comienza a escribirse el contenido de la primera página de numerosos experimentos posteriores: Robert Koch comienza a escribir el protocolo para la causalidad de las enfermedades infecciosas.

-Bueno dijo, ¡si están vivos pueden producir la enfermedad en otros animales!

Así fue que comenzó a inyectar a ratones con la sangre de animales enfermos. Utilizaba para ello una astilla de madera que untaba con el material infeccioso. Al día siguiente, fue a ver a su animal, y lo encontró muerto. Abrió el abdomen del ratón muerto y observó perplejo las mismas lesiones que había visto en el ganado. Del bazo obtuvo un poco de material que colocó en la platina y para su sorpresa observó los mismos bastoncitos que él había inoculado.

Esa noche su pensamiento no podía detenerse, y durante un mes repitió ese y otros experimentos similares.

Pero pensaba ¿estaré verdaderamente inoculando los bastoncitos, o en la sangre de los ratones habrá otro microorganismo? ... entonces ¿Debo asegurarme que lo que inyecto a los animales son los bastoncitos puros!... pero ¿Cómo puedo obtener el crecimiento de estos bastoncitos en forma pura y ver su desarrollo? De este modo en su mente tomaba forma, sentido y dimensión otra idea genial: el aislar microorganismos de enfermos.

Fue entonces que extrajo el humor acuoso del ojo

de un buey, lo colocó en un vidrio muy delgado que previamente había limpiado con mucho cuidado y agitó un trocito de bazo de un ratón infectado. Como en una estufa para cultivo, el calor de la lámpara del microscopio entibiaba el vidrio colocado sobre la platina. Al cabo de unas cuantas horas volvió y al observar “su mezcla” en el microscopio quedó perplejo al ver que los pocos bastoncitos colocados se habían convertido en cientos de ellos. Durante semanas repitió incansablemente este experimento hasta obtener cantidades de cultivo puro de aquellos bastoncitos tan inquietantes. Entonces, sólo cuando no le quedaba duda alguna de que había obtenido un cultivo puro libre de cualquier otro microorganismo, volvió a empapar una astilla de madera e inoculó a muchos, a muchísimos ratones.

Al día siguiente sus animales habían muerto y durante la disección de ellos pudo ver que la historia se repetía y en el bazo encontraba los mismos bastoncitos: ¡ lo había demostrado! Esos bastoncitos eran los causales de la enfermedad en los ratones y el ganado. Koch, de este modo había escrito el protocolo para el aislamiento de microorganismos .

Los postulados de Henle-Koch se apoyan en técnicas de diagnóstico directo

De aquel experimento del carbunco tomó fuerza la idea de establecer pautas para definir la causalidad u origen infeccioso de una enfermedad. Es entonces que todavía hoy, los postulados clásicos de causalidad en las enfermedades infecciosas son aquellos que fueron postulados por Jakob Henle en 1840 y por su estudiante Robert Koch en 1884 y 1890 (postulados de Henle-Koch).

Estos son los criterios básicos de causalidad y se sustentan en el más simple de los conceptos que es la recuperación del agente infeccioso de un espécimen clínico del paciente enfermo, su reproducción en un medio adecuado y la recuperación del agente; situación que señala al microorganismo como el origen de la enfermedad. Es así que el aislamiento del agente de modo simultáneo con la enfermedad, asocia el microorganismo al cuadro clínico del paciente. Estos postulados se sustentan en las técnicas de diagnóstico directo y se formulan en cuatro apartados que son :

1. La asociación regular entre la presencia del agente infeccioso y la enfermedad.

2. El aislamiento y obtención del agente en un cultivo puro.
3. La reproducción de la enfermedad en un huésped sano susceptible, a través de la inoculación del cultivo puro.
4. El aislamiento del mismo agente en la enfermedad reproducida.

Estos criterios de causalidad han sido de utilidad para probar la asociación entre etiología viral y enfermedad para algunos agentes virales, como por ejemplo el virus del sarampión. La infección por el virus sarampión cumple estos postulados pues se manifiesta invariablemente en enfermedad, el virus replica con facilidad y en altos títulos “in vitro” en cultivos celulares y la enfermedad es fácilmente reproducible a través de la inoculación del material de cultivo en un huésped susceptible. Sin embargo, el aislamiento y la identificación de un virus en particular a partir de un individuo enfermo, no siempre tiene significado en sí mismo, ya que la infección subclínica con un virus no relacionado a la enfermedad en cuestión es posible. Por lo tanto, en el intento de interpretar el significado de un aislamiento viral es importante tener en cuenta el material del cual se aisló el virus y la clínica del paciente. Por ejemplo, el aislamiento del virus rubéola a partir de cualquier tejido de un niño infectado congénitamente es significativo; al igual que la identificación del virus de la parotiditis en el líquido cefalorraquídeo de un paciente con meningitis. La replicación de estos virus en estos sitios se relaciona siempre con el proceso mórbido subyacente. Por el contrario, la recuperación de virus polio de materia fecal de un paciente con clínica no compatible con poliomielitis no es significativo, ya que este virus está asociado a infecciones subclínicas o el individuo puede haber recibido la vacuna Sabin.

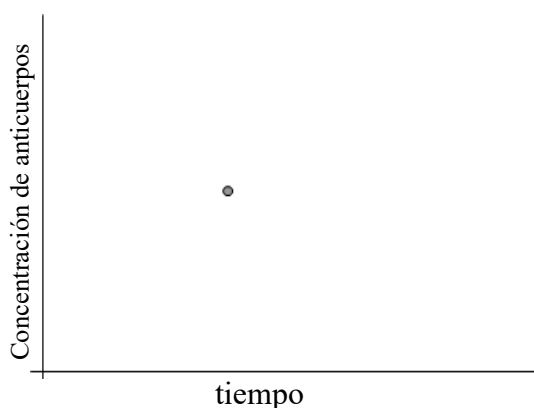
Los postulados serológicos de causalidad se sustentan en la detección de anticuerpos

La infección por muchos agentes virales puede no cumplir con uno o varios de los postulados de causalidad enunciados por Henle-Koch. Un ejemplo es la relación entre el virus de Epstein-Barr y la mononucleosis infecciosa, cuando no se conocían las células susceptibles para el aislamiento viral ni animal de laboratorio para reproducir la enfermedad. Por esto se hizo necesario recurrir a otros criterios y

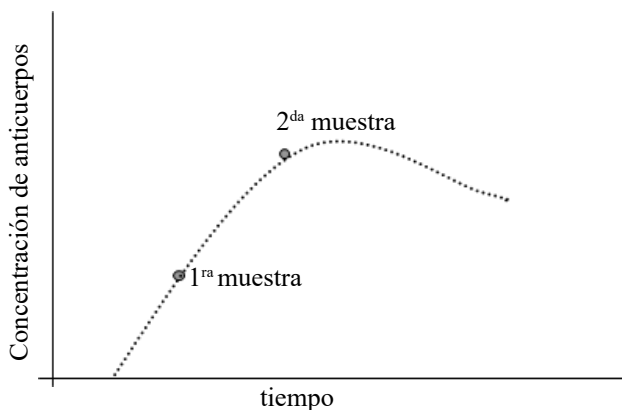
herramientas diagnósticas para probar la asociación etiológica entre agente infeccioso y enfermedad. En este sentido el único elemento que los clínicos podían detectar era la presencia de anticuerpos específicos en los enfermos. Así, la prueba de causalidad fue establecida con investigaciones serológicas prospectivas utilizando métodos indirectos de diagnóstico que satisficieron ciertos criterios inmunológicos. Estos criterios inmunológicos se basan en la respuesta inmune específica inducida en el huésped como consecuencia de la presencia de antígenos extraños (agente infeccioso) y en la aparición secuencial de diferentes clases de anticuerpos. Los postulados serológicos de causalidad se enuncian en las siguientes premisas:

1. Los anticuerpos específicos están ausentes antes de la infección.
2. Los anticuerpos específicos aparecen con la infección. La aparición de anticuerpos en un huésped previamente seronegativo es la más clara demostración de una infección reciente.
3. La presencia transitoria de anticuerpos específicos de tipo IgM señalan una infección reciente.
4. El aumento significativo en el título de anticuerpos específicos de tipo IgG en una segunda muestra respecto a los valores obtenidos en la primera es criterio de infección reciente. El aumento para ser considerado significativo debe ser al menos cuatro veces el valor de la primera muestra.

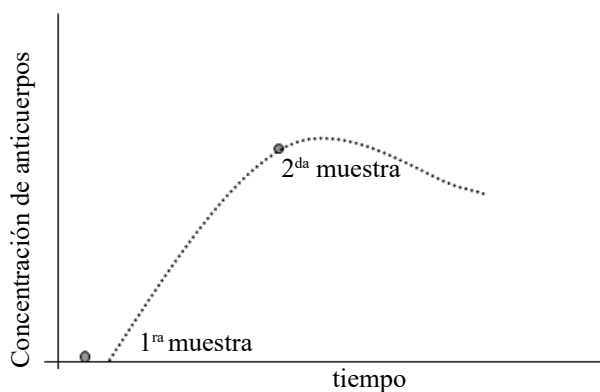
Estas premisas son las que se utilizan para resolver en el laboratorio la mayoría de las situaciones diagnósticas, es decir se intenta asociar el movimiento de anticuerpos a la presencia de una enfermedad. De este modo la presencia de anticuerpos específicos tipo IgG en una única muestra de suero no necesariamente aclara si la infección es reciente o de vieja data. Esto se debe a que la respuesta inmune en el huésped persiste luego de muchos años de contacto con el agente y en muchos casos durante toda la vida del huésped. De modo tal que la sola detección de anticuerpos específicos tipo IgG no alcanza para asociar el resultado de laboratorio a la clínica de la enfermedad. El gráfico de la detección de anticuerpos en una única muestra de suero es un diagrama con un punto que sólo nos indica la presencia de anticuerpos en una determinada concentración en la fecha que fue obtenida la muestra.



Para asociar la presencia de anticuerpos tipo IgG con una enfermedad específica es necesario poner en evidencia el movimiento de estos anticuerpos, es decir observar la tendencia del valor obtenido en un período de tiempo. Esto requiere obtener una segunda muestra de suero un tiempo después de la primera. Si es una primoinfección, en esta segunda muestra cabría esperar un aumento significativo en el título de anticuerpos IgG, obteniendo un valor al menos cuatro veces mayor al primero.



O bien la aparición de anticuerpos específicos en un individuo previamente seronegativo.

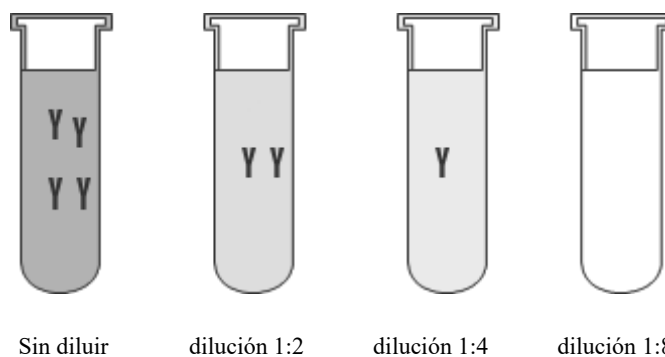


En ambas situaciones este movimiento de anticuerpos se denomina conversión serológica y es un criterio que señala una infección reciente. Esta situación además asocia el resultado del laboratorio a la clínica del enfermo.

Pero ¿es factible cuantificar los anticuerpos? y si es posible, ¿cómo hacerlo? Es posible conocer la cantidad o concentración de anticuerpos presentes en la muestra. Para esto, se diluye la muestra de suero en una solución tamponada y se ensayan diferentes diluciones (suero diluido 1:2; 1:4; 1:8; 1:16; etc.). El título o concentración de anticuerpos en ese suero será la mayor dilución que aún contenga anticuerpos.

Como ejemplo, el laboratorio solicita la detección de anticuerpos para virus de la hepatitis A

Para este diagnóstico se obtiene sangre del paciente, se deja la reposar a 37° durante 1 hora, y luego que ha coagulado, se centrifuga. De la fase superior se extrae el suero, y a partir de éste se realizan diluciones factor dos utilizando una solución salina tamponada.



Cada una de las diluciones se ensaya por alguna técnica serológica, por ejemplo enzoinmunoensayo (ELISA), obteniéndose resultados positivos en el suero sin diluir, 1:2 y 1:4.

Informe de resultados : Se detectaron anticuerpos específicos contra Hepatitis A en título 1:4

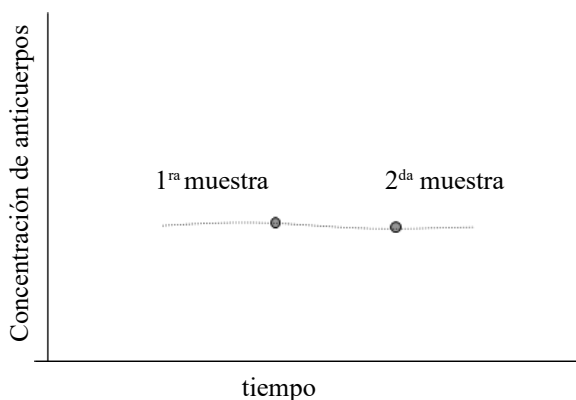
De este modo, si en una primera muestra de suero obtenida durante la fase aguda de la enfermedad se obtiene un título de anticuerpos IgG 1:4 y en la segunda muestra obtenida durante la fase convaleciente un título de 1:32 la interpretación es una conversión serológica, lo que es un criterio de infección reciente.

En cambio, si se obtiene en la segunda muestra una concentración de anticuerpos igual o que varía en

Capítulo 7

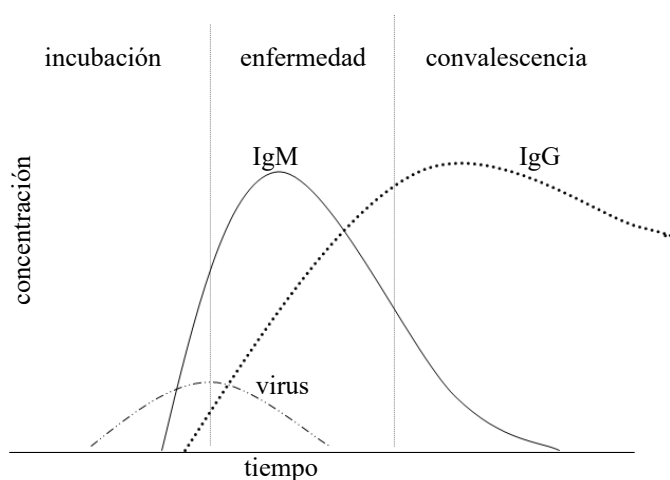
El laboratorio, un espacio para...

sólo un título respecto a la primera muestra se interpreta como anticuerpos que corresponden a una infección pasada.



Otra manera de llegar al diagnóstico serológico de una infección reciente es a través de la detección de anticuerpos específicos de la clase IgM. Los anticuerpos de tipo IgM pueden ser puestos en evidencia sólo durante un período limitado de tiempo que comprende desde la aparición de signos y síntomas de una enfermedad en particular hasta pasados los 30 a 40 días del inicio de los mismos.

Es entonces que los postulados serológicos de causalidad relacionan el movimiento de anticuerpos de tipo IgG e IgM con los diferentes períodos de la enfermedad y estos mismos criterios son de utilidad para relacionar los resultados del laboratorio con la clínica del enfermo. Los postulados serológicos se dibujan en las siguientes curvas.



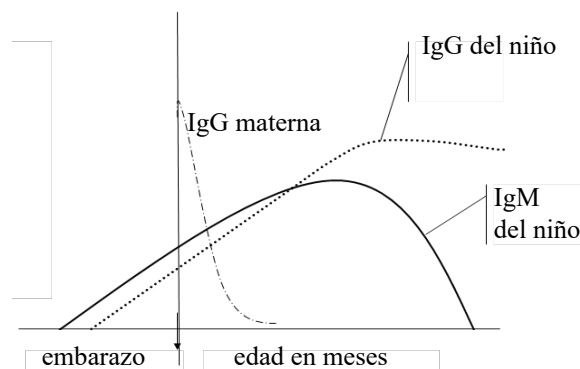
Otra aplicación de la serología es el estudio del estado inmune de un individuo. Es decir determinar si posee anticuerpos específicos contra un virus. La presencia de anticuerpos específicos caracteriza al

individuo inmune, su ausencia define al individuo susceptible. Para este objetivo se buscan anticuerpos de tipo IgG en una única muestra de suero.

Para el estudio de la causalidad en las infecciones congénitas, los postulados serológicos contemplan la dinámica particular de las inmunoglobulinas en el recién nacido

La barrera placentaria permite que la IgG de la madre llegue al recién nacido, confiriéndole una inmunidad de corta duración que se denomina inmunidad pasiva. A medida que transcurre el tiempo y como consecuencia de la degradación de las inmunoglobulinas recibidas, el niño va "perdiendo" anticuerpos, por lo que entre los 6 y 8 meses posteriores a su nacimiento ese niño es seronegativo. Esta situación cambia si el niño se ha infectado en el útero y ha generando sus propios anticuerpos; entonces al nacer tendrá la suma de los anticuerpos transferidos por la madre más los que él mismo sintetizó. Esto hace que al transcurrir el tiempo pierda aquellos adquiridos pasivamente y persistan los generados por inmunidad activa. Por lo tanto, la presencia de anticuerpos IgG en el suero del bebé durante un tiempo mayor a los 6-8 meses es un indicador de una infección congénita.

Por otra parte, los anticuerpos de tipo IgM no atraviesan placenta, de manera tal que la sola presencia de IgM en la sangre del cordón umbilical o suero corresponde a una síntesis activa de anticuerpos específicos ocurrida en el feto y es otro indicador de infección congénita. Los postulados serológicos de causalidad en las infecciones congénitas se esquematizan en la siguiente figura.



Los postulados de causalidad en las infecciones persistentes incluyen estudios serológicos y detección directa del virus

Los criterios serológicos descriptos no ofrecen las

herramientas necesarias para establecer la causalidad en las infecciones persistentes. La situación se complica porque se trata en general de infecciones que el huésped no logra resolver y la patología se desarrolla años posteriores a la primo-infección, como por ejemplo los virus de la familia herpes (virus herpes 8 y su posible asociación etiológica con el sarcoma de Kaposi), virus papiloma humano (asociación etiológica con cáncer anogenital), virus de la leucemia a células T (HTLV-I/II) y su asociación con el desarrollo de leucemia a células T del adulto, entre otros. En estas situaciones, los criterios para establecer causalidad son mucho más complejos e incluyen:

1. Estudios prospectivos poblacionales, investigando evidencias de persistencia viral, títulos altos de anticuerpos específicos y/o alteraciones en la respuesta inmune como un posible indicador de malignidad o enfermedad crónica y finalmente la aparición de la enfermedad .
2. La demostración del virus o del genoma en tejidos afectados pero no en normales.
3. La reproducción de la lesión en sistemas “in vivo” y/o “in vitro”.
4. La caracterización de otros factores que intervienen en el desarrollo de la enfermedad

Es necesario tener en cuenta que en la etiología de las enfermedades producidas por infecciones persistentes intervienen otras causas, por lo que el agente infeccioso a menudo es considerado como necesario pero no suficiente. Lo expresado, responde al concepto de multicausalidad, en el que además del agente infeccioso intervienen factores del huésped y del medio, que condicionan el curso de la infección y el desarrollo de la enfermedad.

Los postulados de causalidad se han adaptado a los nuevos conocimientos de la historia natural de la enfermedad infecciosa

En la actualidad los nuevos conocimientos de la historia natural de la enfermedad permiten construir un marco conceptual más amplio en el cual también tienen espacio los postulados de causalidad expresados anteriormente. El avance de la biología molecular y de toda la virología en general, llevó al conocimiento de la historia natural de la enfermedad infecciosa y a la mejor comprensión del papel que

juega el agente en la etiología de la enfermedad. Es así que hoy se conocen situaciones en las que los postulados antes mencionados no pueden por sí solos lograr la asociación clínico-etiológica, como por ejemplo los casos en que un mismo agente puede producir diferentes enfermedades, como en el caso del virus de Epstein-Barr asociado a la mononucleosis infecciosa, al carcinoma nasofaríngeo y al linfoma de Burkitt. En otras situaciones por ejemplo, la prevalencia de anticuerpos en población general para determinados agentes virales es muy elevada, lo que dificulta asociar el movimiento de anticuerpos a un proceso mórbido en particular. Tal es el caso del virus herpes 6 humano, cuya prevalencia de anticuerpos en la población es del 70% por lo que es difícil su asociación con enfermedades linfoproliferativas. Es entonces necesario construir un marco de criterios donde además de los postulados ya mencionados se contemplen otros elementos estrechamente ligados a la historia natural del agente en cuestión. Es entonces que los postulados tradicionales pueden ser expresados en un marco más amplio en las siguientes premisas:

1. Fortaleza de la asociación: El agente o su respuesta inmune debe detectarse en la mayoría de los casos de enfermedad. Por ejemplo: el virus de la inmunodeficiencia humana se detecta en todos los casos del síndrome de inmunodeficiencia humana, la respuesta de anticuerpos para el virus Epstein-Barr se detecta en todos los casos de mononucleosis infecciosa.
2. Especificidad de la asociación: El agente tiene que localizarse en los tejidos y órganos enfermos y no en los sanos, por ejemplo: el virus de la inmunodeficiencia humana se localiza en especial en el tejido linfóide.
3. Temporalidad: La infección viral debe preceder y predecir el comienzo de la enfermedad. Por ejemplo la infección por el virus de la inmunodeficiencia humana precede el desarrollo del síndrome de inmunodeficiencia adquirida.
4. Plausibilidad: Las propiedades biológicas del virus, a menudo demostradas in vitro, deben corresponder a las características de la enfermedad. Por ejemplo: el virus de la inmunodeficiencia humana infecta células del tejido linfóide. Las propiedades oncogénicas de ciertos integrantes de la familia Herpesviridae (Epstein-Barr, herpes 6 humano, herpes 8 humano) se han demostrado “in vitro” transfor-

mando células normales.

5. Gradiente biológico: La carga viral o el título de anticuerpos es mayor en los individuos enfermos que en los sanos. El título de virus alcanza su máxima concentración en los tejidos enfermos.

6. Consistencia: los hallazgos deben ser reproducibles en múltiples laboratorios.

Cualquiera sean los criterios de causalidad a los que se pueda apelar para establecer la asociación etiológica entre un determinado agente infeccioso y una enfermedad, el laboratorio de diagnóstico virológico tiene un papel fundamental y definitivo. Esto es, a través del procesamiento de materiales obtenidos de individuos infectados, el laboratorio brinda la información certera si está o estuvo presente un determinado agente infeccioso. Para esto el laboratorio utiliza diferentes técnicas: los métodos directos permiten el aislamiento o detección de las subunidades estructurales de agentes infecciosos y los métodos indirectos ponen en evidencia las huellas (anticuerpos) que dejó el paso de un determinado agente.

Más allá de probar la causalidad, el laboratorio permite establecer el pronóstico, evolución y tratamiento de la infección en el individuo, así como implementar las medidas de vigilancia epidemiológicas en la comunidad a los fines de limitar o evitar la circulación del agente infeccioso.

El laboratorio en movimiento es el espacio en donde se prueba la etiología de una enfermedad

Para demostrar la causalidad de una enfermedad se utiliza el laboratorio, que con diferentes metodologías intenta alcanzar los postulados de causalidad. Para que un resultado de laboratorio sea confiable y certero debe cumplir una serie de requisitos que en su conjunto conforman la garantía de calidad del diagnóstico de laboratorio. El proceso de diagnóstico comienza con la decisión de solicitar un estudio y finaliza con la interpretación de los resultados, originando una cadena de eventos donde la garantía de las buenas prácticas de cada uno de los momentos es necesaria para el inicio de la siguiente instancia. Estos momentos son los siguientes:

Decisión del estudio

Obtención de la muestra

Envío de la muestra

Metodología de laboratorio

Interpretación de los resultados

1. Decisión del estudio:

La decisión de efectuar el estudio se refiere a considerar las ventajas o no de realizar un diagnóstico virológico teniendo en cuenta la utilidad que tal estudio le presta tanto al individuo como a la comunidad. En caso de decidir realizar el estudio los datos clínicos/epidemiológicos y el conocimiento de la historia natural de la infección orientan hacia el agente y la metodología que se investigarán en el laboratorio.

2. Obtención de la muestra:

La chance de aislar o identificar un agente infeccioso viral depende de que la muestra sea obtenida del lugar adecuado en el tiempo adecuado. La muestra clínica se refiere como la mínima porción de material biológico obtenido del paciente en la que se presume encontrar el agente infeccioso o la respuesta inmune inducida en el huésped.

Para lograr un diagnóstico oportuno y certero es necesario responder a las preguntas de ¿cuándo obtener la muestra, qué muestra obtener y cómo hacerlo? Respecto a la pregunta ¿cuándo obtener la muestra?; la toma de muestra debe realizarse en el momento oportuno, para lo cual es necesario conocer el comportamiento del presunto proceso infeccioso, así como identificar el momento en el cual se encuentra el individuo: periodo de incubación, periodo de enfermedad, periodo de convalecencia. Es importante tener en cuenta para los métodos directos que en un proceso infeccioso agudo la presencia de virus en el sujeto infectado es en general de corta duración, por lo tanto para lograr con éxito la detección del agente, la muestra debe obtenerse durante el periodo de signos y síntomas de la enfermedad. Respecto a los métodos indirectos es necesario tener en cuenta si la muestra es obtenida en el periodo agudo o convalescente de la infección y el tipo de anticuerpos (IgG o IgM) solicitados.

Para responder a la pregunta ¿qué muestra obtener?, la recolección de una muestra biológica para su estudio virológico debe obedecer a los probables agentes etiológicos del diagnóstico clínico presuntivo. Es indispensable entonces conocer la patogénesis de la infección viral sospechada con el objeto

Capítulo 7

El laboratorio, un espacio para...

de realizar la selección de una muestra adecuada y la recolección de un ejemplar representativo para el examen.

A continuación se detallan las entidades clínicas, los virus que más frecuentemente las producen y los materiales clínicos más apropiados para realizar el diagnóstico virológico por métodos directos de laboratorio (aislamiento del agente o detección de componentes estructurales del mismo).

En todos los casos citados el suero del paciente es la muestra de elección para la detección de anticuerpos específicos.

Entidad Clínica	Etiología mas frecuente	Espécimen Clínico
Meningitis	Virus de la parotiditis Echovirus Coxsackie A y B	Líquido cefalorraquídeo Hisopado faríngeo
Encefalitis	Virus de la parotiditis Echovirus Coxsackie A y B Virus herpes simplex Virus del Sarampión	Líquido cefalorraquídeo Hisopado faríngeo
Exantemas	Virus rubeola Virus del sarampión Enterovirus Parvovirus B 19 Virus herpes 6 Dengue Virus de la Varicella-zoster Herpes simplex	Hisopado faríngeo Materia fecal Material de las vesículas Orina Sangre
Hepatitis	Virus de la hepatitis A Virus de la hepatitis B Virus de la hepatitis C Virus Epstein-Barr Citomegalovirus	Suero Hisopado faríngeo Orina

Infección del tracto respiratorio superior	Rinovirus Virus respiratorio sincicial Virus influenza Adenovirus Parinfluenza Virus Epstein - Barr	Aspirado nasofaríngeo Hisopado faríngeo
Infección del tracto respiratorio inferior	Virus respiratorio sincicial Parainfluenza Virus influenza Adenovirus	Aspirado nasofaríngeo Hisopado faríngeo
Diarreas	Rotavirus Adenovirus Calicivirus	Materia fecal
Fiebre hemorrágica Argentina	Fiebre hemorrágica Argentina Hantavirus(fiebre hemorrágica síndrome viral)	
Fiebres hemorrágicas	Ebola Virus de la fiebre amarilla Virus dengue en su forma hemorrágica	Sangre

3. ¿Cómo obtener la muestra?

Las muestras deben ser obtenidas con materiales estériles según las normas de bioseguridad. Deben ser colocadas en recipientes estériles y herméticos (tapón de goma) sin conservantes o con una solución tamponada estéril con antibióticos y antimicóticos (especialmente en los escobillados faríngeos, punciones vesiculares y aspirados nasofaríngeos). Los materiales así obtenidos deben ser colocados a 4° C (frío de heladera) en un recipiente de telgopor con un sobre de agua congelada. Se recomienda que muestra no sea congelada. Para el transporte de la muestra cada recipiente debe ir perfectamente identificado con el nombre del paciente, número de historia clínica, resumen de historia clínica, nombre del médico que solicita el estudio, procedencia de la muestra, diagnóstico presuntivo, prueba de laboratorio requerida, día y hora de la toma de la muestra. Son criterios para el rechazo de solicitudes de pruebas microbiológicas las muestras no identificadas, el envío de la muestra en recipientes no herméticos.

cos, muestras enviadas con un fijador (ej.: formol), muestras enviadas en hisopos secos, entre otros.

4. Envío de la muestra:

La muestra debe enviarse lo antes posible al laboratorio. En ciertas ocasiones es necesario el envío del material por correo a un laboratorio de referencia. Según las normas internacionales, un organismo viable o una muestra para diagnóstico con un volumen menor de 50 ml debe envasarse en un recipiente hermético, bien tapado, que se coloca dentro de un segundo recipiente hermético irrompible. El espacio entre ambos debe contener suficiente material absorbente como para retener el contenido total en caso de roturas o pérdidas. Estos, a su vez, son colocados dentro de un tercer envase (envase externo para envío) de fibra prensada, cartón, madera u otros materiales. Este envase externo que contiene los datos del remitente y del destinatario debe ser identificado con el rótulo rojo y blanco con la frase “peligro biológico”. Cuando se considera que la muestra es peligrosa para los que manipulan el envase, deben usarse envases externos dobles para su envío.

En el caso de material peligroso debe llevar un rótulo con la indicación “riesgo biológico”.

Una vez en el laboratorio las muestras pueden ser procesadas para la detección del agente o la respuesta inmune:

Los métodos de diagnóstico virológico directos detectan al agente infeccioso completo o una parte del mismo

Los métodos directos se refieren a técnicas que permiten la detección del agente infeccioso completo o una parte o partes del mismo, es decir se pone en evidencia el virus, sus antígenos o ácidos nucleicos en una muestra clínica. En todas estas metodologías directas, es necesario disponer de reactivos “conocidos” y “específicos” dirigidos contra el agente que se busca. Esto es, si se está investigando la presencia de virus respiratorio sincicial en una muestra de hisopado nasofaríngeo es imprescindible disponer de anticuerpos específicos contra virus respiratorio sincicial.

En todas estas metodologías lo desconocido es el agente y lo conocido es uno o varios anticuerpos específicos.

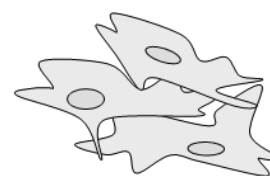
El aislamiento viral es una técnica que se fundamenta en la capacidad infectiva del agente

Aislar significa obtener el microorganismo en forma pura y viable, separado de los otros agentes presentes en la muestra clínica. Para ello se inocula una parte o alícuota del material clínico (sangre, hisopado, materia fecal, etc.) en un sistema susceptible y bajo condiciones selectivas para que solo se multiplique el agente en estudio. Para esto en virología se utilizan sistemas de cultivos “in vitro” e “in vivo”. En teoría al menos, un solo virión viable presente en la muestra puede reproducirse en un sistema apropiado, aumentando el número de viriones en millones de veces para producir suficiente material infeccioso que permita su caracterización. Es decir, esta técnica se basa en la capacidad infectiva del agente presente en una muestra clínica.

Para aislar un virus es necesario inocular el espécimen clínico en cultivos celulares, huevos embrionados o animales de experimentación; y observar luego la aparición de cambios celulares, lesiones en las membranas del huevo o enfermedad/ muerte del animal, respectivamente.



ratones



cultivos celulares



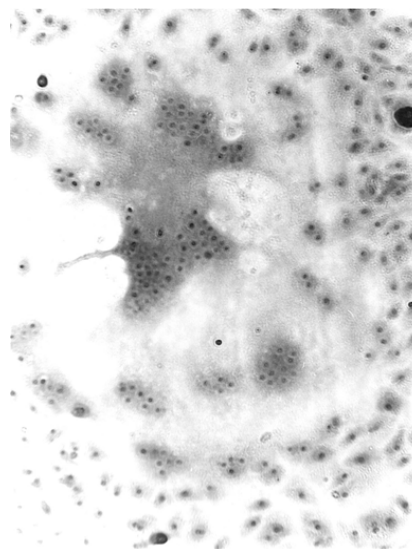
huevos embrionados

La imposibilidad del aislamiento del agente, fue en los comienzos de la virología una barrera para el avance científico. En 1902 Walter Reed describe el agente causal de la fiebre amarilla recurriendo a la utilización de voluntarios humanos para cumplir los postulados de Koch: reprodujo la enfermedad en individuos mediante la inyección de un filtrado libre de células provenientes de la sangre de un pacien-

te enfermo. Posteriormente, Enders y sus colegas desarrollaron métodos para el aislamiento de virus en cultivos celulares valiéndose de los antibióticos penicilina y estreptomina, por entonces disponibles, para el control de la contaminación bacteriana. En 1949 demostraron que el virus polio podía cultivarse “in vitro”, en un cultivo primario de células obtenidas de riñón de mono. Un cultivo primario de células se obtiene extrayendo, en este caso, el riñón de un mono, desmenuzando las uniones intercelulares y colocando a las células en un medio de cultivo líquido adecuado. Los cultivos primarios se caracterizan por estar constituidos por células normales que luego de un determinado lapso de tiempo disparan sus mecanismos de muerte celular programada. En 1952 Gay y sus colaboradores establecieron la línea celular continua HeLa derivada de un carcinoma de cuello uterino de la Sra. Henrietta Lachs, línea que aún en la actualidad es muy utilizada. Las líneas continuas se caracterizan por células de origen tumoral o normales inmortalizadas que se reproducen indefinidamente “in vitro”. Al año siguiente Sherer y col. lograron la multiplicación del virus polio en esta línea celular. Fue Youngner en 1954 que publica una técnica para el crecimiento de células adheridas a un soporte (en monocapa), lo que hizo posible el reconocimiento de la infección vírica a partir de la observación del efecto citopático.

El efecto citopático es el cambio celular observable en el microscopio óptico producido en las células infectadas. Si el efecto citopático es lo suficientemente característico, el observador podrá dar un diagnóstico presuntivo del agente que está replicando. Por ejemplo, el observar células gigantes multinucleadas (sincicio) en un cultivo continuo de células de riñón de mono (VERO) inoculadas con un aspirado nasofaríngeo de un niño, posibilitan una buena orientación del agente problema hacia el virus respiratorio sincicial. Sin embargo la mayoría de los virus no producen cambios celulares característicos por lo que es necesario identificar el agente aislado. Situaciones análogas ocurren cuando un material es inoculado en animales de laboratorio o huevos embrionados.

El paso siguiente es la identificación del agente problema aislado. Para esto, dependiendo del sistema virus-huésped amplificador utilizado, se podrá realizar una inmunomicroscopía electrónica, inmunofluorescencia sobre las células infectadas, un enzimoensayo a partir de extractos celulares o



Efecto citopático de virus sarampión, formación de sincicios celulares

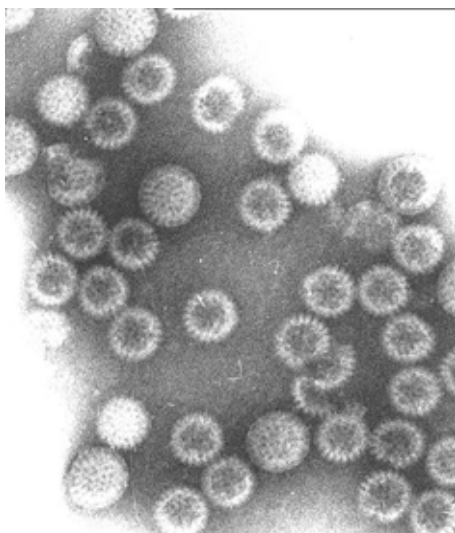
una técnica de detección de ácidos nucleicos.

La visualización de los viriones se realiza por microscopía e inmunomicroscopía electrónicas

La microscopía e inmunomicroscopía electrónicas se basan en la visualización directa de los viriones en las muestras clínicas o en las muestras amplificadas en un sistema “in vivo” o “in vitro”. La morfología y el tamaño se utilizan como guía para llegar a un diagnóstico presuntivo. Durante la década de los años 70 la microscopía electrónica fue la herramienta que permitió descubrir en materia fecal nuevos virus. Es así que los rotavirus, astrovirus, hepatitis A y coronavirus entre otros, fueron descubiertos por esta técnica. La mayor limitación de este método es su baja sensibilidad, ya que son necesarias al menos 107 viriones por ml para obtener resultados satisfactorios. La identificación de los viriones visualizados se logra incubando el material en estudio con anticuerpos específicos (inmunomicroscopía electrónica). El complejo virus-anticuerpo formado, agrupa y decora los viriones permitiendo su identificación.

La detección de antígenos virales se realiza con anticuerpos específicos conocidos:

Los antígenos virales pueden detectarse a través de la formación de un complejo inmune con su anticuerpo específico. Las técnicas de inmunomarcación son aquellas en donde el complejo antígeno anticuerpo se revela a través de un segundo anticuerpo



Microfotografía electrónica de rotavirus con su morfología típica de rueda. Materia fecal incubada con anticuerpos específicos antirotavirus, que ha agrupado las partículas virales. Tinción negativa 100.000X

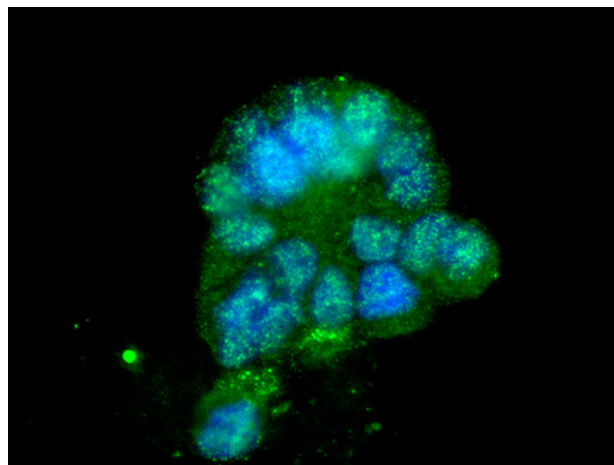
marcado con una enzima (enzimoinmunoensayo), con fluorescencia (inmunofluorescencia), o con isótopos radioactivos (radioinmunoensayo). En estos sistemas lo desconocido es el virus y lo conocido es el anticuerpo utilizado.

La inmunofluorescencia permite la detección de antígenos en células infectadas

Esta técnica fue descrita y utilizada por primera vez por C.Liu en la década del 50 para identificar el virus influenza en infecciones del tracto respiratorio superior.

La inmunofluorescencia permite detectar la presencia de antígenos virales en células infectadas, con el agregado de anticuerpos específicos marcados con sustancias fluorescentes. Los fluorocromos más utilizados son: isotiocianato de fluoresceína y el tetracil rodamin isotiocianato. Estos fluorescentes tienen la capacidad de absorber la energía lumínica de una longitud de onda no visible (luz excitadora) y luego emitir una luz de una longitud de onda mayor (menor energía) en el espectro de luz ultravioleta. La inmunofluorescencia, aunque requiere un microscopio de fluorescencia y un operador entrenado en la observación, es uno de los métodos más utilizados en la identificación de antígenos. La eficiencia de este método recae en la calidad de la muestra obtenida y la especificidad del anticuerpo utilizado. La técnica de inmunofluorescencia es muy utilizada

para la identificación de virus respiratorios, para diferenciar los antígenos de virus herpes, detectar antígenos de citomegalovirus en leucocitos circulantes y para el diagnóstico de encefalitis por virus herpes o rábica en biopsias de cerebro.



Detección de enterovirus infectivo

El enzimoinmunoensayo es una técnica de inmunomarcación que se revela con una enzima y un sustrato orgánico

El desarrollo de los enzimoinmunoensayos para el diagnóstico de las infecciones virales permitió realizar estudios seroepidemiológicos muy importantes de antígenos virales en el suero de pacientes infectados. El desarrollo de esta metodología fue esencial por ejemplo para implementar el programa de control del virus de la hepatitis B en bancos de sangre y para los estudios de virus como agentes etiológicos de diarreas (rotavirus, astrovirus y adenovirus). En estas técnicas de inmunomarcación se utilizan anticuerpos específicos conocidos contra el o los antígenos en estudio; estos anticuerpos están marcados con una enzima (fosfatasa alcalina, peroxidasa, beta galactosidasa, etc.) de modo tal que al reaccionar se forma un complejo antígeno anticuerpo marcado. Para cada una de estas enzimas existe un sustrato orgánico apropiado que luego de su degradación enzimática, cambia de color. La intensidad del color del producto obtenido refleja la concentración relativa de los antígenos estudiados.

La detección de ácidos nucleicos virales se realiza por técnicas de electroforesis, hibridación o amplificación de genomas virales

La detección de ácidos nucleicos por electroforesis es posible en ciertas familias virales, debido a las características particulares de sus ácidos nucleicos.

Existen ciertos agentes virales, como por ejemplo rotavirus, que tienen su ácido nucleico segmentado. Estos segmentos al ser separados en geles de poliacrilamida o agarosa muestran un patrón característico de migración electroforética. El patrón de migración es puesto en evidencia por algún método de tinción de ácidos nucleicos (sales de plata, bromuro de etidio).

Construyendo una electroforesis en geles de poliacrilamida para la detección de rotavirus

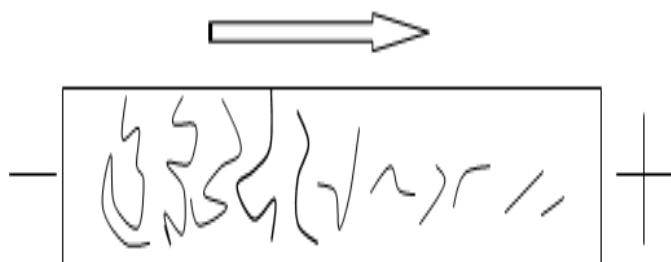
Por una técnica de precipitación alcohólica se extraen los ácidos nucleicos de la materia fecal del paciente.



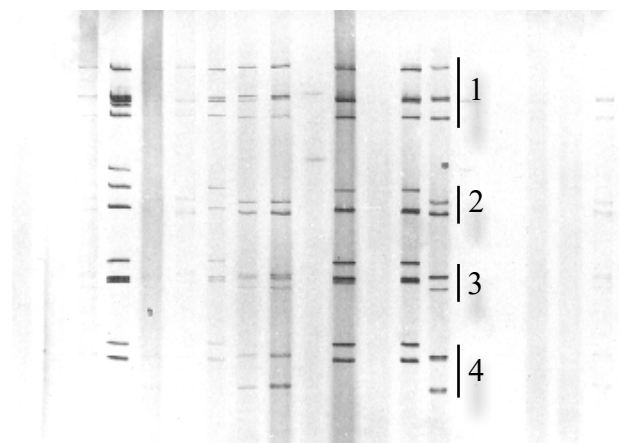
Estos ácidos nucleicos se siembran en una matriz de poliacrilamida y el sistema se conecta a la corriente eléctrica.



La migración de los ácidos nucleicos se realiza hacia el polo positivo y la velocidad de migración es inversamente proporcional al tamaño de cada segmento, es decir, los segmentos genómicos más pequeños son los que migran más rápido.



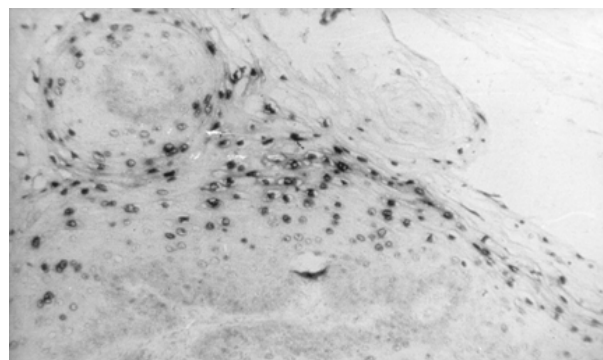
Una vez termina la corrida electroforética la reacción se revela con una tinción con sales de plata:



Electroforesis en geles de poliacrilamida, revelado con tinción argéntica, de materias fecales con rotavirus. El patrón electroforético característico son once bandas de ARN viral, distribuidos en cuatro grupos, conteniendo cada uno de estos grupos: el primero (1), cuatro segmentos; el segundo(2), dos; el tercero (3), tres y el cuarto (4), dos. Cada calle corresponde a la siembra de un espécimen.

Las técnicas de hibridación utilizan un ácido nucleico conocido y marcado que es complementario a la secuencia del ácido nucleico problema

Las reacciones de hibridación se basan en la propiedad de los ácidos nucleicos, de desnaturalizarse y renaturalizarse merced a cambios de temperatura. Utilizando esta propiedad y un ácido nucleico conocido y marcado (con enzimas o radioisótopos), se desnaturaliza el material problema (ADN o ARN viral). Este ácido nucleico al renaturalizarse atraparé las secuencias complementarias del ácido nucleico marcado y se revelarán después a través de una reacción enzimática o exponiendo el material radioactivo a una placa fotográfica.



En es la fotografía de una hibridación in situ realizada con el ADN de virus papiloma humano marcado con biotina. Las células reactivas muestran un color oscuro en el núcleo. En las células reactivas además puede observarse el efecto citopático del virus denominado coilocitosis.

Capítulo 7

El laboratorio, un espacio para...

En la reacción de la polimerasa en cadena se amplifica un fragmento de genoma viral

La reacción de la polimerasa en cadena (PCR) se utiliza para amplificar secuencias de ADN viral presente en la muestra problema. Es necesario disponer de un ADN conocido (cebador) cuya secuencia es complementaria al ADN que se quiere amplificar, de nucleótidos y de una enzima polimerasa. La reacción se inicia cuando los cebadores se unen al ADN viral por complementariedad y en presencia de la polimerasa y de nucleótidos libres, se inicia la síntesis de la nueva hebra de ADN viral. Este ciclo de la reacción se repite numerosas veces por lo que se logra sintetizar grandes cantidades de moléculas de ADN. Los segmentos de ADN amplificados se ponen en evidencia en un gel de agarosa. En los virus ARN se realiza primero una reacción mediada por la transcriptasa inversa para obtener a partir del genoma ARN, moléculas de ADN. Luego se realiza la reacción de amplificación.

Construyendo una reacción de polimerasa en cadena

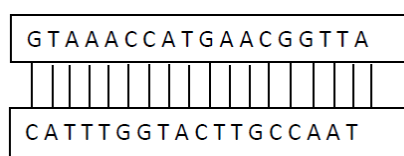
En esta reacción tenemos como reactivos conocidos: los cebadores, nucleótidos y la enzima ADNpolimerasa.

El ADN está formado por una secuencia de nucleótidos. Los nucleótidos son moléculas formadas por tres subunidades: un grupo fosfato, un azúcar de cinco carbonos (desoxiribosa) y una base nitrogenada (Timina, Guanina, Adenina, Citosina).

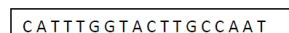
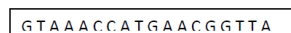
Cebadores: estas son secuencias nucleotídicas conocidas, complementarias a pequeños fragmentos del ácido nucleico que se amplificará, formadas en este caso por cuatro nucleótidos.



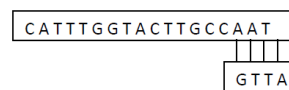
El material problema es el siguiente ácido nucleico:



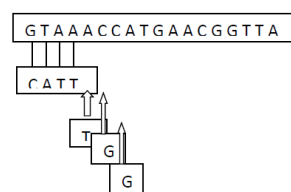
La primera reacción consiste en desnaturalizar el ácido nucleico con calor, separando las dos hebras.



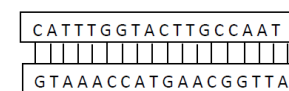
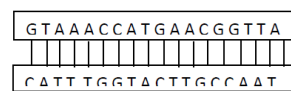
En una segunda etapa los cebadores se unen a las regiones complementarias del ADN:



Con la presencia de los nucleótidos y de la ADN polimerasa se inicia la síntesis de las cadenas complementarias:



Como resultado se obtiene dos cadenas nuevas del segmento amplificado.



Una nueva repetición del ciclo genera cuatro copias más, la reacción prosigue durante 50 a 60 ciclos, obteniéndose finalmente millones de copias del producto amplificado. El producto amplificado tiene un cantidad de bases determinada, en este ejemplo tiene 18 pares de bases. El producto se siembra en un gel de agarosa para una corrida electroforética y se analiza su migración respecto a un control de pares de bases. En nuestro ejemplo si obtuviéramos una señal de migración electroforética a la altura de las 18 pares de bases, podemos interpretar que en el material problema estaba presente el genoma del virus

Los métodos de diagnóstico virológico indirectos detectan la respuesta inmune inducida por el agente en el huésped infectado

Existen diferentes técnicas serológicas que se utilizan para identificar y cuantificar la respuesta inmune humoral inducida por una infección viral. Estas técnicas se adaptan para la detección de anticuerpos

IgM, IgG e IgA, principalmente.

Técnicas serológicas utilizadas en virología

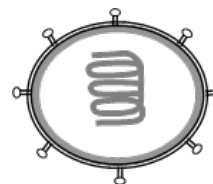
TÉCNICA	PRINCIPIO
Enzimoinmunoensayo (ELISA)	El anticuerpo (suero problema) se une a un antígeno conocido, formando un complejo antígeno-anticuerpo. Este complejo reacciona con un segundo anticuerpo (una antiinmunoglobulina) marcado con enzima. Esta enzima actúa sobre un sustrato incoloro incorporado en la reacción, llevándolo a su forma oxidada lo que es de color .
Radioinmunoensayo (RIA)	El anticuerpo (suero problema) se une a un antígeno conocido, formando un complejo antígeno anticuerpo, este complejo reacciona con un segundo anticuerpo (antiinmunoglobulina) marcada con un radioactivo. La reacción se lee con un contador de centelleo.
Western Blot	Las proteínas virales son separadas en un gel por electroforesis y luego transferidas a una membrana de nitrocelulosa; el anticuerpo (suero problema) se une a las proteínas virales y la reacción se revela con una antiinmunoglobulina marcada con enzimas en presencia de un sustrato o radioactividad.
Aglutinación de partículas de látex	El anticuerpo (suero problema) aglutina partículas de látex cubiertas con antígeno.
Neutralización	El anticuerpo (suero problema) neutraliza la infectividad del virus. La reacción se revela por la inhibición del efecto citopático o la protección de animales de experimentación.
Inhibición de la hemoaglutinación	El anticuerpo (suero problema) inhibe la unión de un antígeno conocido (hemoaglutinina viral) a glóbulos rojos, inhibiendo la hemoaglutinación viral.

Inmunofluorescencia

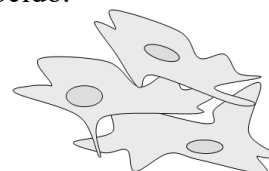
El anticuerpo (suero problema) se une al antígeno intracelular conocido, la reacción se revela con una antiinmunoglobulina marcada con fluoresceína. La reacción se lee en un microscopio con luz ultravioleta

Construyendo una seroneutralización viral

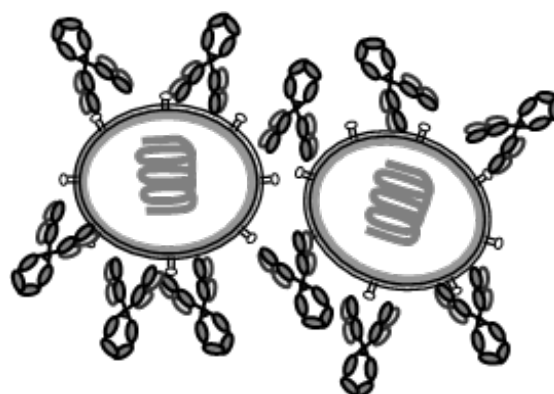
En esta reacción de neutralización tendremos virus conocido.



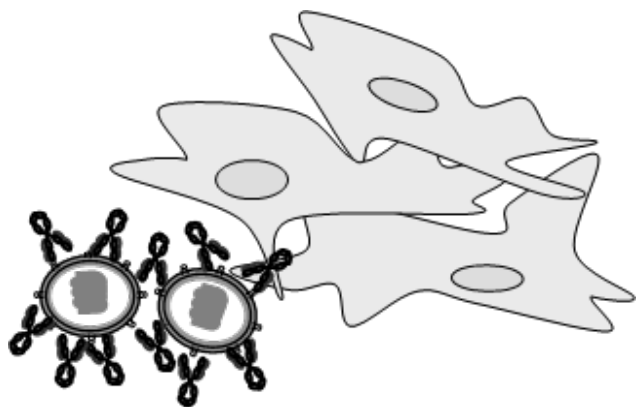
Así como también células sin infectar susceptibles al virus conocido.



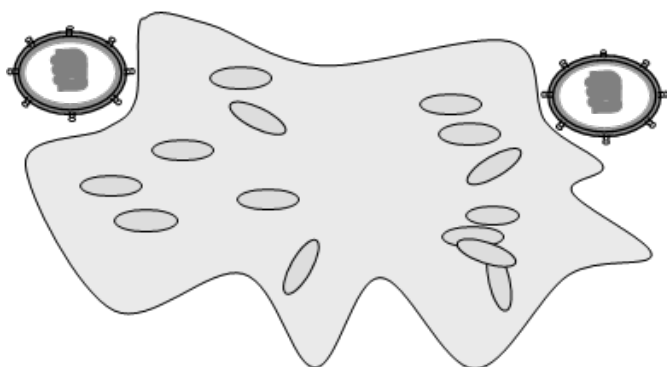
Y también el suero problema que en esta situación tiene anticuerpos específicos:



Durante la reacción de neutralización los anticuerpos neutralizantes presentes en el suero problema neutralizan los antígenos virales conocidos, e impiden la infección de la célula susceptible.



Otra es la situación cuando no existen anticuerpos en el suero problema. En esta situación el virus infecta a las células susceptibles y produce un efecto citopático característico. En este caso el virus problema (virus sarampión) produce una fusión en las células (células Vero) y origina sincicios celulares.

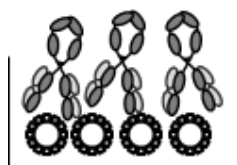


Construyendo un enzimoimmunoensayo

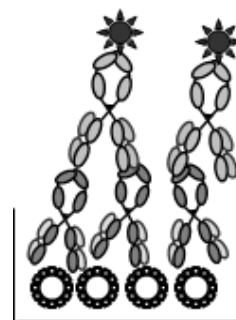
En la construcción de un enzimoimmunoensayo para la detección de anticuerpos, la placa sobre la que se realizará la reacción es sensibilizada con el antígeno conocido.



Luego se procede a la adición del suero problema, que en este caso contiene anticuerpos específicos.



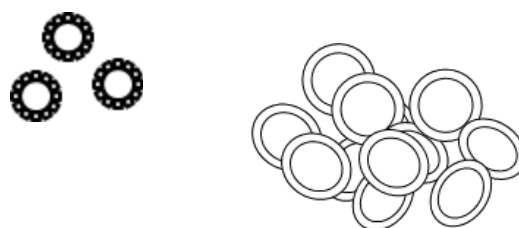
Un lavado permite quitar los anticuerpos que no corresponden al antígeno presentes en el suero problema. Luego se adiciona un segundo anticuerpo anti inmunoglobulina marcado con una enzima.



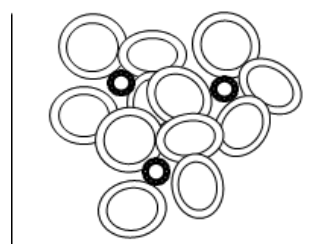
Un lavado retira el anticuerpo marcado que no se ha unido al anticuerpo específico. La reacción se revela colocando el sustrato el que será oxidado por la enzima. La forma oxidada del sustrato es de color. La intensidad de color revelada en la reacción es proporcional a la concentración de anticuerpos presentes en el suero problema.

Construyendo una inhibición de la hemoaglutinación

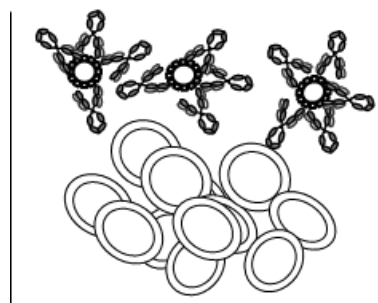
En una inhibición de la hemoaglutinación reaccionan virus conocido y glóbulos rojos



Los virus, a través de una proteína de membrana, se unen a los glóbulos rojos, generando una hemoaglutinación.



En presencia de un suero con anticuerpos específicos, los anticuerpos se unen al virus, inhibiendo la hemoaglutinación.



En algunas situaciones los anticuerpos son indicadores de infección y no de protección

Hay muchas situaciones en que los anticuerpos son indicadores de infección pero no de protección. Esto es en general en las infecciones persistentes en las que alguna parte del agente infeccioso permanece albergado y oculto en células del huésped. Por ejemplo, en la infección por el virus de la inmunodeficiencia humana (infección persistente lenta), la presencia de anticuerpos específicos indica que el individuo se ha infectado, pero estos anticuerpos no resolverán ni limitarán la infección en curso. Otro ejemplo son los virus de la familia Herpesviridae (infección persistente latente); la presencia de anticuerpos indica que el individuo contactó alguna vez con este virus y que si bien durante períodos prolongados de tiempo no presenta signos y síntomas característicos de la infección herpética, la presencia de los anticuerpos detectados no podrán impedir las reactivaciones de este virus.

CAPÍTULO 8

Persistencia viral, limitación de la infección, enfermedad inmune: no “todos los caminos conducen a Roma”



El virus de la coriomeningitis linfocitaria: un modelo patogénico que ayuda a comprender otros sistemas virales

Doherty y Zinkernagel proponen la hipótesis del reconocimiento antigénico a través de una doble señal estudiando el modelo murino de LCMV

De acuerdo al modelo de interacción LCMV/célula, responde el sistema inmune

En la infección citolítica, en un modelo agudo, el sistema inmune despliega un control exitoso de la infección

En la infección no citolítica, en un modelo persistente, el sistema inmune despliega un inadecuado control de la infección

La infección por el LCMV ilustra las posibilidades patogénicas en una interacción entre el sistema inmune y el hospedero

El hospedero y el virus, mimetismo molecular

Los virus pueden alterar la función de diferenciación celular

Virus polio salvaje y virus polio vacunal, iguales receptores pero diferente replicación en tejido nervioso

La finalidad de este capítulo es realizar una integración entre diferentes rutas patogénicas y las posibles respuestas inmunes del hospedero. Para ello se transversalizan por momentos varios modelos virales.

En el próximo capítulo, para finalizar, se retoma una historia novelada de la emergencia de un virus.

El virus de la coriomeningitis linfocitaria: un modelo patogénico que ayuda a comprender otros sistemas virales

El virus de la coriomeningitis linfocitaria (LCMV),

integrante de la Familia Arenaviridae, es un virus zoonótico y endémico que infecta a los ratones domésticos (*Mus musculus*) que actúan como reservorio del agente, éste a través de la aerosolización de la orina y saliva infecta al hombre. En esta familia viral se encuentran el Virus Junín, productor de la Fiebre Hemorrágica Argentina y el virus Lassa, entre otros. Estos virus han coevolucionado con su hospedero.

La infección por LCMV en humanos inmunocompetentes cursa usualmente una enfermedad leve o asintomática, autolimitada, en donde puede produ-

cirse una meningitis aséptica, aún cuando la infección es raramente fatal.

En pacientes inmunocomprometidos, LCMV puede resultar en una grave infección que comprometa su vida. LCMV durante el embarazo puede producir aborto espontáneo o defectos congénitos como hidrocefalia, corioretinitis, cegera o retardo psicomotor.

Si bien LCMV no es un patógeno humano importante, cuando infecta a su hospedero natural, el ratón, es capaz de generar tal cantidad de posibilidades patogénicas que ha sido de gran utilidad en el estudio de esta temática. Estas diferentes posibilidades patogénicas han sido estudiadas también en situaciones experimentales (ver [La infección por el LCMV ilustra las posibilidades patogénicas en una interacción entre el sistema inmune y el hospedero](#)). El LCMV produce usualmente una infección no citopática, la cual es de importancia en la interacción con su hospedero pues le permite infectar de modo persistente con una alta carga viral en numerosos tejidos sin causar la muerte del animal. La liberación del virus no requiere de la lisis celular, éste brota de la membrana plasmática, que le otorga su envoltura. Este concepto nos resulta de utilidad para pensar que una infección productiva viral puede no destruir la célula hospedera.

Numerosos virus envueltos brotan a través del sistema de endomembranas celulares y son liberados por exocitosis, utilizando los caminos para el transporte y secreción de proteínas celulares al espacio intercelular. Es así que la diseminación viral no depende necesariamente de la lisis celular y la célula infectada puede continuar produciendo partículas virales infectivas, a menos que, por supuesto, la respuesta inmune la destruya.

En este análisis también se puede señalar que la maquinaria de síntesis proteica celular que utiliza un virus cuando se está replicando, puede no comprometer más allá del 1% de su capacidad de síntesis proteica, y de este modo es posible pensar la replicación viral como un evento que no destruye la célula hospedera.

El receptor de LCMV, α DG (dextroglicano) es una molécula de superficie versátil, es un puente molecular entre la matriz extracelular y los componentes de transmembrana que interactúan con el citoesqueleto celular. La proteína está expresada en las células adyacentes a la membrana basal en donde cumple un importante papel en el ensamble de esta

estructura. Luego de su encuentro con el receptor celular el virus es endocitado (viropexis) e ingresa como vesículas lisas y es liberado de su envoltura por una fusión de membranas dependiente del pH, que en definitiva, permite la transferencia de la nucleoproteína viral al citoplasma en donde continúa su replicación. El genoma viral consiste en dos cadenas de ARN de diferente longitud. El segmento de ARN corto (3.4 kb) se denomina S ARN (short) y el segmento de ARN largo (7.2 kb), L ARN (large). La lectura de los dos segmentos de ARN se realiza en dos sentidos (ambisense), desde el extremo 5' y también desde el extremo 3'. Es así que el S ARN codifica en su lectura desde el extremo 5' un precursor glicoproteico GP-C, que luego es modificado postransduccionalmente para dar origen a las dos glicoproteínas virales: la GP1 y a la GP2, estas dos proteínas se encuentran asociadas en las proyecciones de la envoltura viral. La GP1 es la proteína viral que actúa como receptora e interviene con la adhesión al receptor celular. El L ARN codifica en su lectura desde el extremo 5' una proteína que actúa como un factor de transcripción, es decir con capacidad de unirse a ácidos nucleicos y modificar su lectura. Desde el extremo 3' codifica para la ARN polimerasa.

Las cepas virales del LCMV tienen tropismos distintos que le permiten alternativas patogénicas. Estas alternativas de tropismos distintos están explicadas a través de afinidades que poseen las distintas cepas virales con un mismo receptor. Estas afinidades están determinadas por una única mutación en el aminoácido 260 de la glicoproteína de adhesión viral. Las cepas virales que poseen una alta afinidad por el receptor producen una infección persistente viral; mientras que las cepas con baja afinidad al receptor son rápidamente eliminadas. De este modo el clon 13 de LCMV, con una alta afinidad por el receptor, replica preferencialmente en tejido linfoide mientras que la cepa salvaje (la cepa aislada en los ratones en su medio), con baja afinidad por el receptor, lo hace con un bajo tropismo en poblaciones linfocitarias y de modo preferencial en tejido nervioso. Este ejemplo ilustra que las diferencias cuantitativas en términos de afinidad modifican la interacción virus receptor celular, y además, pueden explicar diferentes tropismos celulares.

Esto se refleja también en otros sistemas de infección viral. Es así que las diferentes ubicaciones de los receptores específicos para influenza aviario e

influenza humano dan cuenta de una restricción biológica a la replicación de virus aviario en el epitelio respiratorio humano pues los receptores del aviario sólo se encuentran en el tracto respiratorio bajo, y de este modo el virus no puede avanzar en el tracto respiratorio. Con más detalle, probablemente las cepas pandémicas (1918, 1957 y 1968), se originaron en virus influenza aviar, adaptados al humano, por previa coinfección en cerdos o el hurón. Las cepas humanas tienen tropismo con receptores celulares con uniones del ácido siálico α 2,6 con galactosa (aparato respiratorio superior). Los virus aviarios sin embargo se unen a receptores en células ciliadas de bronquiolos y alvéolos que exponen uniones α 2,3 con galactosa. Para que esta interacción entre virus y célula suceda de modo exitoso deben coincidir susceptibilidad y permisividad. Esta coincidencia se denomina tropismo viral. El tropismo es definido como la predilección y multiplicación de un virus en determinadas células y tejidos. El tropismo es el resultado de la sumatoria de dos eventos distintos: la susceptibilidad, caracterizada por la capacidad de adsorción del virus al receptor celular y la permisividad, como la posibilidad de continuar su replicación dentro de la célula.

Esto nos sirve para pensar también el modelo patogénico de virus sarampión, que según sea vacunal o salvaje utiliza con diferente afinidad los receptores celulares. En este sentido el virus sarampión vacunal tiene una alta afinidad por la molécula CD46 y no utilizaría el CD 150, mientras que el virus sarampión salvaje utilizaría preferentemente el CD 150 y con baja afinidad por el CD 46. Este camino de utilizar diferentes afinidades a receptores celulares abre las puertas a distintas posibilidades patogénicas.

En años recientes el CD46 ha sido también demostrado como el receptor de diferentes patógenos (*Neisseria gonorrhoeae* y *N meningitidis*, *Streptococcus pyogenes* grupo A, virus Herpes 6 Humano). Esta molécula pareciera además proveer una unión entre el sistema innato y la respuesta inmune adaptativa, a través de la regulación en la producción de IL12 (interleuquina 12). La IL12 es producida por las células presentadoras de antígenos y las células dendríticas bajo estimulación antigénica; y es un elemento clave en la polarización de la respuesta inmune hacia un patrón de citoquinas T helper 1. Esta respuesta, caracterizada por la síntesis de IL2 e IFN γ juega un papel crítico en la generación

de linfocitos T citotóxicos, los que a su vez, desempeñan un rol importante en la respuesta contra microorganismos intracelulares, en particular virus. El encuentro del virus sarampión con su receptor produce una caída en la producción de IL12. Existiría una evidencia “in vitro” e “in vivo” de una polarización de la respuesta inmune a la infección por virus sarampión hacia el patrón de citoquinas T helper 2, lo que podría explicar, al menos una parte de la inmunosupresión viral. El efecto de sarampión en la síntesis de IL12 in vivo en pacientes infectados, demostraron la supresión de IL12.

Otro concepto clave en la comprensión de la biología de LCMV, es que como otros virus a ARN, el LCMV tiene una alta tasa de frecuencia de mutaciones. La ARN polimerasa¹ produce un error cada 10^3 a 10^5 nucleóticos cuando copia un ARN. Es así que las variantes virales son continuamente generadas a una elevada frecuencia durante una infección. De este modo, el virus existe como una población heterogénea de particulares variantes virales denominadas cuasiespecies (ver <https://www.oie.int/doc/ged/D9287.PDF>). Esta idea proyectada en la biología viral, cambia la noción de “un virus “por aquella de una “población heterogénea viral” concepto más ajustado a las estrategias de replicación. Estas diferentes variantes le pueden conferir ventajas de replicación en ciertos tejidos, tropismos por determinadas células, y en definitiva selección por la presión inmunológica, resultando en un efecto “en cuello de botella”. Es decir, el virus tiene una capacidad para mutar a un nivel suficiente como para permitir que el hospedero ejerza una presión de selección tal, que genere nuevas variantes virales con una capacidad patogénica distinta. Este ejemplo se aplica también a la infección por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) donde las mutaciones están asociadas a la progresión de la enfermedad así como en la infección crónica del virus de la hepatitis C.

¹Las RNA polimerasas probablemente están entre las moléculas que causan mayor morbimortalidad en el hombre, en virtud de su capacidad de generar diversidad antigénica en diferentes microorganismos. Es interesante pensar en las RNA polimerasas como moléculas capaces de generar una importante variabilidad genética en los virus a RNA y en particular también en los retrovirus que circulan dentro de un solo hospedero generando virus que si bien están estrechamente relacionados, son genéticamente distintos. Esta diferencia genética puede ser traducida en proteínas que difieran antigénicamente, con tropismos distintos y mayores posibilidades para

evadir la respuesta inmune. Estas moléculas encargadas de generar una diversidad del agente que sorprende y deja con pocas posibilidades de defensa al hospedero, se encuentran también en otros microorganismos y generan en ellos heterogeneidades antigénicas como las observadas en tuberculosis y malaria.

Doherty y Zinkernagel proponen la hipótesis del reconocimiento antigénico a través de una doble señal estudiando el modelo murino de LCMV

Alguien preguntaría “¿Cuál es el aporte de estudiar el LCMV en ratón y su sistema inmunológico a la medicina humana?”. Bueno aquí la respuesta.

A lo largo de los últimos cien años se aceptaba la idea que tanto las bacterias como los virus podían desencadenar por sí solos el funcionamiento de la red defensiva del hospedero. Sin embargo, las preguntas sobre el modo mediante el cual el sistema inmune distingue las células sanas de las infectadas y a qué obedece la variabilidad de respuesta inmunitaria hacia un mismo antígeno, comenzaron a encontrar explicaciones recién a partir de 1974.

Doherty y Zinkernagel coincidieron por casualidad trabajando en un pequeño laboratorio con el LCMV. Les interesaba averiguar porqué morían los ratones de laboratorio infectados con el LCMV, siendo que el agente no destruye a las células infectadas. Partían de la hipótesis que los linfocitos T que atacaban a las células infectadas, desencadenaban una reacción inflamatoria letal.

Para someter su hipótesis a prueba, estos investigadores aislaron células del líquido cerebroespinal de ratones infectados con el virus y las cultivaron luego con linfocitos T citotóxicos de la misma especie de hospedero infectado. Las células T citotóxicas destruyeron a las células infectadas. Pero, cuando repitieron el experimento utilizando células infectadas correspondientes a ratones de otra especie, las células T citotóxicas no eran capaces de destruir a las células infectadas. ¿Porqué no sucedía nuevamente, que había cambiado?: la especie.

A partir de estos experimentos, Doherty y Zinkernagel propusieron la hipótesis del reconocimiento antigénico a través de una doble señal, esto es que los linfocitos T para desencadenar una respuesta inmune deben “ver” simultáneamente al péptido antigénico y a proteínas del Complejo Mayor de Histocompatibilidad (CMH) propias de la especie. Es decir en el segundo experimento donde las células T citotóxicas y las infectadas no compartían las mo-

léculas de CMH, las células T no eran capaces de destruir a las infectadas. De este modo el sistema inmune será capaz de destruir células infectadas, siempre que vea lo extraño unido a moléculas propias. Este resultado inesperado les valió el Premio Nobel de Medicina en 1996 y cimentó las bases de una explicación pormenorizada de los mecanismos de reconocimiento, activación y regulación del sistema inmune (<https://www.nobelprize.org/prizes/medicine/1996/press-release/>)

De acuerdo al modelo de interacción LCMV/célula, responde el sistema inmune

En la infección citolítica, en un modelo agudo, el sistema inmune despliega un control exitoso de la infección

El estado de protección y resolución de la infección por parte del sistema inmune, sucede cuando los virus citolíticos destruyen a las células infectadas, en un modelo agudo. Esto se caracteriza por un balance entre la diseminación viral, el tipo de células infectadas y la cinética de la respuesta inmune.

En la infección no citolítica, en un modelo persistente, el sistema inmune despliega un inadecuado control de la infección

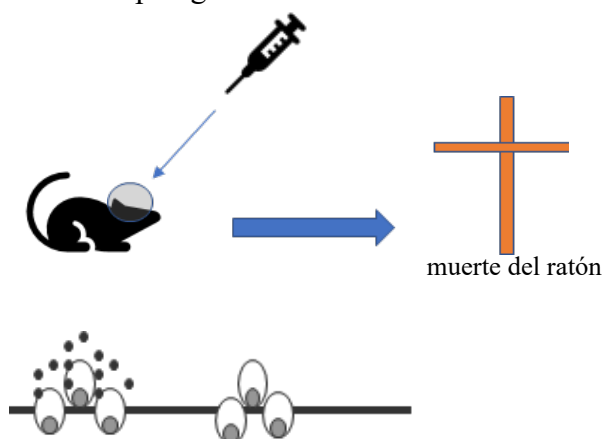
En contrapartida, en la situación de una infección por virus no citopáticos, como refiere Zinkernagel RM, es distinta. Estos virus no causan patología por “si solos” y la sobrevivencia del hospedero no depende ya de un adecuado control inmunológico. La replicación de virus no citopáticos, de poca o nula diseminación sistémica y cuya localización se encuentra además en determinados tejidos, puede dar lugar a una persistencia viral y, potencialmente, a una inmunopatología. Lo referido significa que la respuesta inmune adaptativa y la innata no están distribuidas en forma homogénea para una “limpieza viral” en todos los tejidos. El criterio de inmunoprivilegio, está relacionado con el concepto que el sistema inmune es selectivamente ineficiente para esta “limpieza” en algunos tejidos, aspecto que juega un papel importante en la patogénesis de muchos virus y es el resultado tanto de una estrategia viral (como podría ser la latencia en neuronas en el virus herpes simplex, HSV) así como limitaciones en la eficacia del sistema inmune (como el hecho que las neuro-

nas no expresan moléculas del CMH I o lo en baja proporción). Es así que numerosos virus que no son citopáticos ni poseen una elevada virulencia, mantienen con el hospedero y el agente una relación que se prolonga durante toda la vida.

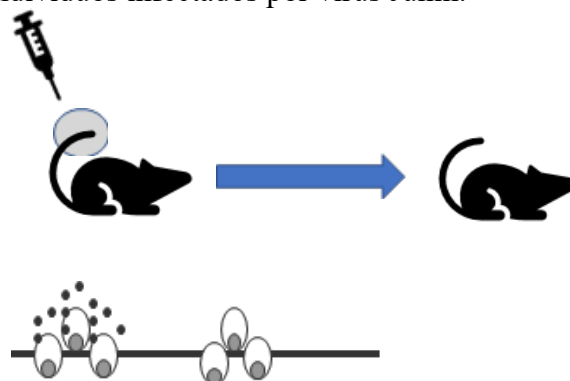
La infección por el LCMV ilustra las posibilidades patogénicas en una interacción entre el sistema inmune y el hospedero

Al retomar el concepto que la infección del ratón por el LCMV es no citopática permite su análisis tanto de los efectos producidos por el virus como también los inducidos por la respuesta inmune del hospedero. Además, la respuesta a la infección por LCMV puede tomar diferentes caminos que permiten analizar la interacción agente y hospedero. Es en este modelo en donde aparecen todo el potencial de la respuesta inmune celular, mediada por linfocitos T CD8, ya sea en el control de la replicación, en la tolerancia del agente y la persistencia viral, o en una respuesta inflamatoria que causa la muerte del hospedero.

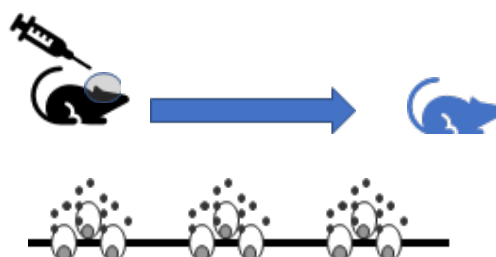
1. En la primera situación, luego de pocos días de la inoculación intracerebral de LCMV en un ratón adulto el virus replica con alto título en el plexo coroideo y en las meninges. La replicación viral se encuentra limitada a las meninges y no invade el parénquima cerebral. Los antígenos virales expresados en las células del epitelio meníngeo en el marco de CMH tipo I son el blanco de una respuesta inmune celular citotóxica, al reconocer los LT CD8 a las células infectadas y producir su lisis. Esto lleva a una respuesta inmunopatológica que altera la permeabilidad de la barrera hematoencefálica. La enfermedad humana por LCMV cuando se localiza en el sistema nervioso central responde a similares mecanismos patogénicos.



2. En la segunda situación, si la inoculación de LCMV es endovenosa y el ratón es adulto, se induce una respuesta inmune protectora celular (inducida por LTCD8) que produce la desaparición del agente en 10 o 14 días. En esta respuesta los anticuerpos tienen un papel poco significativo. Esta situación no es similar a otros arenavirus, en donde la respuesta de anticuerpos es neutralizante al punto de utilizarse el suero de convalecientes como terapéutica en los individuos infectados por virus Junín.



3. En la tercera situación la inoculación intracerebral o IV en un ratón recién nacido lleva a la sobrevivencia del hospedero y a la persistencia viral crónica. En el modelo de persistencia viral el LCMV adopta un modo no citopático, regula la expresión de sus proteínas, al mismo tiempo que el sistema inmune del hospedero se muestra incapaz para eliminarlo. Una de las estrategias que utiliza el virus consiste en infectar a las células del sistema inmune en proceso de maduración, en virtud de lo cual el hospedero pierde parte de su capacidad de detectar las células infectadas. En otros términos durante el proceso de maduración de células T en el timo interviene un proceso de selección clonal negativa en donde los clones que se unen con alta afinidad a antígenos propios son eliminados; los antígenos de LCMV actuarían como antígenos propios. Esto es en circunstancias normales parte de un proceso que contribuye a mantener la tolerancia hacia antígenos propios. Quizás este modelo sería de utilidad para pensar la infección por virus rubéola prenatal y la persistencia del virus en el recién nacido.



El hospedero y el virus, mimetismo molecular

En la respuesta a LCMV el hospedero tiene una tolerancia relativa pues desarrolla una respuesta inmune humoral. Los anticuerpos específicos no se encuentran en estado libre, sino unidos al virus circulante o a sus antígenos; formando inmunocomplejos que son marcadores de la persistencia viral. Si bien estas observaciones fueron realizadas en un modelo murino, son aplicables a infecciones humanas como por ejemplo virus de Epstein Barr, citomegalovirus, virus de la hepatitis B y virus de la inmunodeficiencia humana. Una vez formados estos inmunocomplejos circulan y pueden ser fagocitados por el sistema retículoendotelial o bien depositados en los tejidos. Estos complejos antígenos-anticuerpos tienen actividad patogénica pues, una vez depositados en los tejidos inducen una respuesta inflamatoria, responsables de glomerulonefritis y arteritis. La susceptibilidad a la formación de inmunocomplejos está relacionada tanto al hospedero murino (diferentes variantes de ratones producen altos niveles de anticuerpos e inmunocomplejos), como a la cepa viral, habida cuenta que ratones genéticamente similares arman respuestas de anticuerpos diversas según la cepa de LCMV. Esto conduce a pensar que las manifestaciones clínicas que acompañan a una infección viral también pueden ser el resultado de una respuesta antiviral.

Otra perspectiva de las respuestas inmunes a antígenos virales se relaciona a que el sistema inmune puede reaccionar frente a estructuras propias del hospedero y, esta reactividad cruzada por mimetismo molecular producir enfermedad. Es decir que pueden existir epitopes compartidos entre el hospedero y el microorganismo. Estos epitopes compartidos generan una respuesta inmune humoral cruzada. A modo de ejemplo, anticuerpos monoclonales derivados de pacientes con fiebre reumática reaccionan en forma cruzada con antígenos como el carbohidrato A, la proteína M, por parte de *S pyogenes* y con la miosina por parte del hospedero. En sistemas virales, epitopes del virus pueden reaccionar en forma cruzada con proteínas propias del hospedero. Así anticuerpos monoclonales inducidos contra epitopes del virus sarampión o herpes, pueden reaccionar con proteínas provenientes de células no infectadas. El mimetismo molecular genera también una respuesta inmune celular cruzada. Por ejemplo, la

polimerasa del virus de la hepatitis B tiene epitopes compartidos con la proteína básica de mielina. Cuando el péptido viral es inoculado en conejos genera una respuesta inmune celular en algunos animales productora de encefalomiелitis alérgica.

Los virus pueden alterar la función de diferenciación celular

La persistencia de virus no líticos pueden alterar el funcionamiento de las células infectadas, sin destruirlas. De hecho que ciertas variantes de LCMV tienen la capacidad de infectar las células productoras de hormona de crecimiento de la pituitaria anterior de determinadas variantes de ratones. Esta infección conduce a una disminución en la secreción de hormona del crecimiento (GH), a un retardo del crecimiento así como a una severa hipoglucemia. Lo que es más la infección produce alteraciones en el comportamiento. Estas alternativas patogénicas ayudan a pensar la infección prenatal por virus rubéola y las consecuencias tardías de la misma tales como defectos en el aprendizaje. La capacidad para infectar estas células pituitarias se encuentra en un cambio de aminoácido producido en las variantes virales de LCMV. Todo lo dicho ilustra la posibilidad que diferentes variantes virales de un mismo virus, utilicen distintos receptores que les habiliten para infectar diversas poblaciones celulares. Por otra parte la susceptibilidad para la deficiencia de GH por la infección por LCMV, estaría localizada en el cromosoma 17 del ratón.

Virus polio salvaje y virus polio vacunal, iguales receptores pero diferente replicación en tejido nervioso

La poliomielitis es una enfermedad aguda del sistema nervioso central que puede ser controlada por vacunas formuladas por virus inactivado o cepas de virus atenuadas. Las cepas atenuadas de cada serotipo de virus polio fueron aisladas por Albert Sabin luego del pasaje de variantes virulentas en cultivo celular de mono en el año 1950. La vacuna producida por Sabin replica eficientemente e induce una inmunidad protectora. Aún cuando esta vacuna es excelente y tiene un importante seguridad, puede dar lugar a variantes de virus polio con marcadores de reversión de la neurovirulencia. Estas variantes están asociadas a errores de la ARN polimerasa viral. La mayoría de estos casos son producidos por el serotipo 3 y se deben a pocas mutaciones en el

ARN viral .

Se ha sugerido que el tropismo de virus polio, caracterizado por aquellos órganos donde se replica está determinado por su receptor a moléculas CD155. Es así que luego de su primera replicación en tracto gastrointestinal, ya sea por vía hemática o neural, el virus alcanza la médula espinal y el tejido cerebral, en donde encuentra en ambos tejidos el receptor CD 155. Si el receptor es el mismo para polio salvaje así como polio atenuado vacunal en tejido nervioso. Entonces ¿porqué el virus vacunal no produce poliomielitis?

El inicio de la síntesis de proteínas en los ribosomas de las células eucariotas, depende de un sitio de entrada del mRNA en el extremo 5' por una estructura de 7-metilguanosina cap. Otra posibilidad en la traducción de algunos ARNm se inicia en una secuencia de ARN denominada sitio de entrada al ribosoma (IRES) celular. El análisis genético ha demostrado una mutación puntual en virus polio vacunal en la región que codifica para IRES. Esta mutación, si bien permite que el virus vacunal replique en la mucosa intestinal, resulta crítica cuando intenta replicarse en tejido nervioso, aún cuando encuentra su receptor, debido a la baja concentración de IRES en tejido nervioso. De este modo si bien en ambos tejidos el virus tiene el receptor CD155, sólo puede replicarse en tejido de la mucosa intestinal. De este modo, virus polio ilustra que para alcanzar con éxito la interacción entre virus y célula, deben coincidir la susceptibilidad y permisividad. Esta coincidencia se denomina tropismo viral. El tropismo es el resultado de la sumatoria de dos eventos distintos: la susceptibilidad, caracterizada por la capacidad de adsorción del virus al receptor celular y la permisividad, como la posibilidad de continuar su replicación dentro de la célula. En otros términos, si bien ambas poblaciones celulares, ubicadas en la mucosa intestinal y en el tejido nervioso son susceptibles, la permisividad es distinta; de tal modo que el virus polio vacunal sólo puede replicarse en la mucosa intestinal.

Además se ha descrito que el interferón α/β es también un determinante crítico del tropismo viral y de la patogénesis. En la mayoría de las infecciones el interferón α/β limita la replicación sólo a la mucosa intestinal. Sin embargo, si esta respuesta es deficiente, permita su diseminación al tejido neural.

CAPÍTULO 9

LA TERRIBLE FIEBRE DE LASSA, UNA HISTORIA DESENCADENADA POR LOS VIRUS

1. POR JOHN FULLER

2. SELECCIONES DEL READER'S DIGEST- JULIO DE 1974 , REPRODUCIDA CON AUTORIZACIÓN DEL READER'S DIGEST



<https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/lassa-fever>

La amenaza de la peste siempre ha sido aterradora para la humanidad. Y aunque en los tiempos modernos nos parezca remota e incluso inverosímil, en el interior de Sudamérica y de África, y en otras regiones apartadas, acechan ciertos virus mortíferos, cada uno capaz de desencadenar un desastre de proporciones mundiales. En el invierno de 1969 surgió en Nigeria una enfermedad desconocida, rebelde y muy maligna, que pronto traspuso la línea de defensa africana. Si no hubiera sido por un puñado de empeñosos investigadores médicos que siguieron el rastro a la infección hasta su foco, la epidemia habría viajado en los más veloces aviones para cundir por las ciudades de todo el planeta.

Un leve golpe en la puerta despertó a Laura Wine poco después de las 3 de la madrugada. Urgía su presencia en el hospital. Así pues se vistió y apresuró el paso por el sendero hacia las luces del Hospital de la Misión de Lassa, donde era jefa del departamento de obstetricia. Mientras iba andando, notó más agudo el dolor de espalda que le molestaba hacía poco tiempo.

Lassa, aldea de casas de adobe con techo de paja, de unas 1000 almas, era como otras muchas aldeas remotas del nordeste de Nigeria. Situada en las faldas de las montañas que separan de Camerún a esa nación, es virtualmente inaccesible la mitad del año,

mientras dura la estación de lluvias. Allí, en los años de 1920 a 1929, la Iglesia de los Hermanos construyó una misión para servir a las tribus hausa, fulani, margi, higi y otras.

Poco después de amanecer le nació un hijo a una aldeana, y la jefa de obstetricia regresó a su casa a descansar. Laura Wine se había retirado a los 65 años de edad de su profesión de enfermera y partera, que ejerció cerca de Chicago, y había pasado los cuatro últimos en la selva nigeriana. Normalmente andaba con una agilidad increíble para sus años, pero, en la ocasión a que nos referimos, el incesante dolor de espalda la obligaba a ir con lentitud.

Ante la sorpresa de sus amigos, Laura no acudió a la iglesia aquel domingo, 19 de enero de 1969. Pero más tarde Esther y John Hamer (que era el único médico de la misión) sintieron alivio al verla llegar a su casa para comer con ellos, como solía hacer todos los domingos. A mitad de la comida les comunicaron que una mujer de la tribu Margi acababa de dar a luz a la orilla de un polvoriento camino que llegaba a Lassa. Laura se puso en pie, pero el dolor de la espalda la obligó a sentarse. Esther Hamer insistió en atender ella a la parturienta y rogó a su amiga que se fuese a casa a descansar. Laura accedió a que la remplazaran, cosa extraña en ella. Al atardecer Laura ya se sentía mejor, y casi todos,

inclusive ella misma, atribuyeron su malestar a un leve ataque de artritis. A la mañana siguiente la enfermera fue al recinto del hospital donde había un aparato de radio de onda corta y tomó el turno para recibir y anotar los mensajes de las diversas misiones de la Iglesia de los Hermanos diseminadas por Nigeria nororiental.

Su voz era notablemente más débil cuando dijo ante el micrófono, como de costumbre:

-Aquí, Hermanos Lassa, llamando a Hermanos Jos . . . Cambio a Jos.

Más tarde confió a Esther Hamer que le dolía la garganta. El Dr. Hamer la examinó, pero no advirtió nada anormal.

El martes por la mañana volvió a reconocerla. Al fondo de la garganta y en la mucosa bucal se le habían formado unas úlceras amarillentas con bordes más claros. Tenía temperatura de casi 38° C. El médico le recetó penicilina con procaína y cloroquina (medicamento antipalúdico).

El miércoles 22 de enero, al no sentir la enfermera ninguna mejoría, Hamer resolvió investigar la causa del padecimiento. Le tomó una muestra de sangre y le hizo análisis de orina y heces fecales. Una gran concentración de leucocitos sería indicio de infección bacteriana. Pero resultó lo contrario: tenía muy pocos glóbulos blancos en la sangre, lo cual se conoce como leucopenia y puede ser síntoma de muy diversas enfermedades. El análisis de la orina también fue de resultados inciertos; lo escaso del volumen excretado, sin embargo, le preocupó, y el Dr. Hamer instó a Laura a ingerir muchos líquidos. Aquella noche la temperatura, le subió a 38,5° C, y en el brazo izquierdo le apareció una manchita amoratada, señal de hemorragia subcutánea. John Hamer quedó desconcertado.

El viernes por la mañana el médico se levantó antes de amanecer para estudiar una colección de números atrasados de varias revistas médicas. Al salir el Sol, y durante todo el día, pensó en la posibilidad de que la paciente fuera víctima de algún virus de inusitada resistencia. Hacia mediodía el habla de Laura era casi ininteligible. Al parecer había parorenal, pues la secreción de orina se había reducido casi a cero. La enferma apenas podía deglutir; tenía la boca seca y agrietada.

El Dr. Hamer resolvió trasladarla inmediatamente a un hospital mejor equipado, en Jos pero el lugar quedaba a 650 kilómetros de distancia, y el camino estaba en pésimas condiciones. Por ello dispuso que

la llevaran en una avioneta desde Mubi, a 80 kilómetros de Lassa.

El sábado salieron temprano en el Land Rover de la misión. El Dr. Hamer conduciría y Esther atendería a Laura en el asiento trasero. La enferma respiraba con gran dificultad. Cuando la transportaban al vehículo tuvo un ataque de convulsiones y de pronto la piel se le puso azul, señal de que no llegaba suficiente oxígeno a la sangre. El médico le aplicó rápidamente la mascarilla de oxígeno y ella reaccionó. Pero al levantarla para meterla dentro del vehículo sufrió nuevas convulsiones y una vez más hubo la necesidad de aplicarle la mascarilla. La paciente mostraba signos de colapso cardiaco.

John Hamer guiaba con toda la celeridad que consideraba prudente y trataba de sortear los enormes baches. Pero a cualquier velocidad era imposible evitar los balanceos y saltos del Land Rover por el quebrado camino. En el asiento trasero iban sacudiéndose Esther y su enferma.

A las 11 de la mañana llegaron a la pista de Mubi y poco después despegaba la avioneta que transportaba a Laura. No había perdido el conocimiento, pero sí el habla. En el pequeño depósito ya casi no quedaba oxígeno y sería poco lo que podrían hacer en la atestada cabina en caso de que sufriese más convulsiones. Mientras el aparato se aproximaba a Jos, preparaban una cama para Laura en el Hospital Bingham Memorial, donde ya le esperaba Jeanette Troup, único médico de tiempo completo en la institución. La doctora Jeanette, como todos la llamaban, fue a recibir la avioneta y condujo a la enferma al hospital sin dejar de administrarle oxígeno durante todo el camino. En cuanto llegaron se iniciaron las pruebas de laboratorio. Había signos de profusa hemorragia interna.

A la mañana siguiente Esther Hamer estaba al lado de la paciente viendo cómo se revolvía en la cama. Habían comenzado los servicios religiosos dominicales y llegaban desde el otro lado del patio los acordes del himno Poderosa fortaleza es nuestro Dios.

Una débil sonrisa se dibujó en los labios de la hospitalizada. Sin abrir los ojos, susurró a su amiga: -¡Ah, cuánto me alegra escuchar hoy los himnos en inglés.

Pero al reflexionar que en la lejana Lassa los servicios se celebraban siempre en dialecto hausa o margi, preguntó :

-Pero, ¿en dónde estoy?

Aquella tarde tuvo otro ataque de convulsiones. Ya no podía orinar. Entró en coma y después, a las 9:30 de la noche, expiró. El lunes por la tarde la enterraron en un apartado cementerio de la misión.

El efecto de esta muerte, a la larga, sería muy distinto de las consecuencias de los incontables fallecimientos ocurridos mientras los misioneros prestaban servicio en el extranjero. El tránsito de Laura Wine tendría pronto repercusiones más allá del Atlántico, en los Estados Unidos, en una cadena de incidentes tan misteriosos como aterradores.

Rompecabezas Mortal

Charlotte Shaw, enfermera cuarentona, trabajaba en el Hospital Bingham Memorial de Jos. El día que levaron allí a Laura había estado en su jardín ocupada en cortar un ramo de rosas que aquella noche llevaría al hospital. Al estirarse para alcanzar un capullo especialmente hermoso, se espinó un dedo, y al volver a casa se lavó la herida y se untó un antiséptico. La espinadura le cicatrizó, y pronto se olvidó ella del incidente.



Charlotte Shaw

Aquella noche, aunque con voz casi inaudible, Laura se había quejado de dolor de garganta. Charlotte sacó de un gabinete una gasa esterilizada, que se enrolló en el dedo para limpiar suavemente la garganta ulcerada de la paciente. Al empaparse la gasa, la enfermera sintió un leve escozor en el índice, y entonces recordó haberse herido con la espina de la rosa. Arrojó la gasa a la basura, se lavó el dedo cuidadosamente con agua y jabón, se aplicó más antiséptico y se lo vendó.

Ocho días después de morir Laura Wine, Charlotte empezó a sentir fuertes dolores en la espalda y en las piernas. Como también tenía escalofríos, creyó estar enferma de paludismo, que es endémico en la meseta de Jos. No quiso molestar a nadie y fue a la farmacia del hospital, donde tomó tres pastillas

anti palúdicas. Estaba segura de que a la mañana siguiente podría volver a su trabajo de todos los días. Pero no se sintió mejor. La temperatura le había subido a casi 39° C. Otra enfermera con la que se topó de camino al hospital la persuadió de que se metiera en cama.

Penny Pinneo, la jefa de enfermeras, ayudó a la doctora Jeanette a reconocer a Charlotte de la cabeza a los pies y a tomarle las muestras necesarias para las pruebas de laboratorio. La temperatura corporal de Charlotte había subido ya a 39,4° C y todos sus compañeros tenían la misma sospecha. Pero cuando la enfermera Shaw les relató lo de la espinadura en el dedo y la sensación de escozor que sintió al limpiarle la garganta a Laura, le dijeron que no tenía por qué preocuparse.

Es muy fácil llegar a conclusiones erróneas al hacer un diagnóstico, especialmente tras la amarga experiencia de un caso de muerte fulminante y misteriosa. Por otra parte, Charlotte Shaw no presentaba indicios de úlceras en la garganta, ni trastornos respiratorios, ni hematomas en la piel. Así pues, sin alarmarse, Penny Pinneo se consagró, a prodigar a Charlotte los mejores cuidados y dejó el resto en manos de Dios. No obstante, la paciente no mejoraba. A los siete días de haber enfermado, la temperatura le había subido a 40,4 y le aparecieron en la garganta señales de extrañas úlceras como las que había presentado también Laura Wine.

<http://vimeo.com/35866808>

<https://www.astmh.org/blog/october-2012/astmh-remembers-penny-pinneo,-a-pioneer-in-combati>



Penny Pinneo

Hacia el anochecer del 12 de febrero Charlotte tenía hinchados el cuello y la cara y jadeaba trabajosamente. Hacia medianoche mostró la consabida

mancha amoratada subcutánea. Murió a las 3:45 de la madrugada del 13 de febrero. Era el undécimo día de su desconocida enfermedad.

Una esperanza de esclarecer el enigma consistía en enviar a Nueva York unas muestras de tejidos y de sangre de las dos víctimas, para que las analizaran. Por tanto, hubo que practicar rápidamente una autopsia. Poco después de medianoche del día siguiente Penny Pinneo y la doctora Jeanette se pusieron las batas y los guantes de cirugía, y se prepararon a iniciar la ingrata labor. Ninguna de las dos juzgó necesario taparse la boca con una gasa esterilizada. La doctora hizo la incisión mayor, ayudada por Penny. Sacaron uno por uno los órganos del tórax y los de la cavidad abdominal e hicieron preparaciones histológicas. Todo el cadáver estaba anormalmente lleno de un suero de color ambarino que Penny extrajo con una esponja, para después exprimirlo en un recipiente. Era evidente qué se habían presentado extensas hemorragias internas. Se observaban lesiones en los pulmones, el hígado y los riñones. Sin embargo no había el menor indicio de la causa específica de la muerte.

Una semana después, en vísperas de cumplir 52 años, Penny Pinneo comenzó a sentir fiebre.

Precauciones Necesarias

Causó gran consternación la noticia de que una tercera enferma de la misión estaba postrada en cama con síntomas extraños de diagnóstico desconocido. La doctora Jeanette celebró varias juntas con dos médicos recién llegados. Acordaron fijar como plazo máximo miércoles 26 de febrero: si para entonces no cedía la fiebre, se iniciarían los trámites para trasladar a Penny a Nueva York.

El día en que vencía el plazo fijado la doctora Jeanette escribió en su informe médico: “Parece que la enfermedad sigue la misma evolución que el padecimiento de la última enferma a quien ella cuidó”.

La movilización de medios a que hubieron de recurrir para transportar a la paciente a Nueva York fue imponente. Un avión de la Misión Interior del Sudán voló desde meseta de Jos hasta Lagos, a unos 700 kilómetros de distancia. Acomodaron una camilla de madera laminada en el asiento delantero del avión. En Lagos gestionaron el visto bueno de la aduana de las autoridades de inmigración. De la Pan American World Airways, en Nueva York, se recabó el permiso para transportar un enfermo en

camilla, lo cual exigió la compra de cuatro asientos de primera clase, que fue necesario desmontar, y se instalaron cortinas especiales para aislar a la paciente. Las preparaciones de tejidos y de sangre de Laura Wine y Charlotte Shaw, que iban en el mismo avión de la enferma, tendrían que conservarse en hielo y ponerse en envases especiales, para que el desconocido virus que allí se escondía sobreviviera a los vuelos sobre Nigeria y el Atlántico.

El día 27 transportaron por avión a Penny Pinneo hasta Lagos, en la costa nigeriana. Allí tuvo que esperar el siguiente vuelo a Nueva York. Pasó cuatro días de sofocante calor en la Casa de la Peste de la ciudad (edificio ruinoso destinado a alojar a los enfermos contagiosos) con las sábanas empapadas en sudor y el inminente peligro de deshidratarse. Siguieron administrándole antibióticos, pero si la causa del padecimiento era un virus, éste seguiría vivo, pues, por desgracia, lo que ataca a las bacterias no obra contra las infecciones virales.

Por fin el 3 de marzo embarcaron a Penny en el reactor para hacer el vuelo de 13 horas hasta Nueva York. Tenía mucha fiebre; su aspecto era de gravedad extrema y mostraba síntomas de deshidratación avanzada. Era el duodécimo día de su enfermedad. Se esperaba un rápido desenlace.

Fueron a recibir el avión Rose Pinneo, hermana de Penny, también enfermera, un funcionario de la misión y el Dr. John Frame especialista en enfermedades tropicales del Centro Médico Columbia-Presbyterian, a quien había escrito la doctora Jeanette.

Antes de pasar a Penny a una silla de ruedas para sacarla del avión, el Dr. Frame quiso tomarle una muestra de sangre. Inmediatamente le extrajo 10 cc. del brazo. Luego, tomando el gran termo con las preparaciones conservadas en hielo de tejidos y sangre de las tres víctimas, se dirigió a su automóvil. Pero súbitamente cambió de parecer; fue a los retretes del aeropuerto, donde se desinfectó y se lavó las manos cuidadosamente. Poco valdrían sus servicios si no seguía la pista del enigma hasta el final.

Comienza la búsqueda

En sus 17 años de práctica médica entre los misioneros, el Dr. Frame, hombre delgado y de pelo canoso, había quedado desconcertado en varias ocasiones por informes de fiebres desconocidas, mortales muchas de ellas, en pacientes adultos. En otras épocas aquellas “fiebres africanas” quedaban

localizadas y no se consideraban una amenaza para otras zonas, pero en estos tiempos de veloces aviones de retropropulsión tales calamidades podrían cundir por todo el mundo en unas cuantas horas.

En 1965 este médico comunicó sus temores al Dr. Wilbur Downs, jefe del Laboratorio Arbovirus, de la Universidad de Yale, en New Haven (unidad en la cual se investigan los virus transmitidos por insectos). Downs compartió la preocupación de Frame, y éste convino en comenzar a recoger muestras de sangre de los misioneros que regresaban a los Estados Unidos y que hubieran sufrido fiebres extrañas. En Yale se analizarían y catalogarían para formar un archivo y obtener datos nuevos, tanto acerca de los virus conocidos como de los desconocidos que se descubrieran.

En 1968 Frame resolvió intensificar el programa. Pidió a la doctora Jeanette Troup, que por entonces regresaba a Jos, extraer sangre de los afectados por fiebres extrañas. Al presentarse varios casos de fiebre en Jos, la doctora había puesto sobre aviso a Frame, y éste a su vez se había comunicado por teléfono con el Laboratorio Arbovirus. La sombra incógnita era: ¿Habrían topado inesperadamente con un virus desconocido y mortal?.

Poco después de la llegada de Penny Pinneo, el Dr. Downs fue a Nueva York, al laboratorio de Frame, donde recogió el recipiente con las muestras de sangre y otras. Regresó a New Haven esa misma tarde, y en unos cuantos minutos llegó al séptimo piso del rascacielos del Departamento de Sanidad Pública y Epidemiología de la Universidad de Yale. La mayoría de sus ayudantes ya estaban esperándolo.

Como prólogo de sus observaciones estableció algunas reglas estrictas. En primer lugar, toda persona que trabajara en el programa, en cualquier forma, debía usar mascarilla, bata y guantes, igual que el personal del Columbia-Presbyterian, donde estaba hospitalizada Penny. En segundo lugar, a nadie que tuviese niños pequeños en casa se le permitiría intervenir en los trabajos de investigación. Luego ordenó tajantemente: “¡Ustedes no tocarán ese material!”

Sólo se permitiría manipular las muestras al Dr. Jordi Casals, notable patólogo y microbiólogo de la Fundación Rockefeller, nacido en España; a la doctora Sonja Buckley, oriunda de Zurich; cuyas investigaciones sobre el cultivo de tejidos vivos la habían hecho internacionalmente célebre, y a él mismo. Los trabajos se iniciarían inmediatamente.

El aislamiento de un virus es una tarea larga y compleja. Se necesitan centenares de animales de laboratorio, un compás de espera desconsoladoramente prolongado antes de que aparezcan indicios de incubación del padecimiento, una preparación cuidadosa de los cultivos, minuciosas comparaciones de datos estadísticos y repetidas observaciones con el microscopio electrónico.

Nada de lo que hicieran en el laboratorio de la Universidad de Yale sería provechoso para Penny Pinneo. Aquellos hombres y mujeres de ciencia trataban de desenmascarar al enemigo. Sólo así podrían contraatacarlo elaborando una vacuna o un suero que contuviera anticuerpos específicos. Además, si se descubría al vector o agente propagador del virus, quizá sería posible eliminarlo. Pero todo ello acaso requeriría meses e incluso años de investigación.

El material infeccioso llevado a New Haven era en su mayor parte suero sanguíneo y líquido de la cavidad torácica. Algunos dudaban que el virus sospechoso hubiese sobrevivido al largo viaje, pero los patólogos de la Universidad de Yale debían trabajar en el supuesto de que los gérmenes estuvieran activos.

Sonja Buckley comenzó al punto a preparar una serie de cultivos en grandes frascos de Roux, de forma parecida a los botellines de licor que se llevan en el bolsillo. Dentro de cada uno había un caldo de color rojo, con células animales vivas que ella trataría de destruir por varios métodos con el suero infectado. La doctora Buckley comenzó a trasvasar las células a frascos más pequeños, de 60 cc., y a tubos de ensayo llenos de gelatina alimenticia. Al terminar quedaron cerca de 200 cultivos alineados en varias filas de frascos y tubos, como un regimiento de soldados. Se dejaría a las células desarrollarse en el nuevo medio durante varios días.

El trabajo de Downs y Casals era diferente. Inyectarían la sangre y fluidos orgánicos directamente en el cerebro de ratones de una colonia especial. Ningún caballo de carrera hubiera sido criado con mayor esmero. Los ratones tenían que ser idénticos; de lo contrario habría variaciones en las pruebas. Además, por supuesto, debían estar perfectamente sanos.

Los animales estaban alojados en sendas cajas de metal parecidas a paneras. Para reducir el peligro de contagio en caso de que un ratón levantara polvo infectado, cada caja tenía su propio sistema de ventilación, y el aire de salida iba a dar a un incinerador.

Comprendiendo que el menor desliz de la aguja de inoculación podría ser mortal para ellos mismos, los investigadores anestesiaron profundamente con éter al primer grupo de ratones, para que no se movieran. Downs tomó entonces una jeringa con 20 milímetros cúbicos del suero sospechoso, de color pajizo, cogió un ratón y le introdujo la aguja en el cráneo. Casals hizo lo mismo con otro animal.

Cuando terminaron las primeras inoculaciones Downs advirtió: “Jordi, sería preferible que tu esposa no supiera nada de este trabajo”.

Casals asintió con la cabeza.

Apolilladuras y Ratones

En el Hospital Columbia-Presbyterian, la temperatura corporal de Penny Pinneo subió a 41,7° C., lo cual en un adulto es por lo general preludio de la muerte; pocas personas sobreviven a tan ardiente fuego interior. Los médicos y las enfermeras la envolvieron en compresas de hielo y la colocaron en una tienda de oxígeno. Le daban aspirina; seguían administrándole líquidos por vía intravenosa, pero no podían hacer nada más.

La temperatura de la enferma fue bajando lentamente, pero a la fiebre siguió la neumonía, que produjo edema pulmonar y una tos pertinaz. Después vinieron la encefalitis e incesantes zumbidos en los oídos, junto con sordera y vértigos. Se le presentaron también hemorragias internas. Además, tenía afectados el corazón, los riñones y otros órganos. Pero aún vivía, y por entonces ya había sobrevivido más tiempo que sus dos colegas.

En la Universidad de Yale, el 10 de marzo, Sonja Buckley fue a su laboratorio a iniciar el ataque contra los cultivos histológicos. Succionó de cada frasco el viejo líquido nutriente, utilizando para ello una pipeta a manera de pajita. Las pipetas estaban tapadas con algodón para impedir que pasara líquido a la boca, pero por el momento no había motivo de preocupación, pues los frascos no contenían suero con posibles virus.

Luego añadió una nueva solución que conservaría en buen estado los cultivos, sin hacer crecer las células. Después llegó la fase crítica: succionó con una pipeta el suero sanguíneo infectado y dejó caer 100 milímetros cúbicos en cada frasco de una serie. En otro número igual de frascos, que servirían de testigos, agregó sólo el caldo de cultivo, sin suero infectado. Por último puso todos los recipientes en

una estufa de incubación.

Mientras tanto Downs y Casals buscaban indicios de cambios en sus ratones. Pero los animales todavía tenían aspecto normal y parecían sanos. Si seguían así, sería muy dudoso que las muestras de suero sanguíneo contuviesen virus mortíferos. Sin embargo, era demasiado pronto para saberlo a ciencia cierta; algunos ratones de laboratorio sobrevivían a las inoculaciones de virus hasta nueve y diez días. El martes por la mañana Jordi Casals dudaba de la utilidad del experimento.

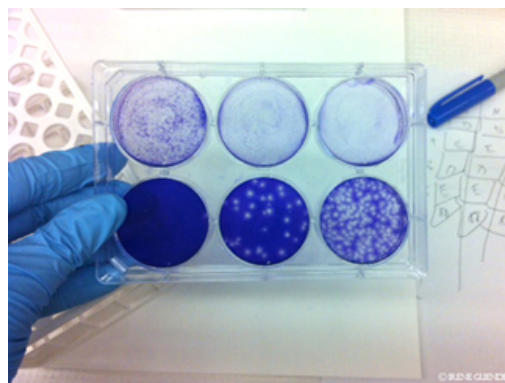
Decepcionado, fue al laboratorio de Sonja a preguntarle si había logrado algo. Ella no tenía nada que informar; todavía era muy pronto para adelantar alguna conclusión.

Aquella tarde, mientras la doctora Buckley trabajaba en sus cultivos, fue a visitarla el Dr. Max Theiler, laureado con el premio Nobel en 1951 por sus trabajos para el logro de una vacuna contra la fiebre amarilla. También él le preguntó cómo iba la investigación, y Sonja se acercó a examinar los frascos.



Max Theiler

Casi no podía dar crédito a lo que vio. *En el grupo infectado, la capa de tejido celular de cada uno de los frascos estaba cubierta de placas: eran unos puntos blancos o agujeros, como picaduras de viuela. Algún virus devoraba ávidamente las células.*



Sin embargo, era extraño que los cultivos hubiesen reaccionado más pronto que los ratones, inoculados

tres días antes. Pensó que acaso los frascos se habrían contaminado con algún otro virus, y resolvió repetir todo el procedimiento.

Al martes siguiente, 18 de marzo, obtuvo la respuesta a sus preguntas. Hasta el último de los frascos infectados mostraba las características “apolilladuras”. Comprobó entonces que trabajaba con un “agente”, un desconocido germen de gran virulencia.

Wilbur Downs y Jordi Casals se alegraron mucho de los resultados de Sonja, pero seguían intrigados por la buena salud de los ratones. Se les ocurrió entonces un sencillo razonamiento: habían utilizado ratones muy jóvenes, creyendo que serían más vulnerables a la enfermedad. Pero los virus difieren extrañamente unos de otros. ¿Qué ocurriría si experimentaban con ratones adultos, más resistentes? Para averiguarlo, comenzaron a trabajar con una colonia de estos últimos.

Al día siguiente Casals fue a las jaulas, aunque no esperaba encontrar nada. Tomando un ratón adulto por la cola, le asombró sentirlo temblar levemente. Después visitó jaula por jaula, y vio que casi todos los roedores infectados con el suero africano padecían las mismas convulsiones. Los del grupo testigo no temblaban.

A los pocos días habían muerto casi todos los ratones inoculados.

“Dosis Mortal 50”

Jordi Casals inició entonces otra serie de pruebas. ¿Era aquel “nuevo” virus sólo alguna de las variedades ya descubiertas en Sudamérica y en África? ¿Cuál era su potencia? ¿Cuál es su tamaño? ¿Podrían verlo y reconocerlo con el microscopio electrónico?

Para responder a tales interrogantes sería preciso manipular mucho el material infectado, y aunque los investigadores tomaran todo género de precauciones, era posible que ocurrieran tragedias. Como uno de tantos ejemplos recordaban que un 25 por ciento del primer grupo de investigadores de la fiebre amarilla patrocinados por la Fundación Rockefeller, en la época anterior a la vacuna, murió a consecuencia de sus contactos con el agente patógeno cultivado en el laboratorio.

Era obvio que el nuevo virus africano tenía una extraordinaria virulencia; para determinar con exactitud su potencia, los doctores Casals y Buckley,

independientemente, hicieron la prueba llamada de concentración.

Como es imposible contar las partículas virales, ni siquiera observando los virus con un microscopio electrónico, hay que establecer cierta escala para medir su potencia, lo cual se consigue mediante el procedimiento de concentración. Básicamente, tanto Jordi Casals como Sonja Buckley siguieron el mismo método.

Casals utilizó varios tubos de ensayo. Tomando una pipeta, succionó el suero infectado y lo introdujo con toda su potencia viral en el primer tubo. En el segundo virió el mismo líquido, pero diluido al diez por ciento. En el tercero puso suero disuelto al uno por ciento; en el cuarto, al uno por mil, y así sucesivamente.

Casals y la doctora Buckley tomaron entonces la solución más débil (en este caso un volumen de suero infectado por cien millones de líquido) y con ella inocularon 10 ratones y 10 cultivos de tejidos.

Si ninguno de los ratones moría o ninguno de los cultivos se destruía, emplearían una solución más concentrada. Se trataba de seguir ese procedimiento hasta obtener una concentración que destruyera un 50 por ciento de los animales o la mitad de los cultivos. Cuanto más débil fuera la solución que aniquilara al 50 por ciento de los roedores (que los científicos llamaban “Dosis mortal 50”) tanto más potente sería virus.

Una muestra del suero de Penny Pinneo destruyó el 50 por ciento los cultivos de tejido con una solución de uno por 10 millones. Esa concentración era pavorosamente mortífera, y se reforzaron todas las precauciones que ya tomaba el laboratorio.

En seguida Sonja Buckley se dedicó a la compleja tarea de preparar parte del suero infectado de Penny Pinneo para observarlo al microscopio electrónico. Primero comprobó que la muestra fuera virulenta ensayándola otra vez en sus frascos. Luego puso a incubar el caldo durante cinco días y lo pasó a una centrifugadora, donde se hicieron girar los tejidos celulares hasta que quedaron secos y duros, y pudo cortarlos con micrótomo para teñir y observar las células.

Bob Speir, especialista en microscopía electrónica, entró en acción. Montó los especímenes, los preparó para el objetivo del microscopio electrónico, que aumentaría la imagen más de 100.000 veces. (Si un billete de banco de 15,6 centímetros por 6,7 se amplificara así, abarcaría casi la cuarta parte de un

campo reglamentario de fútbol).

Speir enfocó la lente del microscopio electrónico. ¡Ahí estaba el virus! Una afelpada pelota de tenis moteada de negro en la superficie y con protuberancias como púas. Era repelente, ominoso, y, aunque muerto, parecía mirar fijamente a través de la pantalla del instrumento óptico.

Extraños Escalofríos

Uno de los trabajos más importantes científicos de la Universidad de Yale consistía en descubrir y producir anticuerpos para el nuevo virus. Se cree que existe por lo menos un anticuerpo para cada invasor viral. El anticuerpo puede englobar al virus y neutralizarlo porque su forma es el vaciado negativo del virus que va a atacar. Así los dos se acoplan perfectamente y, estrechados en mortal abrazo, son expulsados del organismo en calidad de desechos.

Como estas defensas pueden encontrarse en un animal o en un ser humano que se haya recuperado de una enfermedad viral. Wilbur Downs ya había cableografiado al Laboratorio de Virología de la Universidad de Ibadán, en Nigeria, para pedir a los científicos de allí que investigasen las epidemias de Lassa y Jos. Quizá localizaran moradores de las aldeas nigerianas que hubiesen sobrevivido a la nueva peste. En tal caso su sangre contendría los anticuerpos específicos. El Dr. Downs también solicitó que se tomasen muestras de sangre de animales silvestres de la región (especialmente de roedores) para examinarlas, con la esperanza de hallar en alguno de ellos el vector o agente trasmisor del virus.

Para esto, ya se había comenzado a notar mejoría en Penny Pinneo. La temperatura le había seguido bajando, y a partir del 20 de marzo no volvió a subirle a más de 37,2° C. El 3 de mayo, a las nueve semanas de haber ingresado en la sala de aislamiento del Hospital Columbia-Presbyterian, la dieron de alta. Había disminuido su capacidad auditiva, y perdió poco menos de 13 kilos y casi todo el pelo. ¡Pero estaba viva!

Su mejoría proporcionaba a Jordi Casals una nueva arma contra la “fiebre de Lassa”, como ya la habían bautizado John Frame y sus colegas. Si se encontraban anticuerpos en el suero sanguíneo de Penny, sería posible elaborar con él un rudimentario antisuero.

La práctica de inyectar suero con anticuerpos a un enfermo de infección viral es antigua, y se empleaba

especialmente antes de perfeccionarse las técnicas de la vacunación moderna. Es peligrosa, pues por una parte el suero acaso contenga virus vivos ocultos; puede causar hepatitis o, en algunos casos, una parálisis mortal de los riñones, matando a un enfermo que hubiera podido sanar. Pero en una urgencia, cuando no hay vacuna, es casi la única técnica terapéutica disponible.

Las pruebas que hizo el Dr. Casals fueron positivas: el suero tomado a Penny Pinneo en el vigesimocuarto día de su enfermedad contenía muchísimos anticuerpos del virus de la fiebre de Lassa.

Casals calculó entonces el tiempo en que persistiría la virulencia del germen patógeno después de la recuperación clínica del paciente. Le sorprendió comprobar que, aunque los ratones jóvenes no habían presentado síntomas de la enfermedad, en su orina se encontraban virus vivos de la fiebre de Lassa hasta 45 días después de haber sido inoculados con el suero contaminado. Al parecer el virus podía ocultarse en los riñones durante un largo período (al menos en los roedores).

Este descubrimiento indicaba una gran afinidad entre el virus de Lassa y ciertos virus mortíferos descubiertos en Sudamérica. Se elaboró la siguiente hipótesis: los roedores jóvenes se infectaban al nacer y transportaban los gérmenes sin peligro para ellos mismos; pero por la orina podían transmitir la enfermedad a los seres humanos.

Tal suposición se amoldaba perfectamente a una costumbre curiosa en los campesinos nigerianos. Durante la estación seca los muchachos de los pueblos, armados con palos, se internaban en los matorrales y, prendiendo fuego a la hierba, esperaban que salieran las ratas, las apaleaban y las llevaban a casa para asarlas. Un alto porcentaje de las proteínas que alimentan a las tribus procedía de aquella fuente. Naturalmente las ratas salen despavoridas huyendo del fuego, y el terror las hace que orinen.

A principios de junio, sentado en su laboratorio, Jordi Casals sintió un escalofrío por todo el cuerpo. Siguió trabajando, pero el malestar persistía. Tomó dos aspirinas y volvió a su mesa de trabajo. Según la tradición profesional, no iba a pensar que sus síntomas eran alarmantes, ni debía caer en aprensiones (obsesión particularmente nefasta en el tipo de trabajo que él desempeñaba).

Al día siguiente Sonja Buckley, vio al médico sentado en su laboratorio, vestido con un grueso suéter gris y una chaqueta de lana bajo la bata blanca de

trabajo. A ella le pareció que su colega tenía el rostro tan gris como el suéter . . . y tiritaba de frío.

-¿Qué te pasa? ¿Te sientes mal? -le preguntó.

-Estoy resfriado - repuso Casals.

La investigadora le aconsejó marcharse a casa y meterse en cama hasta que pasara el malestar. Seis días después, con agudísimos dolores en los muslos y ardiendo en fiebre, lo llevó una ambulancia a la unidad de aislamiento del Hospital Columbia-Presbyterian.

“Nos Diste un Buen Susto”

Aquella noche John Frame y su esposa Verónica celebraban el cumpleaños de ella rodeados de familiares y amigos en Long Island. En eso, sonó el teléfono: era Wilbur Downs.

-John -anunció Downs-: te hablo desde el Columbia-Presbyterian. Jordi Casals está en la sala de aislamiento. . .

Y le resumió el cuadro patológico que presentaba Casals. Era terriblemente parecido al de las tres enfermeras de la misión. Por demasiado obvio, no necesitaba expresar el diagnóstico. Sabes dónde está Penny Pineo -preguntó al final.

Frame contestó que la suponía en casa de su hermana. A la mañana siguiente logró comunicarse por teléfono con la enfermera, que se conmovió al oír la noticia. El médico le preguntó si estaría dispuesta donar suero sanguíneo para administrárselo a Jordi, y si se sentía con fuerzas para hacer el viaje. -Nada ni nadie me detendrían- respondió Penny. Y a media tarde ya estaba a bordo del avión que la conduciría a Nueva York.

En Laboratorio Arbovirus de la Universidad de Yale se reunieron los colegas de Jordi Casals para idear alguna solución del caso. Consideraron uno por uno los peligros de administrarle el antisuero: eran graves. No obstante, no hacer nada equivaldría a lavarse las manos y dejar que su amigo entrara en una crisis mortal.

Ya sabían que los síntomas de Jordi seguían una secuela demasiado conocida: deshidratación, leucopenia, indicios de hemorragias internas. Todos estaban seguros de que tenía la fiebre de Lassa, y la rapidez con que se propagaba el virus no permitía vacilaciones. Charlotte Shaw había muerto a los once días de caer enferma, y calculaban que el Dr. Casals estaba infectado desde hacía siete.

Durante las 24 horas siguientes el médico enfermo

empeoró. Mientras Downs estuvo a su lado, se permitió a Lynn, la esposa de Casals, ponerse mascarilla, bata y guantes para visitar a su marido. La pobre mujer estaba aterrada y a punto de llorar. Terminada la hora de la visita, hizo instintivamente el intento de acercarse a su esposo, inclinándose como para besarle a través de la mascarilla. El Dr. Downs le gritó que se detuviera y la asió de un brazo. La fiebre de Lassa no permitía tales demostraciones de cariño.

El miércoles por la mañana, ante la noticia de que el estado de Jordi Casals empeoraba rápidamente, hubo otra consulta de médicos en la Universidad de Yale. Inquietaba a sus colegas no tener una prueba fehaciente de que estuviese afectado por la “fiebre de Lassa”; si le administraban el suero de Penny corrían el riesgo de inocularle una enfermedad mortal. Antes de la reunión Downs pidió una conferencia telefónica con el Dr. Karl Johnson, distinguido virólogo de fama internacional que en ese momento estaba en Panamá trabajando con la mortífera fiebre hemorrágica boliviana, una de las enfermedades de origen sudamericano que se parecía mucho a la fiebre de Lassa. Johnson escuchó atentamente mientras Downs le describía con todo detalle el cuadro clínico del Dr. Casals. Al terminar, el virólogo recomendó decididamente:

-Adminístrale el suero, Wilbur.

El Dr. Edgar Leifer, médico de cabecera del Dr. Casals, también había celebrado varias juntas con el personal del Columbia-Presbyterian. El parecer del Dr. Johnson inclinó la balanza a favor de utilizar el antisuero.

Aquella noche empezó éste a fluir gota a gota por las venas del enfermo. A la mañana siguiente se observaba poco cambio. Durante todo el día los científicos de Yale y del Columbia se preguntaban si habrían hecho bien en recurrir a aquella medida.

En la siguiente mañana Sonja Buckley examinó los cultivos que había infectado antes con el suero sanguíneo de Jordi Casals: toda la capa de células estaba destrozada por el virus de Lassa, lo cual confirmaba que el médico había adquirido la temida enfermedad.

Sin embargo, ese mismo día Jordi comenzó a dar señales de franca mejoría. Le bajó la fiebre, y a partir del 26 de junio la temperatura ya fue normal. Hubo sensación general de alivio en Yale y en Columbia. El Dr. Robert Shope, uno de los especialistas de la universidad que visitaba al enfermo en el hospital,

dijo algo que el médico español recordará toda la vida: “¡Jordi, nos diste un buen susto!”. Los científicos no suelen hablar en esos términos.



Robert Shope (1929-2004)

Laboratorio de Virus Peligrosos

Al enterarse del caso Casals, la oficina neoyorquina del Servicio de Sanidad Pública de los Estados Unidos telefoneó a John Frame para expresarle su preocupación. Una cosa es que una enfermera contrajese la enfermedad en África, y otra, muy distinta, que la infección cundiera por los Estados Unidos. ¿Cabía la posibilidad de que el virus de la fiebre de Lassa saliera del hospital y se propagara por las calles?.

El Dr. Frame compartía tal preocupación e iniciaron en acción coordinada un procedimiento que se implantaría en los aeropuertos internacionales. Los viajeros procedentes de Nigeria se someterían a un largo interrogatorio. Si se advertía una manifestación de la enfermedad, por insignificante que fuese, se les exigiría presentarse con el Dr. Frame para que los reconociera cuidadosamente.

El Centro de Control de Enfermedades del Servicio de Sanidad Pública, con sede en Atlanta, tomó parte en la operación de alerta. Allí se acababa de terminar un nuevo laboratorio para virus peligrosos que costó dos millones y medio de dólares, y la campaña contra la fiebre de Lassa fue su primera misión. El Dr. Shope envió por mensajero especial unos virus vivos, desde la Universidad de Yale, con una nota en que se advertía al laboratorio de Atlanta la gran resistencia y peligrosidad del germen.

En las nuevas instalaciones las manos del hombre nunca tocaban las muestras, que se transportaban por bandas sin fin a través de largos túneles hasta unas “cámaras de aislamiento” o cilindros de acero herméticamente cerrados y con gruesas ventanillas

de cristal para observar su interior. Junto a las ventanillas había también troneras por donde se podían introducir los brazos en fundados en largos guantes de caucho fijos en el interior de la cámara. Los científicos trabajaban así con animales o cultivos perfectamente aislados.

El edificio del Centro contaba con puertas especiales de cierre hermético y con filtros. Toda persona que entrara en el recinto interior a trabajar con los materiales de las cámaras de aislamiento tenía que cambiarse de ropa en un cuarto especial, ponerse prendas desechables y, al salir, darse una ducha y colocarse frente a un haz de luz ultravioleta. Además no salía del edificio ningún material sin antes esterilizarlo o incinerarlo.

En la Universidad de Yale se redoblaron las medidas de seguridad y se continuaron independientemente los estudios. Tras su convalecencia, el Dr. Casals volvió al trabajo. En Nueva York, Frame tuvo la corazonada de que los anticuerpos de la fiebre de Lassa no sólo existían en Nigeria, sino que podrían hallarse en la sangre de misioneros curados de “fiebres africanas” y diseminados por otras comarcas del vasto Sudán. Comenzó a seguir en sus archivos la pista de varios casos sospechosos de haber sido fiebre de Lassa. En África proseguían la pesquisa en pos del agente transmisor. Pero a pesar de estar todos sobre aviso, la peste pareció esfumarse de repente. De junio a septiembre de 1969 no se registró ningún caso nuevo.

En cambio, en octubre hubo brotes de fiebre amarilla en Jos y en las comarcas vecinas. Fue una epidemia de efectos trágicos que duró varios meses, atacó a miles de personas y causó incontables muertes. Sin embargo, se siguió trabajando sin cesar en busca del origen del virus de Lassa ante la escalofriante perspectiva de los estragos que podría causar en poco tiempo entre una población sin vacunar.

El último jueves de noviembre, festividad de Acción de Gracias en los Estados Unidos, ofrecía un descanso muy merecido a los investigadores. La víspera, tras terminar varios trabajos, Jordi Casals estaba contento de disponer de unos días de reposo, pues desde su enfermedad se fatigaba más que antes. Se despidió junto al ascensor de Juan Román, joven técnico de laboratorio que, con su esposa, trabajaba en otras investigaciones. Juan pensaba ir en automóvil con su mujer a York (en Pensilvania) para asistir a una reunión familiar. Ambos compañeros de trabajo se desearon feliz fin de semana y cada

cual siguió por su camino.

El lunes siguiente no regresaron los Román, lo cual pareció extraño a Sonja Buckley, quien había estado adiestrando a la señora Román para que la ayudara a preparar cultivos. Pero antes del almuerzo un médico llamó desde York para informar que Juan estaba en cama, enfermo de una leve infección viral. Después de colgar el teléfono, Sonja pensó en la posibilidad de que Juan tuviese la fiebre de Lassa. Inmediatamente desechó tal pensamiento y se tachó a sí misma de histérica. El trabajo del investigador no tenía nada que ver con el peligroso virus; trabajaba en otro laboratorio, muy lejos del de ellos. Pero al terminar la semana Juan Román y su esposa aún no habían regresado a la Universidad de Yale. Siete días después hubo otra llamada: el joven estaba hospitalizado. Su estado, aunque no grave, era desconcertante. Jordi Casals resolvió ir a examinar a su compañero. Al llegar el Dr. Casals al hospital, Román estaba muy enfermo, con síntomas, al parecer, de tifo. Casals le tomó una muestra de sangre y regresó a la Universidad con toda prisa para estudiarla en cultivos celulares y en ratones.

Por desgracia, ninguno de estos estudios sería útil para Juan Román, que murió antes de transcurrir 48 horas. Al cabo de varios días se tuvo el resultado de las pruebas: el organismo del laboratorista había sido invadido por el virus de Lassa.

La noticia consternó a todos los que investigaban el caso. Era imposible determinar cómo pudo ocurrir el contagio, pues Juan Román nunca había tocado nada relacionado, siquiera remotamente, con el virus de Lassa, y jamás había entrado en la cámara de aislamiento del Dr. Casals.

La reacción fue instantánea enérgica. En la Universidad de Yale se suspendieron las investigaciones con virus vivos de Lassa y se despacharon todas las muestras y preparaciones al Centro de virus peligrosos de Atlanta. Todo el resto de los materiales y equipos usados en las investigaciones de virus vivos de Lassa se incineraron o se esterilizaron completamente. Se exigió a todo el personal de los laboratorios informar de los primeros indicios de cualquier enfermedad, por trivial que pudiera parecer. Desde Yale se enviaron boletines a los funcionarios médicos y de salud pública en todo el mundo. En la universidad no se recibirían en lo sucesivo nuevos especímenes sospechosos de contener ese virus.

Un Desliz del Bisturí

El día de Navidad los cristianos de la aldea de Bassa, situada a 30 kilómetros de Jos, preparaban una procesión con tambores y coros. Tamalama Sale quería presenciar la fiesta, pero aquella mañana la mujer ardía en fiebre y tuvo que guardar cama. A los pocos días estaba grave, y el 30 de diciembre la llevaron al hospital de Jos, junto con sus hijos: un niño de meses y una niña de tres años. Un hermano de ella la registró dando un nombre falso y un lugar de procedencia fingido, pues, según una vieja superstición de las tribus del altiplano, los espíritus malignos podrían perseguir hasta su casa al enfermo ya curado para atormentarlo de nuevo.

Tamalama Sale permaneció diez días en el hospital. En ciertos momentos pareció que no sobreviviría, pero al fin reaccionó y regresó a Bassa. A los tres días la madre y los hijos de esta aldeana cayeron enfermos con intensa fiebre. La anciana y el niño de meses se restablecieron paulatinamente; no así la niña, que murió.

Poco después de salir Tamalama del hospital, otras dos nigerianas presentaron síntomas parecidos a ella. A los cuatro días una murió, y luego ingresaron tres pacientes más con fiebre alta. La doctora Jeanette y Hal White, facultativo retraído y de pocas palabras, director de la escuela de auxiliares de medicina anexa al hospital, no osaban exteriorizar sus temores. Les era difícil creer que hubiese vuelto a brotar la fiebre de Lassa. Sin embargo, los nuevos casos no podían diagnosticarse como fiebre amarilla ni como alguna otra enfermedad común, y los síntomas eran sorprendentemente semejantes a los que habían manifestado aquellas tres enfermeras de la misión, hacía exactamente un año. Por primera providencia ambos tomaron a las tres pacientes muestras de suero sanguíneo y las enviaron a la Universidad de Ibadán para que las analizaran.

Poco después ingresaron en el hospital otros nigerianos. Había ya, en sucesión rápida y alarmante, 12 casos sospechosos; cuatro de los afectados eran empleados del hospital; dos de los cuales murieron el domingo 25 de enero. Se dio la noticia del segundo de estos decesos durante la sesión dominical de estudio de la Biblia. En un instante enmudecieron todos los fieles, estupefactos. A continuación la doctora Jeanette, que había puesto ejemplo de serenidad durante la reciente y terrible epidemia de fiebre amarilla, dio rienda suelta al llanto.

Después, dueña al parecer de sí misma, la doctora hizo la autopsia al cadáver de Maigari, que había

Capítulo 9

La terrible fiebre de Lassa...

trabajado de enfermero de quirófano. El bisturí de Jeanette se hundió en el pecho y dejó las costillas al descubierto. Luego bajó por el abdomen hasta llegar a las vísceras. La doctora desprendía con la afilada cuchilla una costilla, cuando se le resbaló de la mano el instrumento, que cortó limpiamente el guante de la otra mano y le penetró en un dedo. En el acto salió un chorro de sangre de la herida.

La cirujana sacó rápidamente la mano de la cavidad del cadáver, se dirigió al lavabo y se arrancó el guante roto. Dejó correr mucha agua en la cortadura, que se restregó con jabón quirúrgico y, luego de bañarla con abundante antiséptico, se la vendó cuidadosamente. Y tras colocarse un nuevo guante de goma, reanudó su tarea.

Después de hacer sus visitas habituales, Hal White se detuvo en el quirófano para ver en qué podía ayudar. Pero la necropsia ya había terminado y encontró sola a la doctora Jeanette.

-Hal -le dijo ésta-, llevo en África 16 años y en ese tiempo he cometido muchísimos errores, pero el Señor me ha concedido que pasen inadvertidos. Hoy acabo de cometer otro -al decir esto le enseñó el dedo vendado, pidiéndole no dijera nada a nadie, para no causar alarmas.

A la mañana siguiente la doctora Jeanette mandó un termo grande, con muestras de sangre conservadas en hielo, a Don Carey, doctor del Laboratorio de Virología de la Universidad de Imadán. En la carta anexa le explicaba incidentalmente el envío, pero Carey conocía demasiado bien a Jeanette para que lo engañaran sus eufemismos y circunloquios. Alarmado, cablegrafió al punto a Yale la noticia del nuevo brote, y pidió que, de ser posible, le remitieran cuanto antes dos dosis del suero sanguíneo de Jordi Casals, con sus anticuerpos. Luego, ayudado por Grabam Kemp, uno de los mejores virólogos del laboratorio, comenzó a preparar algunos cultivos histológicos.

Siguieron ingresando nuevos casos en el hospital de Jos, todos con los mismos síntomas siniestros. La lista ya había llegado a 19 y en ella se registraban diez defunciones. No había medios para implantar un aislamiento eficaz, y, aunque se hubiera contado con ellos, el personal médico era demasiado reducido y estaba sobrecargado de trabajo para seguir al pie de la letra el complicado método de aislamiento. Cundía el terror en Jos. Se cancelaron las reuniones públicas, cesaron virtualmente las actividades sociales. Los vuelos de aviones se redujeron al mínimo.

Los viajeros pasaban por la aldea sin detenerse, con las ventanillas de los automóviles cerradas a pesar del intenso calor. La gente hervía el agua durante una hora, en vez de los 20 minutos reglamentarios y la filtraba dos veces. Se tomaban grandes precauciones contra los ratones y otros roedores. Cualquiera que tuviera gripe o dolor de garganta creía haber contraído la fiebre de Lassa. Jos era una ciudad en estado de sitio.



El 3 de febrero por la tarde, la doctora Jeanette cayó en cama con fuertes escalofríos. Le dolían los músculos, especialmente los de la espalda, y a la mañana siguiente, aunque febril, se levantó se vistió y fue a hacer su ronda habitual por las salas del hospital, donde revisó el historial clínico de los enfermos. Evitó acercarse a los pacientes y a sus colegas, y al terminar la jornada regresó a casa a descansar.

Una semana después de presentarse los primeros síntomas le subió la temperatura a cerca de 40° C. Hal White insistió en que la hospitalizara. La recluyó en una habitación individual y ordenó que nadie entrara allí sin gorro, bata y mascarilla. Así impro-

visó lo más parecido a una sala de aislamiento.

La Primera Pista

Los informes del brote epidémico en Jos que llegaban a Nueva York eran incompletos, pero se veía que la situación iba de mal en peor. Pusieron sobre aviso a Penny Pinneo y a Jordi Casals, quienes expresaron su deseo de partir para Jos en cuanto se lo pidieran. Sin embargo, debido a la revuelta situación política de Nigeria, en plena guerra civil, ninguno de los dos había logrado obtener el visado del pasaporte. Mientras esperaban; les sacaron sangre y la sometieron a centrifugación y refrigeración para separar el suero. Jordi guardaba además algunos especímenes muertos del virus de Lassa, que esperaba llevar personalmente a Ibadán como referencia para que Don Carey identificara sin pérdida de tiempo los virus que le llevaran. Aún no estaban enterados de la enfermedad de la doctora Jeanette.

El plasma inmune de Casals-Pinneo y las muestras de virus de fiebre de Lassa muertos llegaron a Ibadán el 15 de febrero. Hal White, que no estaba al tanto de este envío, resolvió trasladar por avión ese mismo día a Ibadán a la doctora Jeanette. Pero inesperadamente le desapareció la fiebre. El Dr. White se tranquilizó. Tras conferenciar con la doctora enferma, convinieron en que aquel viaje era innecesario.

A la mañana siguiente la temperatura de la paciente descendió hasta 34,8° C, muy por debajo de lo normal, lo cual fue un fenómeno alarmante. La secreción de orina era peligrosamente escasa, y le aumentó mucho la cantidad de leucocitos.

White trató de comunicarse con Ibadán, pero en vano. Aún no sabía que ya había llegado el suero de Casals y tenía ante sí una decisión muy difícil: la conveniencia o inconveniencia de administrar a la enferma suero sanguíneo de Raphael único empleado del hospital había sobrevivido a la fiebre Lassa. Desgraciadamente no se había comprobado la presencia anticuerpos en la sangre del hombre. Además, no se disponía del equipo adecuado, y, sin centrifugadora, el Dr. White tendría que dejar que los glóbulos rojos de la sangre de Raphael se sedimentaran por gravedad, para luego extraer el amarillento suero con una jeringa.

White fue a la habitación de doctora Jeanette a anunciarle que le administraría el suero.

-Tú eres mi médico -respondió ella con voz débil.

Y así lo hizo: le sacó sangre al donador, separó el suero (160 centímetros cúbicos) y lo inyectó en la vena de la enferma. La doctora Jeanette no reaccionó. El 18 de febrero su respiración era jadeante, por lo que le aplicaron masaje cardiaco extratorácico. No obstante, aún estaba consciente. Aquella tarde tendió la mano a una alta enfermera nigeriana llamada Comfort, que no se había separado de su cacerera ni un momento. Tomándole la enorme mano, le dijo:

-Comfort: ya has hecho por mí todo lo humanamente posible. ¡Que Dios te bendiga!

A través de la mascarilla de la enfermera se veían escurrir las lágrimas.

La doctora Jeanette falleció a las 4:30 de la tarde.

Como triste epílogo, Penny Pinneo y Jordi Casals consiguieron por fin los visados a fines de febrero. Pero al llegar ambos a Nigeria los casos de fiebre de Lassa desaparecieron tan misteriosamente como habían surgido. Sólo dos nuevos enfermos ingresaron en el hospital después de la muerte de la doctora Jeanette. El mortífero virus volvía a esconderse. El problema consistía entonces en descubrir su escondite antes de que saliera a matar nuevamente. Era de vital importancia localizar el primer caso, y llegar a través de él hasta el foco original del contagio.

Don Carey, Graham Kemp, Jordi Casals y Penny Pinneo iniciaron la busca. En Jos estudiaron minuciosamente las historias clínicas de 23 víctimas e interrogaron a los sobrevivientes que pudieron hallar. Pronto comprobaron que la fiebre de Lassa se había transmitido desde el hospital, por lo menos entre los 17 primeros enfermos. Mas al revisar las entradas y salidas de los pacientes, de los visitantes y del personal de la institución, no encontraban a la víctima que hubiera podido contagiar a todos los afectados por el primer brote.

En eso estaban cuando Kemp vio la historia clínica de Tamalama Sale, la aldeana registrada con un nombre falso. Al principio no les pareció una pista muy prometedora, ya que su enfermedad no se había diagnosticado como fiebre de Lassa. Pero gradualmente fue perfilándose un cuadro claro y acusatorio. Tres de las primeras víctimas del virus habían estado en la sala general al mismo tiempo que Tamalama; es más, todos los casos primarios habían sido de pacientes, trabajadores o visitantes del hospital en esa época. Se formuló la teoría que la aldeana de falso nombre había llevado la fiebre de Lassa al hospital y la había transmitido a los prime-

ros enfermos conocidos, los cuales, a su vez, habían contagiado a sus familiares y amigos.

Para comprobar esta teoría era necesario encontrar a Tamalama, tomarle una muestra de sangre y ver si contenía anticuerpos. De ser así, Kemp atraparía y sangraría al mayor número posible de animales en la aldea de la mujer, para tratar de localizar el foco de la fiebre de Lassa. El gran problema podía formularse de esta manera: ¿Quién era aquella mujer y en dónde se hallaba?

“El Rey del Estacionamiento “

Casi lo único que podía hacer Graham Kemp era publicar en los diarios la descripción de lo poco que se sabía de Tamalama y tratar de encontrarla por ese medio. Surgió una pista: alguien dijo que acaso se trataría de la esposa de un chofer de camión apodado “el Rey del Ferrocarril”, cuyo apellido era Soulé o algo parecido, y que suponían vivía en Bauchi, a unos 950 kilómetros de Ibadán.

Kemp hizo el fatigoso viaje redondo de unos 1900 kilómetros. En Bauchi nadie parecía conocer a una mujer apellidada Soulé, pero por una increíble y afortunada coincidencia le señalaron a otra, la señora Sale, que resultó ser la esposa de Mallam Sale, de Lagos. Jamás había estado en el hospital de Jos, e ignoraba si Mallam había contraído segundas nupcias. Lagos, capital de Nigeria, es una ciudad muy extendida de medio millón de habitantes. Antes de internarse por el atiborrado laberinto de sus calles, Kemp hizo indicaciones entre los habitantes de alrededores. Por fin encontró otra pista: le informaron que en lengua Hausa “rey del ferrocarril” significaba también “rey del estacionamiento de remolques”, lugar apropiado para buscar a un chofer de camión.

Pasó el primer día en Lagos deambulando por las polvorientas calles en busca de lugares grandes de estacionamiento al aire libre para camiones de remolque, donde los choferes se reunían entre viaje y viaje a tomar cerveza y aguardiente de palma. Allí tampoco le pudieron dar informes. Pero al día siguiente cambió su suerte. Le indicaron que fuese a la empresa Tawaz de camiones, donde trabajaba de mecánico Mallam Sale, el “rey del estacionamiento de remolques”. No tardó en averiguar que el individuo era oriundo de Jos, y su segunda esposa del cercano pueblo de Bassa. La casa que ocupaban en Lagos estaba a corta distancia: era fácil ir a pie.

Tras una astuta labor de convencimiento desarrollada por Kemp, Tamalama Sale accedió a dejarse: tomar una muestra de sangre. Luego la sometió a un interrogatorio. ¿Había estado enferma hacia un año? Sí . . . y poco a poco fue saliendo a la luz la información vital.

Los resultados de las pruebas hechas con la sangre de la mujer indicaron que en ella abundaban los anticuerpos del virus de Lassa.

Cabía la hipótesis de que el de esa aldeana fuera el “caso índice” del brote ocurrido en Lassa. Pero Kemp estaba aún muy lejos de concluir su trabajo. Poco después de haber hecho las pruebas salió con destino a Bassa armado de un equipo para extraer sangre y conservar suero, y trampas para coger ratas, murciélagos y pájaros sospechosos de ser transmisores de la fiebre.

En Bassa tomó más de 70 muestras de sangre humana y contrató cazadores locales para tender las trampas. Cada noche llenaba su furgoneta de cadáveres de animales rotulados, envueltos y conservados en hielo, los despachaba a Atlanta. La tarea duró varias semanas mientras Kemp esperaba los resultados de los análisis.

Cuando llegaron, el investigador se alegró: los anticuerpos estaban presentes en la sangre de muchos moradores de Bassa. Pero, por desgracia, la fuente del virus seguía siendo un misterio. En ningún animal atrapado en la región se encontró el menor indicio de la presencia del germen.

Un artículo sobre la epidemia de Jos publicado en cierta revista especializada reflejaba preocupación latente.

[https://doi.org/10.1016/0035-9203\(72\)90271-4](https://doi.org/10.1016/0035-9203(72)90271-4)

Ningún médico que lo leyese podía abrigar la ilusión de que el virus de Lassa ya no se propagaría nuevamente en el momento menos esperado. De hecho, en Nueva York, John Frame estaba seguro de que el fenómeno se repetiría, y de que uno de los medios de predecir una nueva epidemia estribaba en el estudio de los casos anteriores de “fiebres africanas” que nunca se habían diagnosticado debidamente. Con ayuda del Laboratorio Arbovirus de la Universidad de Yale, había ampliado sus programas de análisis de sangre a 80 hospitales de una vasta región extendida al sur del Sahara.

Era extraño que sólo cinco, entre más de 700 tomas de sangre recibidas de África Occidental, contuvie-

ran anticuerpos de la fiebre de Lassa; pero cuatro de éstas procedían de Guinea. En noviembre de 1970 Frame advirtió a un grupo de virólogos que ese país o el vecino de Sierra Leona eran los focos más probables para el próximo brote de la temible peste.

Ratas y Murciélagos

Pasaron varios meses sin que se presentaran nuevos indicios de la enfermedad. Luego, en marzo de 1972, el Dr. Frame cenaba en Nueva York cuando recibió una llamada telefónica. Era de un radiofonista aficionado que dijo estar en comunicación directa con Penny Pinneo, en África, y que establecería contacto entre los tres.

Penny informó a Frame que iba camino de Jos a Liberia para auxiliar en lo que al parecer constituía un nuevo brote de la fiebre de Lassa. Se habían registrado casos en el pueblo de Zorzor, en la frontera con Guinea, a unos cuantos kilómetros de las regiones señaladas por Frame como futuros focos de la epidemia.

También se avisó al laboratorio de Atlanta, que ordenó a su personal en Liberia recibir a Penny Pinneo y a Tom Monath cuando llegaran con el suero inmune. Monath, virólogo de Atlanta, apacible y de voz suave, trabajaba para la Universidad de Ibadán. Al llegar a Zorzor, Tom encontró a los misioneros y al personal del hospital preocupados y deprimidos. Ya habían ingresado 11 pacientes, de los cuales cuatro murieron. Resultaba imposible conseguir gente suficiente para atender la improvisada sala de aislamiento. El edificio funcionaba casi exclusivamente para los enfermos con síntomas de fiebre de Lassa. En una junta a la que asistieron Monath, el Dr. Paul Mertens y otros médicos y enfermeras, elaboraron un plan de ataque. Seguirían básicamente el mismo procedimiento puesto en práctica en Lassa. Se trataría, ante todo, de localizar el “caso índice” y de atrapar animales de la comarca.

El virólogo contrató a 20 cazadores del pueblo, y con su ayuda tendió trampas, incluso unas de malla fina de nailon especiales para murciélagos. En ocho noches consecutivas recogió 164. En un laboratorio improvisado les extrajo sangre del corazón. Luego abrió los cadáveres, cortó tejidos de las vísceras y los empacó en recipientes con hielo para enviarlos a Atlanta.

No se presentaron más casos de la fiebre de Lassa y el brote se extinguió rápidamente. Como el de pa-

recía esfumarse después en los: casos secundarios. Sólo el del primer enfermo, o “caso índice”, parecía ser sumamente contagioso. Jos había habido muchos pacientes, entre ellos trabajadores del hospital y personas hospitalizadas que se habían expuesto al contagio. Tamalama, la aldeana del “caso índice”. El contagio secundario se daba únicamente entre parientes muy cercanos del primer enfermo, allí se detenía la enfermedad. Lo mismo se observó en Zorzor.

Comenzó a surgir una teoría: probablemente el virus sufría mutaciones al pasar por un portador humano. Tal es, de hecho, el principio en que se basa la producción de vacunas. La virulencia del germen se atenúa al ir pasando por diferentes animales hasta que ya no tiene la potencia suficiente para causar infección, pero sí la capacidad de producir anticuerpos. Aún se sospechaba que la fuente era algún roedor o un murciélago. Los nuevos informes del laboratorio de Atlanta, no obstante, no indicaban la presencia de ningún virus en las ratas ni en los murciélagos de Monath. Paralelamente a estos trabajos se distribuían valiosas raciones de plasma inmune en Ibadán, Jos y Zorzor, previendo otro brote, aunque en cualquier urgencia real serían tristemente inadecuadas.

Tres meses después de aplacarse el terror a la peste en Zorzor aparecieron varios casos de fiebres sospechosas en el Hospital Católico de Panguma, en Sierra Leona, a unos 150 kilómetros de Zorzor. Los pacientes habían acudido con largos intervalos durante muchos meses.

En Atlanta, Tom Monath cablegrafió a Panguma que aquello podría ser fiebre de Lassa, aun cuando no era típico de la enfermedad propagarse tan lentamente. Pero la fiebre de Lassa no parecía tener reglas fijas. El virólogo pidió muestras de suero sanguíneo y trazó un plan de acción ayudado por otros investigadores. En caso de que las pruebas confirmaran la presencia de fiebre de Lassa, se trasladaría por avión al lugar afectado un equipo de médicos y científicos, junto con Casals y Kemp.

Al concluir las pruebas se supo sin lugar a dudas que se trataba del virus de Lassa, y el equipo fue a África. En Panguma descubrieron que se habían registrado 64 casos, con 23 defunciones. El brote parecía más peligroso que los anteriores, pues el contagio no se limitaba al hospital, sino que cundía de un pueblo a otro; en otros hospitales de la región había nuevos casos.

Entre los animales atrapados allí se contaban muchas especies de roedores que los naturales solían cazar en las selvas para comérselos. Aumentaron las sospechas y se hizo un esfuerzo especial para atrapar el mayor número posible de ejemplares.

Se presentaron más casos en Sierra Leona, pero había pasado la crisis y Monath regresó a Atlanta a participar en las complejas pruebas con las que esperaba establecer que determinada especie de rata era el agente trasmisor. Una prueba preliminar había indicado que cierto roedor podría ser el culpable. Tom llevó a cada ejemplar, envuelto en una bolsa de plástico sellado, a la zona de trabajo del laboratorio, a través de un “estanque de inmersión” lleno de cloro diluido. Después, en la cámara de aislamiento de acero y cristal, con las manos metidas en los largos guantes de caucho, siguió el prolongado y tedioso procedimiento del Laboratorio de virus peligrosos. Sin embargo en ninguna de estas investigaciones se obtuvo una prueba decisiva. El virólogo Monath se sintió descorazonado, pero resolvió continuar los experimentos. El laboratorio de virus peligrosos tenía capacidad para trabajar con unos 50 animales por semana, cuando mucho, y aún quedaban centenares por probar. Monath tendría que obrar con criterio selectivo.

Recordó el espantoso caso de Hawa Foray, ama de casa de Sierra Leona. Esta mujer había sufrido un ataque típico de fiebre de Lassa, confirmado por el análisis de sangre y, además, por las células hepáticas obtenidas en la necropsia. Recordó también las ocho ratas silvestres de la especie *Mastomys natalensis* atrapadas en casa de la difunta. Tal roedor era común en África Occidental, pero generalmente sólo habitaba en la selva. Cuando la rata casera, de mayor tamaño y más feroz, abandonaba el lugar, esta especie solía entrar en los pueblos. El investigador resolvió hacer las pruebas en esos animales.



Mastomys natalensis

los pulverizaron en un mortero que contenía cierta solución, inocularon con ésta varias series de cultivos histológicos y aguardaron.

Pronto mostraron los cultivos la invasión profusa de los virus. A pesar de que había una posibilidad de error, los investigadores siguieron trabajando con renovado entusiasmo. Aunque Tom no quería dar crédito a sus pruebas, presentía que por fin habían llegado al término de su larga pesquisa. Burlonamente apostó 10 dólares con uno de sus técnicos a que esas últimas muestras no tendrían el virus de Lassa.

Pero esta vez no se decepcionaron. Las pruebas revelaron inequívocamente que siete de las ocho ratas eran portadoras del virus de Lassa. No quedaba ya ninguna duda de que esa especie era el agente trasmisor. Por fin habían dado con la madriguera del peligroso y maligno puntito que, con su abrigo moteado y erizado de púas, había eludido durante tanto tiempo a los cazadores de virus.

Aún quedaba mucho por hacer, pero al menos ya no darían palos de ciego. Se trataba de mantener a raya en lo sucesivo al roedor trasmisor y de iniciar el largo y complejo procedimiento de preparar una vacuna. Nada de esto sería fácil, por supuesto.

Jordi Casals recibió la noticia del descubrimiento en la Universidad de Yale por un telefonema de Tom Monath, desde Atlanta. Alborozado, el médico de Yale atravesó el pasillo para dar la buena nueva a Sonja Buckley, que en ese momento trabajaba en su mesa del laboratorio. La doctora comentó simplemente: “¡Magnífico!, era de esperar”. Recordó la lucha de Jordi con la muerte y la afanosa labor de ella con los cultivos. No hubo ni champaña ni celebraciones; sólo una profunda sensación de alivio, aunada al deseo de seguir combatiendo cualquier nuevo agente amenazador que surgiera en el mundo de los virus, tal como habían hecho el misterioso y difícil caso de la fiebre de Lassa.



Jordi Casals, Penny y Raphael Adeyemi, 1970

Monath y sus ayudantes tomaron cortes de tejidos,



Penny en el hospital



Penny en Lassa



Penny 1917-2012

CAPÍTULO 10

VIRUS ONCÓGENOS HUMANOS

Durante el desarrollo tumoral la célula adquiere o pierde funciones de control del ciclo celular

Los virus oncógenos transforman las células en sólo un pequeño número de individuos infectados

Las células transformadas poseen un fenotipo característico y continúan proliferando aún en condiciones en que las células normales responderían frenando su reproducción

La mitosis es una decisión que depende de señales recibidas en un momento del ciclo celular

Los oncogenes son “genes buenos” que pueden “portarse mal”. Los retrovirus transformantes agudos llevan consigo oncogenes virales.

De c-onc a v-onc, todos los caminos llevan a Roma y todas las señales confluyen en el núcleo

Algunos retrovirus activan con su inserción oncogenes celulares

Los genes de otros retrovirus interfieren en la expresión de genes celulares

Los mecanismos de transformación celular inducida por virus ADN

Los genes oncosupresores inhiben la proliferación celular. Los virus oncógenos con ADN pueden inactivar a estos genes.

Algunos virus ADN poseen genes homólogos a los celulares activando proteínas de señalización

Durante el desarrollo tumoral la célula adquiere o pierde funciones de control del ciclo celular

El desarrollo tumoral es considerado como un proceso de microevolución, caracterizado por cambios que secuencialmente emancipan a un clon de células somáticas de los mecanismos que regulan su crecimiento. El cáncer es una patología en la cual se han alterado las reglas del comportamiento celular. Las células crecen autónomamente interfiriendo e invadiendo tejidos normales y son el origen de otras células cancerosas. Es así que las características oncógenas adquiridas son heredadas y mantenidas establemente a nivel celular en toda la progenie.

Los cambios genéticos son los responsables de la transformación neoplásica. El daño genético tiene como consecuencia la alteración de los mecanismos que regulan los puntos críticos del ciclo celular. Es-

tos cambios pueden ser de dos tipos: dominantes o recesivos.

Los cambios dominantes son determinados por la alteración de genes esenciales celulares que estimulan la proliferación celular denominados protooncogenes, y en los cuales la célula adquiere una nueva función.

Los cambios recesivos se producen como consecuencia de una pérdida de genes que inhiben la proliferación celular denominados genes oncosupresores o antioncogenes, cuyas alteraciones provocan la pérdida de una función de control celular.

El primer estadio del proceso carcinogénico, la iniciación del tumor, se refiere a la exposición de las células normales a carcinógenos químicos, físicos o infecciosos que causan un daño genético en la célula susceptible, resultando en una activación de protooncogenes o inactivación de genes oncosupreso-

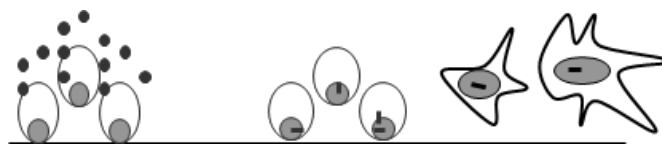
res . La hipótesis que agentes infecciosos estuvieran implicados en la etiología de procesos neoplásicos se inicia en 1842 cuando Rigoni-Stern, basado en la alta incidencia del cáncer de cervix en prostitutas respecto a la observada en religiosas, postulaba la presencia de un agente infeccioso transmitido sexualmente. Variot en 1894 demostró la transmisión de verrugas vulgares inoculando un macerado de las mismas. Ellerman y Bang en 1908, transmiten las celucemias aviarias a partir de extractos de tejidos leucémicos. La demostración por parte de Peyton Rous en 1911, de un agente filtrable, que podía causar sarcomas en pollos, inició un gran interés en los virus como probables agentes etiológicos del cáncer. El interés inicial se desvaneció luego con los años por la falta de evidencias convincentes de un cáncer humano asociado a la actividad viral. La asociación del virus de la hepatitis B con el hepatocarcinoma y el descubrimiento del primer retrovirus humano, iniciaron el resurgimiento de los virus como patógenos del cáncer, marcando el comienzo de una nueva época. En la actualidad se acepta que los virus contribuyen probablemente al desarrollo de un 20% de los cánceres humanos.

Los virus oncógenos transforman las células en sólo un pequeño número de individuos infectados

Los virus tumorales representan un grupo heterogéneo de agentes infecciosos, Estos pertenecen a diferentes familias y están implicados ya sea en tumores en sus huéspedes naturales, como así también, de tumores en huéspedes experimentales. El cáncer humano asociado a virus presenta determinadas características.

1. El tiempo de incubación entre la infección viral y el desarrollo de la neoplasia, es generalmente prolongado. Aunque algunos retrovirus que no infectan humanos constituyen una excepción.
2. El proceso carcinogénico que tiene lugar en un clon celular requiere de múltiples pasos. El fenotipo transformado es adquirido por la célula como el resultado final de estos múltiples cambios genéticos. Sólo un pequeño número de sujetos infectados desarrolla la enfermedad neoplásica (1 en 100 a 100.000). De este modo la prevalencia de la infección es mayor que la incidencia del tumor asociado.
3. La presencia del virus no es suficiente para el desarrollo de la neoplasia. A menudo son necesarios

otros cofactores ambientales o genéticos .
 4. Los virus oncógenos establecen un modelo de infección persistente, en donde las células infectadas no producen partículas completas de virus . La información viral suele permecer en la célula como ácido nucleico, integrado al genoma celular o libre en forma plasmídica. Las células transformadas expresan antígenos que corresponden a oncoproteínas virales asociadas al tumor.



En esta figura (ver patogénesis de las infecciones virales) se esquematiza en el tiempo la historia natural de una infección persistente con integración del ácido nucleico viral al genoma celular. En una primera etapa se produce una infección productiva, luego el ácido nucleico viral se integra al genoma y en la última etapa la célula puede transformarse.

Los virus oncógenos humanos son el virus de la leucemia humana a células T, el virus de la hepatitis C, el virus de la hepatitis B, el virus papiloma humano, el virus Epstein-Barr y el virus herpes humano 8.

VIRUS ONCÓGENOS HUMANOS	TUMORES ASOCIADOS
VIRUS ARN	
Virus de la leucemia humana a células T	Leucemia a células T del adulto, leucemia a células peludas
Virus de la hepatitis C	Hepatocarcinoma
VIRUS ADN	
Virus de la hepatitis B	Hepatocarcinoma
Virus papiloma humano	Cáncer anogenital
Virus Epstein-Barr	Linfoma de Burkitt, carcinoma nasofaríngeo
Virus herpes humano 8	Sarcoma de Kaposi

Las células transformadas poseen un fenotipo característico y continúan proliferando aún en condiciones en que las células normales responderían frenando su reproducción

La célula transformada en modo estable, adquiere determinadas características fenotípicas denominadas. Estas células tiene una morfología diferente, crecen en estratos sobrepuestos, han perdido la inhibición por contacto y tienen un período de vida ilimitado. Estas propiedades de las células oncógenas se denominan fenotipo transformado. La pérdi-

da de las características de crecimiento normales es utilizada como una herramienta importante en los estudios experimentales de células transformadas por virus tumorales. Se provee de este modo, una metodología para detectar y caracterizar el fenotipo transformado de la célula .

Los principales caracteres estudiados en las líneas celulares transformadas son los siguientes:

- (I) La oncogenicidad,
- (II) la densidad de saturación celular,
- (III) la densidad de saturación celular sin factores de crecimiento celular, y
- (IV) el crecimiento en medios de cultivo semisólidos.

1. La oncogenicidad: es la propiedad característica de la célula transformada. Las células transformadas son oncogénicas, es decir han adquirido la característica de inducir neoformaciones. Esta característica se valora como la capacidad de formar tumores al ser inoculadas en un huésped que puede o no ser de la misma especie.

2. La densidad de saturación celular: Los fibroblastos normales en cultivos celulares, cesan de dividirse cuando su población alcanza un tamaño determinado en el cultivo; monocapa confluyente. La densidad de saturación se define como el número máximo de células por unidad de superficie desarrollada en condiciones determinadas de suero, de pH, frecuencia en los cambios de medio de cultivo, etc.. Las células transformadas no inhiben su crecimiento, aún luego de establecido el contacto célula a célula. Su densidad de saturación supera diez veces o más aquella de su contraparte normal.

3. La densidad de saturación celular sin factores de crecimiento celular: Las células normales son incapaces de entrar en el ciclo celular sin los factores de crecimiento presentes en el suero fetal bovino. La densidad de saturación celular estudiada en medios de cultivo con baja o nula concentración de suero fetal bovino, es un parámetro útil que caracteriza el crecimiento de la célula transformada aún bajo las citadas condiciones.

4. El crecimiento en medios de cultivo semisólidos: Los fibroblastos normales necesitan para multiplicarse estar adheridos a un sustrato sólido. En contraste, las células transformadas pueden crecer formando colonias sin estar adheridas a un sustrato sólido, es decir que crecen en medios de cultivo

semisólidos (con agar o metilcelulosa). Esta propiedad, junto a la oncogenicidad, son las más importantes del fenotipo transformado.

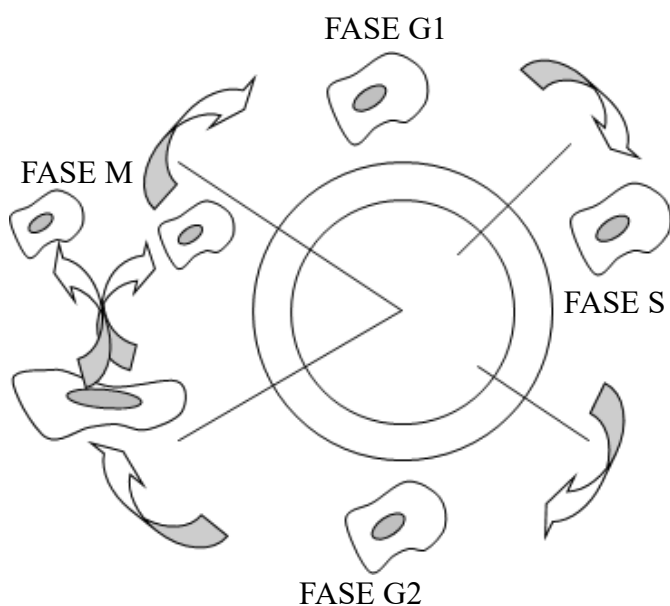
La mitosis es una decisión que depende de señales recibidas en un momento del ciclo celular

Las células que se multiplican lo hacen a través de una secuencia regular y repetitiva de momentos controlados. El momento de la división celular es siempre precedido por la duplicación de la información genética en la célula parental así como también de una adecuada reserva de organelas para las células de la progenie.

Una célula que está por multiplicarse entra en la fase G1 (del inglés gap: unión), en donde aumenta de tamaño, sus macromoléculas se multiplican así como también los ribosomas, mitocondrias y centriolos. Luego se inicia la fase S (de síntesis de ácidos nucleicos), en el cual se duplican el ADN celular y sus histonas. Después comienza la fase G2 con el montaje de todas las estructuras necesarias para la división celular tales como la condensación del ADN en los cromosomas y el ensamble de estructuras especiales tales como el huso mitótico. Finalmente en la fase M (de mitosis) ocurre la división del núcleo y del citoplasma. La duración de cada una de estas fases es muy variable y está reflejada por diferencias en las fases G. En el otro extremo se encuentran células que “han escapado” de este ciclo celular y se encuentran en un estado de reposo denominado G0. En algún momento del ciclo celular la célula se encuentra en una encrucijada, dividirse o no. Este punto de encrucijada está ubicado en un punto tardío de la fase G1 y es conocido como punto R (restricción) del ciclo. El pasaje de la célula al camino de la división celular depende de las señales que recibe en esta instancia. Uno de los sistemas de control del ciclo celular está basado en las ciclinas y en las proteínas quinasas dependientes de ciclinas (Cdk). Las ciclinas son proteínas que se unen a las Cdk formando el complejo Cdk-ciclina que es la forma activa de la Cdk. Existen dos clases de ciclinas: las ciclinas de G1 y las ciclinas mitóticas. Las Cdk-ciclinas actúan activando por fosforilación otras proteínas. El ensamblado de las Cdk con las ciclinas y su actividad es un proceso cíclico que dirige las distintas fases del ciclo celular.

Es importante recordar que la activación y represión de genes se produce en forma cíclica durante el ci-

clo celular fundamentalmente a través de factores de transcripción que al unirse al ADN aumentan la expresión de determinadas proteínas.

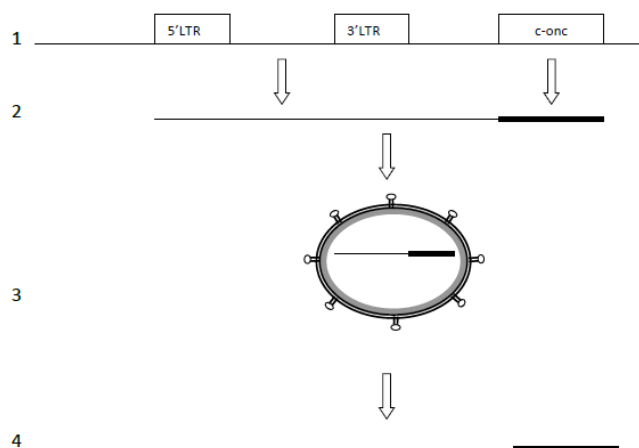


Los oncogenes son “genes buenos” que pueden “portarse mal”. Los retrovirus transformantes agudos llevan consigo oncogenes virales.

Los oncogenes son genes celulares (protooncogenes) cuya expresión contribuye a que la célula entre en Fase S y finalmente se multiplique. Cuando están mutados o expresados inapropiadamente (c-onc) contribuyen a la formación del cáncer. El origen de los oncogenes fue establecido a finales de la década de los 70 por Bishop MJ y Varmus H cuando en un experimento logran que el ADN del oncogen viral (v-onc) del sarcoma de Rous (v-src), un virus que produce tumores en pollos, hibride con el ADN celular de varias especies animales. Con sorpresa demostraron que la hibridación se produjo por la presencia del gen homólogo celular, el c-src, en células normales de pollos, peces, mamíferos y Drosophila. En 1980 los mismos investigadores demostraron que los oncogenes retrovirales, como el v-src, eran genes celulares modificados, capturados por el virus. Por cada uno de los más de 60 v-onc se ha identificado su correspondiente gen celular normal, que corresponde a un protooncogen. En la concepción actual el término oncogen es aplicado a cualquier elemento genético asociado con la inducción del tumor, incluyendo algunos genes celulares que no tienen homólogos virales o bien genes virales sin sus homólogos celulares.

Los retrovirus pueden actuar como “ mensajeros in-

tercelulares”, intercambiando material genético entre distintas células de forma similar a trasposones. Los protooncogenes celulares pueden ser capturados por el retrovirus y transmitidos a otra célula por la infección viral, tal como se observa en la figura siguiente. El proceso comienza cuando un ADN retroviral se inserta cerca de un protooncogen celular, activándolo transcripcionalmente. El ARNm transcrito, producto de la activación, es un heterodímero, pues lleva ahora la información correspondiente al genoma viral y también la del protooncogen celular. Este ARN es empaquetado en nueva partícula viral. En la próxima infección viral este heterodímero (ARN celular y ARN viral) es transcrito por la transcriptasa inversa a ADN. Es así que el protooncogen puede insertarse en el medio de secuencias virales. Como consecuencia de este proceso puede producirse una deleción o pérdida de secuencias virales que convierten al retrovirus en una partícula defectiva incapaz de cumplir su ciclo de multiplicación en forma completa. La transcripción inversa es un elemento clave para la captura del oncogen celular. La transcriptasa inversa es una enzima que durante la transcripción produce numerosos errores y así es que sus transcritos pueden tener deleciones o mutaciones. Estas deleciones o mutaciones producidas en el ahora v-onc pueden aumentar su expresión volviéndolo hiperactivo, o bien hacerlo independiente del control celular o incluso aumentar la vida media de su proteína. Este mecanismo es utilizado por los virus transformantes agudos tales como el virus del sarcoma de Rous (v-src), el virus del sarcoma simiano (v-sis), el virus de la leucemia murina de Ableson (v-abl), entre muchos otros. Estos virus son defectivos y requieren de un virus “helper” para poder replicarse.



Transducción de oncogenes celulares producida por un retrovirus. (1) El proceso comienza cuando un DNA retroviral (5'LTR-----3'LTR) se inserta cerca de un protooncogen celular (c-onc) y lo activa transcripcionalmente. (2) El ARNm transcrito lleva la información correspondiente al genoma viral y al c-onc. (3) Este transcrito es empaquetado en una partícula de retrovirus. (4) En un nuevo huésped, el ARN viral y el ARN celular son transcritos a ADN, incorporando el c-onc en el medio de secuencias celulares.

De c-onc a v-onc, todos los caminos llevan a Roma y todas las señales confluyen en el núcleo

Los oncogenes virales pueden ejercer su función sobre el ciclo celular interviniendo en la transducción de señales al núcleo celular, a través por ejemplo de su actividad como quinasas de tirosina, quinasas de serina, proteínas G u otros factores de transcripción. Como ejemplo, unos 30 retrovirus transformantes agudos llevan el oncogen v-erbB, secuestrado del oncogen c-erbB que codifica para un factor de crecimiento con actividad de quinasa de tirosina (virus de la leucemia eritoblástica aviaria, v-erbB9134 y v-erbB 5005, entre otros).

C-ras codifica para una proteína con actividad de enzima GTPasa. El virus del sarcoma de Harvey y el virus del sarcoma de Kirsten llevan en su genoma el v-ras.

Algunos retrovirus activan con su inserción oncogenes celulares

Algunos retrovirus inducen cáncer al integrar su ADN cerca de un c-onc del huésped produciendo un cambio en su expresión. Este cambio de expresión se produce porque el ADN retroviral lleva dos extremos LTR. Estos extremos LTR contienen un promotor, un amplificador y una señal de poli A usadas para una eficiente expresión del ARN viral. Cuando estas secuencias se yuxtaponen a genes celulares aumentan significativamente su expresión. Estas características convierte al ADN retroviral en un potente mutágeno cuando se inserta en el genoma celular.

Por ejemplo el virus de la leucosis aviaria produce una variedad de neoplasias en pollos según el sitio de su integración y el c-onc que activa con su inserción. Si activa a c-erbB produce eritroleucemia, c-nov produce nefroblastoma, c-myc produce linfoma de células B. Estos retrovirus no llevan un v-onc por lo que son virus completos. Estos son

virus transformantes lentos.

Es también posible que el provirus produzca una inactivación de genes oncosupresores, como en el ejemplo descrito del virus de la leucemia murina de Abelson y su capacidad de inactivar la p53.

Los genes de otros retrovirus interfieren en la expresión de genes celulares

Los retrovirus que producen cáncer en humanos son el HTLV 1y 2, que luego de un tiempo de latencia prolongado pueden producir una proliferación monoclonal de linfocitos T. Son virus cuyos oncogenes modifican la expresión de genes celulares sin integrarse cerca de un c-onc. Los oncogenes de estos retrovirus son de origen viral, es decir que no provienen de la captura de un c-onc. Estos retrovirus son virus completos con capacidad replicativa con un período de latencia prolongado y una eficiencia de formación tumoral baja (menor al 1%). El HTLV tiene en su genoma el gen tax que cumple funciones como regulador de la replicación viral. Este gen tax es un activador del LTR viral así como de genes celulares. Tax puede alterar la expresión de numerosos genes celulares tales como los genes de IL-2, IL-3, IL-4, IL5, IL 6, factores de crecimiento (TNF, c-sis) y de c-onc tales como c-jun, c-fos, c-myc y c-sis, entre otros.

Los mecanismos de transformación celular inducida por virus ADN

Los desoxirribovirus oncógenos constituyen un grupo viral heterogéneo, pertenecientes a diferentes familias: Poxviridae, Papovaviridae, Adenoviridae, Herpesviridae y Hepadnaviridae. Estos agentes infecciosos inducen la formación de tumores sólidos benignos o malignos en los vertebrados. La infección en su huésped natural es generalmente autolimitada o aún asintomática. Algunos están implicados en la oncogénesis humana como cofactores en asociación con otros oncogenes o carcinógenos. Estos virus a ADN tienen la capacidad de transformar en forma parcial o total células normales en cultivo. Algunos de ellos participan en la etiología de manifestaciones tumorales en su huésped natural (Poxvirus, papilomavirus, herpesvirus y hepadnavirus), mientras otros son oncógenos solamente en condiciones ex-

perimentales y en animales diferentes a su huésped natural (poliomavirus, adenovirus). Es así que muchos de ellos son utilizados casi exclusivamente en modelos experimentales de transformación “in vitro”, para el estudio de los mecanismos biológicos y moleculares de la conversión neoplásica.

El genoma de los virus oncogénos a ADN está típicamente compuesto por genes de dos categorías:

- 1- Genes que codifican para las proteínas estructurales
- 2- Genes que codifican para proteínas reguladoras de la expresión del genoma viral y celular.

En el último grupo se encuentran los genes transformantes u oncogenes, estos son de origen viral y esenciales para la replicación del virus. Como verdaderos genes virales no tienen homólogos celulares.

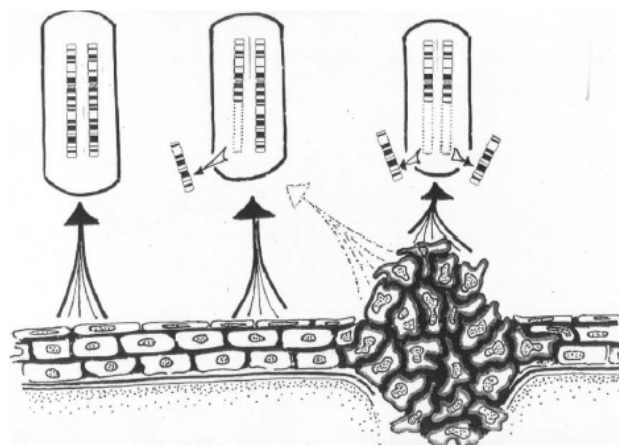
Los virus a ADN se relacionan con el huésped de dos modos diferentes, según este último permita un ciclo viral replicativo completo o no. En el primer caso, la infección es productiva, el resultado final es la lisis celular y la presencia de partículas virales libres. Cuando el huésped no permite la replicación viral, la infección es no productiva, en este caso el genoma viral puede integrarse al genoma celular o permanecer en forma episomal y la célula puede transformarse.

Las proteínas transformantes son multifuncionales y su actividad oncogénica depende de su capacidad de interactuar con las proteínas o el genoma de la célula huésped.

Los genes oncosupresores inhiben la proliferación celular. Los virus oncogénos con ADN pueden inactivar a estos genes.

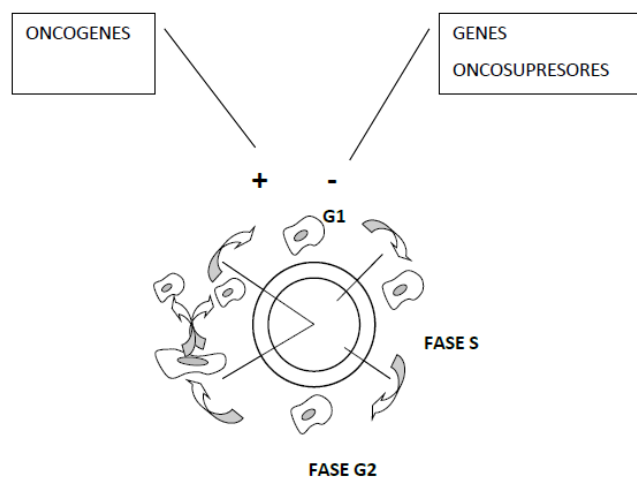
Los genes oncosupresores son genes cuya inactivación es requerida para la transformación maligna. Estos genes inhiben la proliferación celular y sus alteraciones provocan una pérdida de la función de control del ciclo de multiplicación celular. La mayor parte de los tumores humanos está asociado a deleciones cromosómicas específicas. La alteración de estos genes se manifiesta como un carácter recesivo, y el fenotipo neoplásico aparece cuando se altera la función en los dos alelos. En el estado de heterocigota, cuando uno de los dos alelos normales está conservado, la función es mantenida y el fenotipo celular es normal. La neoplasia aparece cuando se

inactiva también el segundo alelo y se instaura una pérdida completa de la función.



Los principales datos a favor de la existencia de genes oncosupresores se obtuvieron tanto de estudios experimentales “in vitro” como de estudios de neoplasias en humanos. En los trabajos experimentales la fusión entre células normales y malignas condujo a la supresión del fenotipo tumorigénico en todos los híbridos que mantuvieron un complemento cromosómico relativamente completo. La transferencia de cromosomas específicos mediante técnicas de fusión microcelular a células provenientes de tumores sólidos ha comprobado la reversión del fenotipo transformado en algunos sistemas experimentales. En el estudio de neoplasias el análisis citogenético de leucemias y tumores sólidos ha demostrado la pérdida o alteración de regiones específicas cromosómicas.

Como se observa en la siguiente figura, los oncogenes estimulan la división celular mientras que los genes oncosupresores la inhiben.



El tumor de Wilms y el retinoblastoma son dos evidencias muy conocidas de pérdida de genes y aparición de neoplasias. Las formas hereditarias o esporádicas se deben a eventos mutacionales hereditarios o adquiridos, en donde se han eliminado los dos alelos del gen oncosupresor. En el retinoblastoma el gen implicado se encuentra en la región cromosómica 13q14 en donde se encuentra el gen Rb1, que codifica para una fosfoproteína con capacidad de unirse al ADN celular. La proteína se denomina pRb y participa en la regulación del ciclo celular. La pRb es el primer miembro de una familia relacionada de proteínas oncosupresores, que contiene a la p105, p107 y p130. La p105Rb activa es encontrada bajo la forma no fosforilada en las fases G0 y G1 del ciclo celular. La forma activa secuestra a los factores de transcripción E2F-1, E2F-2 y E2F-3, los cuales controlan la transcripción de genes que regulan el ciclo celular tales como c-myc, B-mib y cdc2, entre otros (ver la figura siguiente). Posteriormente comienza a producirse su fosforilación por el complejo quinasas dependientes de ciclinas y se inactiva, lo que permitiría a la célula entrar en la fase S e iniciar la duplicación del ADN celular. La pRb se encuentra expresada en casi todas las células normales del organismo humano.

Las proteínas E7 de HPV, E1A de adenovirus y el antígeno T de SV40 se unen a la forma no fosforilada de la pRb e impiden su asociación con el complejo E2F. Las oncoproteínas virales que tienen como blanco esta proteína oncosupresora llevan a la célula que está en reposo a entrar a la fase S.

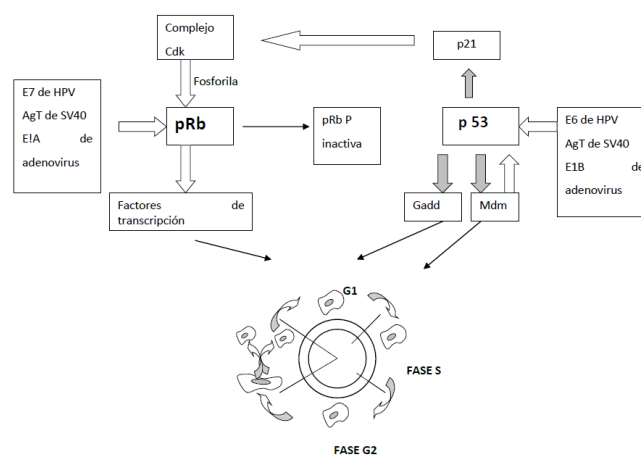
La p53, es otra proteína codificada por el gen oncosupresor ubicado en el locus 17p13.3, y tiene particular importancia en los mecanismos de reparación del ADN. Es considerada la proteína “guardián del genoma” y su pérdida o inactivación produce inestabilidad cromosómica. La p53 controla la progresión del ciclo celular permitiendo la reparación del ADN dañado. Es un factor de transcripción que activa diversos genes y sus productos, tales como el p21, mdm2 y gadd45 (ver la figura siguiente). La proteína p21, cuya expresión es activada por la p53, es una inhibidora de las ciclinas celulares. El gen gadd45 es otro producto génico activado por la p53, su nivel de transcripción se incrementa en respuesta al daño celular e inhibe la replicación celular. El gen mdm2, es un oncogen, promueve la entrada a la célula en la Fase S y degrada a la p53. La p53 activaría el oncogen mdm-2 lo que promueve su de-

gradación y la entrada de la célula en fase S. Existe una regulación entre la pRb y la p53, un mecanismo probable es que la pRb se une al gen mdm2 y promueve la degradación de la p53.

Algunas oncoproteínas virales tienen como mecanismo de oncogénesis la inactivación de la p53. La inactivación de la p53 es producida por diferentes mecanismos. En uno de ellos la proteína E6 de HPV se une a la proteína ligadora de ubiquitina para su posterior degradación proteica. En estas células se produce una falta de la p53. En contraste el AgT de SV40 se une a la p53 y la inactiva en sus sitios activos, produciendo en la célula infectada su “secuestro”. Finalmente la proteína E1B de adenovirus se une a sitios críticos de la p53, sin embargo esta unión convierte a la p53 en una proteína que inhibe la transcripción de la p21 y del gadd45.

Algunos virus ADN poseen genes homólogos a los celulares activando proteínas de señalización

El virus herpes humano 8, virus asociado al sarcoma de Kaposi, contiene en su genoma genes homólogos a los celulares. Estos genes codifican para proteínas que activan caminos de señalización intracelular. Entre ellos el HHV-8 posee genes que codifican para receptores de quimiocinas, cuya expresión activa mecanismos de señalización dependientes de GMPc. Lo que es más el HHV-8 también posee genes homólogos a las ciclinas celulares.



Bibliografía

Capítulo 1

- Simbiosis entre aves y bacterias. Propiedades y modo de adquisición de la microbiota intestinal de críalos y urracas, y de la existente en la glándula uropigial de abubillas [WWW Document], n.d. URL https://www.researchgate.net/publication/46590318_Simbiosis_entre_aves_y_bacterias_Propiedades_y_modo_de_adquisicion_de_la_microbiota_intestinal_de_crialos_y_urracas_y_de_la_existente_en_la_glandula_uropigial_de_abubillas (accessed 5.4.19).
- Acevedo Díaz, J.A., García-Carmona, A., Aragón, M. del M., 2015. Un caso de Historia de la Ciencia para aprender Naturaleza de la Ciencia: Semmelweis y la fiebre puerperal. Revista Eureka sobre Enseñanza y Divulgación de las Ciencias 13, 408-422–422. <https://doi.org/10.2526/921>
- Ackermann, H.-W., 2011. Ruska H. Visualization of bacteriophage lysis in the hypermicroscope. Naturwissenschaften 1940; 28:45-6. Bacteriophage 1, 183–185. <https://doi.org/10.4161/bact.1.4.17624>
- Ballester Añón, R., 2008. Entre la metáfora y la realidad: Discapacidad e identidad en la historia de la poliomielitis. Dynamis 28, 419–425.
- Carol, B. (ed), Nájera, E. (ed), Llopis, A. (ed), Terris, M. (ed), 1988. El desafío de la Epidemiología: problemas y lecturas seleccionadas. The Challenge of Epidemiology: Issues and Selected Readings.
- Castiglioni A. Historia de la Medicina (1ª Edición de 1941, Salvat)
- Cortázar - Historias de cronopios y de famas.pdf, n.d.
- Edwards, G.A., Ruska, H., de Harven, É., 1958. Electron Microscopy of Peripheral Nerves and Neuromuscular Junctions in the Wasp Leg. J Biophys Biochem Cytol 4, 107–114.
- Ferreyra, L., Giordano, M., Martinez, L., Isa, M.B., Barril, P., Masachessi, G., Grutadauria, S., Pavan, J., Nates, S., 2010. A novel human adenovirus hexon protein of species D found in an AIDS patient. Arch. Virol. 155, 27–35. <https://doi.org/10.1007/s00705-009-0539-x>

- Giordano, M.O., Paván, J.V., Martínez, L.C., Isa, M.B., Ferreyra, L.J., Nates, S.V., 2000. [Astrovirus constellation: emerging agents in acute gastroenteritis]. *Medicina (B Aires)* 60, 614.
- Gordon, S., 2016a. Elie Metchnikoff, the Man and the Myth. *J Innate Immun* 8, 223–227. <https://doi.org/10.1159/000443331>
- Gordon, S., 2016b. Phagocytosis: An Immunobiologic Process. *Immunity* 44, 463–475. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2016.02.026>
- Hirsch, J.G., 1959. Immunity to infectious diseases: review of some concepts of Metchnikoff. *Bacteriol Rev* 23, 48–60.
- https://commons.wikimedia.org/wiki/Main_Page
- Iommi Echeverría, V., 2010. Girolamo Fracastoro y la invención de la sífilis. *História, Ciências, Saúde-Manguinhos* 17, 877–884. <https://doi.org/10.1590/S0104-59702010000400002>
- ICTV. https://talk.ictvonline.org/ictv-reports/ictv_online_report
- Liu, E.B., Ferreyra, L., Fischer, S.L., Pavan, J.V., Nates, S.V., Hudson, N.R., Tirado, D., Dyer, D.W., Chodosh, J., Seto, D., Jones, M.S., 2011. Genetic analysis of a novel human adenovirus with a serologically unique hexon and a recombinant fiber gene. *PLoS ONE* 6, e24491. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0024491>
- Martínez, L.C., Giordano, M.O., Isa, M.B., Alvarado, L.F., Paván, J.V., Rinaldi, D., Nates, S.V., 2003. Molecular diversity of partial-length genomic segment 2 of human picobirnavirus. *Intervirology* 46, 207–213. <https://doi.org/10.1159/000072429>
- Moore, D.H., Ruska, H., 1957. THE FINE STRUCTURE OF CAPILLARIES AND SMALL ARTERIES. *J Biophys Biochem Cytol* 3, 457–462.
- Nates S, Pavan J. *Los virus, biología de la entrevida. Editorial Triunfar Año 2000 ISBN 987-9449-70-3.*
- Pasolli, E., Asnicar, F., Manara, S., Zolfo, M., Karcher, N., Armanini, F., Beghini, F., Manghi, P., Tett, A., Ghensi, P., Collado, M.C., Rice, B.L., DuLong, C., Morgan, X.C., Golden, C.D., Quince, C., Huttenhower, C., Segata, N., 2019. Extensive Unexplored Human Microbiome Diversity Revealed by Over 150,000 Genomes from Metagenomes Spanning Age, Geography, and Lifestyle. *Cell* 176, 649–662.e20. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2019.01.001>
- Pavan J, Cannistraci R, Giayetto V, González S, Littvik A, López T, Márquez E, Peirotti G, Nates S, Rodríguez P, Biganzoli P y Pavan J *Diagnóstico microbiológico de bacterias y virus. Aprendizaje basado en problemas y estudio de casos. . Año 2016*
- Sabin, A.B., 1932. EXPERIMENTS ON THE PURIFICATION AND CONCENTRATION OF THE VIRUS OF POLIOMYELITIS.

J. Exp. Med. 56, 307–317.

- Waterson AP, Wilkinson L. An introduction to the history of virology. Cambridge University Press, Bentley House, 200 Euston Road, London NW1 2DB1978.

Capítulo 2

- Aguirre, B.P., Masachessi, G., Ferreyra, L.J., Biganzoli, P., Grumelli, Y., Panero, M.D., Wassaf, M.M., Pisano, M.B., Welter, A., Mangeaud, A., Ré, V., Nates, S.V., Pavan, J.V., 2019. Searching variables to assess recreational water quality: the presence of infectious human enterovirus and its correlation with the main variables of water pollution by multivariate statistical approach in Córdoba, Argentina. *Environ Sci Pollut Res Int* 26, 6586–6601. <https://doi.org/10.1007/s11356-019-04124-2>
- Barril, P., Martínez, L., Giordano, M., Masachessi, G., Isa, M., Pavan, J., Glikmann, G., Nates, S., 2013. Genetic and antigenic evolution profiles of G1 rotaviruses in Córdoba, Argentina, during a 27-year period (1980-2006). *J. Med. Virol.* 85, 363–369. <https://doi.org/10.1002/jmv.23462>
- Barril, P.A., Fumian, T.M., Prez, V.E., Gil, P.I., Martínez, L.C., Giordano, M.O., Masachessi, G., Isa, M.B., Ferreyra, L.J., Ré, V.E., Miagostovich, M., Pavan, J.V., Nates, S.V., 2015. Rotavirus seasonality in urban sewage from Argentina: effect of meteorological variables on the viral load and the genetic diversity. *Environ. Res.* 138, 409–415. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2015.03.004>
- El mosquito hipotéticamente considerado como agente de transmisión de la fiebre amarilla [WWW Document], n.d. URL http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-34662011000500004 (accessed 5.4.19).
- Finlay JC (1833-1915): entreprises, M.C. géolocalisation de véhicules particuliers et, n.d. [WWW Document]. *Revista Galenus*. URL <http://www.galenusrevista.com/?Carlos-Juan-Finlay-1833-1915> (accessed 5.4.19).
- Masachessi, G., Martínez, L.C., Ganesh, B., Giordano, M.O., Barril, P.A., Isa, M.B., Ibars, A., Pavan, J.V., Nates, S.V., 2012. Establishment and maintenance of persistent infection by picobirnavirus in greater rhea (*Rhea Americana*). *Arch. Virol.* 157, 2075–2082. <https://doi.org/10.1007/s00705-012-1400-1>

- Masachessi, G., Pisano, M.B., Prez, V.E., Martínez, L.C., Michelena, J.F., Martínez-Wassaf, M., Giordano, M.O., Isa, M.B., Pavan, J.V., Welter, A., Nates, S.V., Ré, V., 2018a. Enteric Viruses in Surface Waters from Argentina: Molecular and Viable-Virus Detection. *Appl. Environ. Microbiol.* 84. <https://doi.org/10.1128/AEM.02327-17>
- Masachessi, G., Pisano, M.B., Prez, V.E., Martínez, L.C., Michelena, J.F., Martínez-Wassaf, M., Giordano, M.O., Isa, M.B., Pavan, J.V., Welter, A., Nates, S.V., Ré, V., 2018b. Enteric Viruses in Surface Waters from Argentina: Molecular and Viable-Virus Detection. *Appl. Environ. Microbiol.* 84. <https://doi.org/10.1128/AEM.02327-17>
- Nates S, Pavan J. *Los virus, biología de la entrevida. Editorial Triunfar Año 2000 ISBN 987-9449-70-3.*
- Oparin, A. I. Proiskhozhdenie zhizni (en ruso). Moscú: Izd. Moskovskii Rabochii, 1924.
- Oparin, A. I. Voznikovenie zhizni na Zemle (en ruso). Moscú: Izd. Akad. Nauk SSSR, 1936.
- Prez, V.E., Gil, P.I., Temprana, C.F., Cuadrado, P.R., Martínez, L.C., Giordano, M.O., Masachessi, G., Isa, M.B., Ré, V.E., Paván, J.V., Nates, S.V., Barril, P.A., 2015. Quantification of human infection risk caused by rotavirus in surface waters from Córdoba, Argentina. *Sci. Total Environ.* 538, 220–229. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.08.041>

Capítulo 3

- Cann AJ. Principles of Molecular Virology. Academic Press 2012.
- Comas-Garcia, M., 2019. Packaging of Genomic RNA in Positive-Sense Single-Stranded RNA Viruses: A Complex Story. *Viruses* 11. <https://doi.org/10.3390/v11030253>
- Duarte, L.F., Farías, M.A., Álvarez, D.M., Bueno, S.M., Riedel, C.A., González, P.A., 2019. Herpes Simplex Virus Type 1 Infection of the Central Nervous System: Insights Into Proposed Interrelationships With Neurodegenerative Disorders. *Front Cell Neurosci* 13, 46. <https://doi.org/10.3389/fncel.2019.00046>
- Eisenreich, W., Rudel, T., Heesemann, J., Goebel, W., 2019. How Viral and Intracellular Bacterial Pathogens Reprogram the Metabolism of Host Cells to Allow Their Intracellular Replication. *Front Cell Infect Microbiol* 9, 42. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2019.00042>
- Elbahesh, H., Gerlach, T., Saletti, G., Rimmelzwaan, G.F., 2019. Response Modifiers: Tweaking the Immune Response Against Influenza A Virus. *Front Immunol* 10, 809. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.00809>
- Fenner and White's. Medical Virology. Burrell CJ, Howard CD, Murphy FA. Academic Press. 2017.
- Fields Virology. Knipe DM, Howley PM. Lippincott Williams & Wilkins. 2013.
- Lee, J.K., Shin, O.S., 2019. Advances in Zika Virus–Host Cell Interaction: Current Knowledge and Future Perspectives. *Int J Mol Sci* 20. <https://doi.org/10.3390/ijms20051101>
- Liu, E.B., Ferreyra, L., Fischer, S.L., Pavan, J.V., Nates, S.V., Hudson, N.R., Tirado, D., Dyer, D.W., Chodosh, J., Seto, D., Jones, M.S., 2011. Genetic analysis of a novel human adenovirus with a serologically unique hexon and a recombinant fiber gene. *PLoS ONE* 6, e24491. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0024491>
- Martínez, L.C., Giordano, M.O., Isa, M.B., Alvarado, L.F., Paván, J.V., Rinaldi, D., Nates, S.V., 2003. Molecular diversity of partial-length genomic segment 2 of human picobirnavirus. *Intervirology* 46, 207–213. <https://doi.org/10.1159/000072429>

- McAuley, J.L., Gilbertson, B.P., Trifkovic, S., Brown, L.E., McKimm-Breschkin, J.L., 2019. Influenza Virus Neuraminidase Structure and Functions. *Front Microbiol* 10, 39. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.00039>
- Meineke, R., Rimmelzwaan, G.F., Elbahesh, H., 2019. Influenza Virus Infections and Cellular Kinases. *Viruses* 11. <https://doi.org/10.3390/v11020171>
- Nates S, Pavan J. *Los virus, biología de la entrevista. Editorial Triunfar Año 2000 ISBN 987-9449-70-3.*
- Tenorio, R., Fernández de Castro, I., Knowlton, J.J., Zamora, P.F., Sutherland, D.M., Risco, C., Dermody, T.S., 2019. Function, Architecture, and Biogenesis of Reovirus Replication Neoorganelles. *Viruses* 11. <https://doi.org/10.3390/v11030288>

Capítulo 4

- Alenquer, M., Amorim, M.J., 2015. Exosome Biogenesis, Regulation, and Function in Viral Infection. *Viruses* 7, 5066–5083. <https://doi.org/10.3390/v7092862>
- Bayliss, R.J., Piguet, V., 2018. Masters of manipulation: Viral modulation of the immunological synapse. *Cell. Microbiol.* 20, e12944. <https://doi.org/10.1111/cmi.12944>
- Carricart, S.E., Ethel, C.S., Bustos, D., Dolores, B., Biganzoli, P., Patricia, B., Nates, S.E., Viviana, N.S., Pavan, J.V., Victorio, P.J., 2004. Isotype immune response of IgG antibodies at the persistence and reactivation stages of human herpes virus 6 infection. *J. Clin. Virol.* 31, 266–269. <https://doi.org/10.1016/j.jcv.2004.05.013>
- Chigbu, D.I., Loonawat, R., Sehgal, M., Patel, D., Jain, P., 2019. Hepatitis C Virus Infection: Host–Virus Interaction and Mechanisms of Viral Persistence. *Cells* 8. <https://doi.org/10.3390/cells8040376>
- Doherty, P.C., Zinkernagel, R.M., 1974. T-cell-mediated immunopathology in viral infections. *Transplant Rev* 19, 89–120.
- Enserink, M., 2005. Avian influenza. Keeping track of viral air traffic. *Science* 310, 428. <https://doi.org/10.1126/science.310.5747.428>
- Fenner and White's. *Medical Virology*. Burrell CJ, Howard CD, Murphy FA. Academic Press. 2017.
- *Fields Virology*. Knipe DM, Howley PM. Lippincott Williams & Wilkins. 2013.
- Flather, D., Nguyen, J.H.C., Semler, B.L., Gershon, P.D., 2018. Exploitation of nuclear functions by human rhinovirus, a cytoplasmic RNA virus. *PLoS Pathog.* 14, e1007277. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1007277>
- Ganusov, V.V., Lukacher, A.E., Byers, A.M., 2010. Persistence of viral infection despite similar killing efficacy of antiviral CD8(+) T cells during acute and chronic phases of infection. *Virology* 405, 193–200. <https://doi.org/10.1016/j.virol.2010.05.029>
- Goodwin, C.M., Ciesla, J.H., Munger, J., 2018. Who's Driving? Human Cytomegalovirus, Interferon, and NFκB Signaling. *Viruses* 10. <https://doi.org/10.3390/v10090447>

- Gualandi, F., Morelli, C., Pavan, J.V., Rimessi, P., Sensi, A., Bonfatti, A., Gruppioni, R., Possati, L., Stanbridge, E.J., Barbanti-Brodano, G., 1994. Induction of senescence and control of tumorigenicity in BK virus transformed mouse cells by human chromosome 6. *Genes Chromosomes Cancer* 10, 77–84.
- Hangartner, L., Zinkernagel, R.M., Hengartner, H., 2006. Antiviral antibody responses: the two extremes of a wide spectrum. *Nat. Rev. Immunol.* 6, 231–243. <https://doi.org/10.1038/nri1783>
- Hou, W., Kang, H.S., Kim, B.S., 2009. Th17 cells enhance viral persistence and inhibit T cell cytotoxicity in a model of chronic virus infection. *J. Exp. Med.* 206, 313–328. <https://doi.org/10.1084/jem.20082030>
- Ikonen, N., Savolainen-Kopra, C., Enstone, J.E., Kulmala, I., Pasanen, P., Salmela, A., Salo, S., Nguyen-Van-Tam, J.S., Ruutu, P., PANDHUB consortium, 2018. Deposition of respiratory virus pathogens on frequently touched surfaces at airports. *BMC Infect. Dis.* 18, 437. <https://doi.org/10.1186/s12879-018-3150-5>
- Kauder, S.E., Racaniello, V.R., 2004. Poliovirus tropism and attenuation are determined after internal ribosome entry. *J. Clin. Invest.* 113, 1743–1753. <https://doi.org/10.1172/JCI21323>
- Lulla, V., Dinan, A.M., Hosmillo, M., Chaudhry, Y., Sherry, L., Irigoyen, N., Nayak, K.M., Stonehouse, N.J., Zilbauer, M., Goodfellow, I., Firth, A.E., 2019. An upstream protein-coding region in enteroviruses modulates virus infection in gut epithelial cells. *Nat Microbiol* 4, 280–292. <https://doi.org/10.1038/s41564-018-0297-1>
- Lusso, P., 2006. HHV-6 and the immune system: mechanisms of immunomodulation and viral escape. *J. Clin. Virol.* 37 Suppl 1, S4-10. [https://doi.org/10.1016/S1386-6532\(06\)70004-X](https://doi.org/10.1016/S1386-6532(06)70004-X)
- McDermott, B.M., Rux, A.H., Eisenberg, R.J., Cohen, G.H., Racaniello, V.R., 2000. Two distinct binding affinities of poliovirus for its cellular receptor. *J. Biol. Chem.* 275, 23089–23096. <https://doi.org/10.1074/jbc.M002146200>
- Nates S, Pavan J. *Los virus, biología de la entrevista. Editorial Triunfar Año 2000 ISBN 987-9449-70-3.*
- Nathanson, N., 2008. The pathogenesis of poliomyelitis: what we don't know. *Adv. Virus Res.* 71, 1–50. [https://doi.org/10.1016/S0065-3527\(08\)00001-8](https://doi.org/10.1016/S0065-3527(08)00001-8)
- Nathanson N. *Viral Pathogenesis* Lippincott-Raven. 1997
- Nikitina, E., Larionova, I., Choinzonov, E., Kzhyshkowska, J., 2018. Monocytes and Macrophages as Viral Targets and Reservoirs. *Int J Mol Sci* 19. <https://doi.org/10.3390/ijms19092821>
- Pavan, J.V., Coranti, M.V., Sileoni, S., 1995. [Human oncogenic viruses. New findings]. *Rev Fac Cien Med Univ Nac Cordoba* 53, 37–44.

- Posavad, C.M., Zhao, L., Mueller, D.E., Stevens, C.E., Huang, M.L., Wald, A., Corey, L., 2015. Persistence of mucosal T-cell responses to herpes simplex virus type 2 in the female genital tract. *Mucosal Immunol* 8, 115–126. <https://doi.org/10.1038/mi.2014.47>
- Racaniello, V., 2011. Virology. An exit strategy for measles virus. *Science* 334, 1650–1651. <https://doi.org/10.1126/science.1217378>
- Racaniello, V.R., 1992. Poliovirus vaccines. *Biotechnology* 20, 205–222.
- Racaniello, V.R., 1996. Early events in poliovirus infection: virus-receptor interactions. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 93, 11378–11381. <https://doi.org/10.1073/pnas.93.21.11378>
- Racaniello, V.R., Ren, R., 1996. Poliovirus biology and pathogenesis. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* 206, 305–325.
- Reddehase, M.J., Lemmermann, N.A.W., 2019. Cellular reservoirs of latent cytomegaloviruses. *Med. Microbiol. Immunol.* <https://doi.org/10.1007/s00430-019-00592-y>
- Ren, R., Racaniello, V.R., 1992. Poliovirus spreads from muscle to the central nervous system by neural pathways. *J. Infect. Dis.* 166, 747–752.
- Rezelj, V.V., Levi, L.I., Vignuzzi, M., 2018. The defective component of viral populations. *Curr Opin Virol* 33, 74–80. <https://doi.org/10.1016/j.coviro.2018.07.014>
- Sadeghipour, S., Mathias, R.A., 2017. Herpesviruses hijack host exosomes for viral pathogenesis. *Semin. Cell Dev. Biol.* 67, 91–100. <https://doi.org/10.1016/j.semcdb.2017.03.005>
- Wang, I.-H., Burckhardt, C.J., Yakimovich, A., Greber, U.F., 2018. Imaging, Tracking and Computational Analyses of Virus Entry and Egress with the Cytoskeleton. *Viruses* 10. <https://doi.org/10.3390/v10040166>
- Yarbrough, M.L., Mata, M.A., Sakthivel, R., Fontoura, B.M.A., 2014. Viral subversion of nucleocytoplasmic trafficking. *Traffic* 15, 127–140. <https://doi.org/10.1111/tra.12137>
- Yin, J., Redovich, J., 2018. Kinetic Modeling of Virus Growth in Cells. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 82. <https://doi.org/10.1128/MMBR.00066-17>

Capítulo 5

- Abbas AK, Lichtman AH, Pillai S. Cellular and Molecular Immunology. Elsevier. 2018.
- Alessio, L.A., Carricart, S.E., Bustos, D., Nates, S.V., Gendelman, H., Pavan, J.V., 2001. Loss of maternally derived human herpesvirus-6 immunity and natural infection in Argentinian infants. *Int. J. Infect. Dis.* 5, 202–204.
- Bunker, J.J., Bendelac, A., 2018. IgA Responses to Microbiota. *Immunity* 49, 211–224. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2018.08.011>
- Castro-Dopico, T., Clatworthy, M.R., 2019. IgG and Fcγ Receptors in Intestinal Immunity and Inflammation. *Front Immunol* 10, 805. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.00805>
- Cutting edge: a novel Toll/IL-1 receptor domain-containing adapter that preferentially activates the IFN-beta promoter in the Toll-like receptor si... - PubMed - NCBI [WWW Document], n.d. URL <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12471095> (accessed 5.4.19).
- D'Souza, L., Bhattacharya, D., 2019. Plasma cells: You are what you eat. *Immunol. Rev.* 288, 161–177. <https://doi.org/10.1111/immr.12732>
- Gratz, I.K., Rosenblum, M.D., Abbas, A.K., 2013. The life of regulatory T cells. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1283, 8–12. <https://doi.org/10.1111/nyas.12011>
- Griffin, D.E., 2010. Measles virus-induced suppression of immune responses. *Immunol. Rev.* 236, 176–189. <https://doi.org/10.1111/j.1600-065X.2010.00925.x>
- Griffin, D.E., 2016. The Immune Response in Measles: Virus Control, Clearance and Protective Immunity. *Viruses* 8. <https://doi.org/10.3390/v8100282>
- Griffin, D.E., Metcalf, T., 2011. Clearance of virus infection from the CNS. *Curr Opin Virol* 1, 216–221. <https://doi.org/10.1016/j.coviro.2011.05.021>
- Kemper, C., Atkinson, J.P., 2009. Measles virus and CD46. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* 329, 31–57.

- McLellan, A.D., Ali Hosseini Rad, S.M., 2019. Chimeric antigen receptor T cell persistence and memory cell formation. *Immunol. Cell Biol.* <https://doi.org/10.1111/imcb.12254>
- Palma, J., Tokarz-Deptuła, B., Deptuła, J., Deptuła, W., 2018. Natural antibodies - facts known and unknown. *Cent Eur J Immunol* 43, 466–475. <https://doi.org/10.5114/ceji.2018.81354>
- Patente, T.A., Pelgrom, L.R., Everts, B., 2019. Dendritic cells are what they eat: how their metabolism shapes T helper cell polarization. *Curr. Opin. Immunol.* 58, 16–23. <https://doi.org/10.1016/j.coi.2019.02.003>
- Randall, R.E., Griffin, D.E., 2017. Within host RNA virus persistence: mechanisms and consequences. *Curr Opin Virol* 23, 35–42. <https://doi.org/10.1016/j.coviro.2017.03.001>
- Ratajczak, W., Niedźwiedzka-Rystwej, P., Tokarz-Deptuła, B., Deptuła, W., 2018. Immunological memory cells. *Cent Eur J Immunol* 43, 194–203. <https://doi.org/10.5114/ceji.2018.77390>
- Rosenblum, M.D., Way, S.S., Abbas, A.K., 2016. Regulatory T cell memory. *Nat. Rev. Immunol.* 16, 90–101. <https://doi.org/10.1038/nri.2015.1>
- Takeda, K., Akira, S., 2004. TLR signaling pathways. *Semin. Immunol.* 16, 3–9.
- Yang, X., Zhang, C., Chen, G., Sun, C., Li, J., 2019. Antibodies: The major participants in maternal-fetal interaction. *J. Obstet. Gynaecol. Res.* 45, 39–46. <https://doi.org/10.1111/jog.13839>
- Zhou, H., Coveney, A.P., Wu, M., Huang, J., Blankson, S., Zhao, H., O’Leary, D.P., Bai, Z., Li, Y., Redmond, H.P., Wang, J.H., Wang, J., 2018. Activation of Both TLR and NOD Signaling Confers Host Innate Immunity-Mediated Protection Against Microbial Infection. *Front Immunol* 9, 3082. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.03082>

Capítulo 6

- Alessio, L.A., Carricart, S.E., Bustos, D., Nates, S.V., Gendelman, H., Pavan, J.V., 2001. Loss of maternally derived human herpesvirus-6 immunity and natural infection in Argentinian infants. *Int. J. Infect. Dis.* 5, 202–204.
- Barril, P., Martínez, L., Giordano, M., Masachessi, G., Isa, M., Pavan, J., Glikmann, G., Nates, S., 2013. Genetic and antigenic evolution profiles of G1 rotaviruses in Córdoba, Argentina, during a 27-year period (1980-2006). *J. Med. Virol.* 85, 363–369. <https://doi.org/10.1002/jmv.23462>
- Bassani, B., Baci, D., Gallazzi, M., Poggi, A., Bruno, A., Mortara, L., 2019. Natural Killer Cells as Key Players of Tumor Progression and Angiogenesis: Old and Novel Tools to Divert Their Pro-Tumor Activities into Potent Anti-Tumor Effects. *Cancers (Basel)* 11. <https://doi.org/10.3390/cancers11040461>
- Biganzoli, P., Ferreyra, L., Nates, S., Pavan, J., 2019. Age-Related Patterns of DNA Detection and Specific IgG Subclasses in Healthy HHV-6- and HHV-7-Infected Individuals. *Viral Immunol.* 32, 95–101. <https://doi.org/10.1089/vim.2018.0113>
- Biganzoli, P., Ferreyra, L., Sicilia, P., Carabajal, C., Frattari, S., Littvik, A., Nates, S., Pavan, J., 2010. IgG subclasses and DNA detection of HHV-6 and HHV-7 in healthy individuals. *J. Med. Virol.* 82, 1679–1683. <https://doi.org/10.1002/jmv.21880>
- Bohmwald, K., Gálvez, N.M.S., Canedo-Marroquín, G., Pizarro-Ortega, M.S., Andrade-Parra, C., Gómez-Santander, F., Kalergis, A.M., 2019. Contribution of Cytokines to Tissue Damage During Human Respiratory Syncytial Virus Infection. *Front Immunol* 10, 452. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.00452>
- Bustos, D., Biganzoli, P., Carricart, S.E., Ferreyra, L., Nates, S.V., Pavan, J.V., 2006. Loss of maternally-derived human herpesvirus-7 immunity and natural infection in Argentinian infants. *Int. J. Infect. Dis.* 10, 354–357. <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2005.07.005>

- Carricart, S.E., Bustos, D.A., Grutadauria, S.L., Nates, S.V., García, J.J., Yacci, M.R., Gendelman, H., Pavan, J.V., 2002. [Human herpesvirus-6 circulation in healthy adults and oncologic patients]. *Medicina (B Aires)* 62, 9–12.
- Carricart, S.E., Bustos, D.A., Grutadauria, S.L., Nates, S.V., García, J.J., Yacci, M.R., Gendelman, H., Pavan, J.V., 2002. [Human herpesvirus-6 circulation in healthy adults and oncologic patients]. *Medicina (B Aires)* 62, 9–12.
- de Lima Thomaz, L., Peron, G., Oliveira, J., da Rosa, L.C., Thomé, R., Verinaud, L., 2018. The impact of metabolic reprogramming on dendritic cell function. *Int. Immunopharmacol.* 63, 84–93. <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2018.07.031>
- De Vlugt, C., Sikora, D., Pelchat, M., 2018. Insight into Influenza: A Virus Cap-Snatching. *Viruses* 10. <https://doi.org/10.3390/v10110641>
- Deckers, J., Hammad, H., Hosten, E., 2018. Langerhans Cells: Sensing the Environment in Health and Disease. *Front Immunol* 9, 93. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.00093>
- Devarajan, P., Jones, M.C., Kugler-Umana, O., Vong, A.M., Xia, J., Swain, S.L., 2018. Pathogen Recognition by CD4 Effectors Drives Key Effector and Most Memory Cell Generation Against Respiratory Virus. *Front Immunol* 9, 596. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.00596>
- Doherty, P.C., Zinkernagel, R.M., 1974. T-cell-mediated immunopathology in viral infections. *Transplant Rev* 19, 89–120.
- Eisenbarth, S.C., 2019. Dendritic cell subsets in T cell programming: location dictates function. *Nat. Rev. Immunol.* 19, 89–103. <https://doi.org/10.1038/s41577-018-0088-1>
- Engels, N., Wienands, J., 2018. Memory control by the B cell antigen receptor. *Immunol. Rev.* 283, 150–160. <https://doi.org/10.1111/imr.12651>
- Ferreyra, L., Bustos, D., Biganzoli, P., Isa, M.B., Don, P.S., Ribechini, E., Nates, S.V., Pavan, J.V., 2010. HHV-6 IgG4 isotype response following measles infection. *J. Med. Virol.* 82, 396–399. <https://doi.org/10.1002/jmv.21702>
- Fischer, S., 2018. Pattern Recognition Receptors and Control of Innate Immunity: Role of Nucleic Acids. *Curr Pharm Biotechnol* 19, 1203–1209. <https://doi.org/10.2174/138920112804583087>
- Germic, N., Frangez, Z., Yousefi, S., Simon, H.-U., 2019. Regulation of the innate immune system by autophagy: monocytes, macrophages, dendritic cells and antigen presentation. *Cell Death Differ.* 26, 715–727. <https://doi.org/10.1038/s41418-019-0297-6>

- Glingston, R.S., Deb, R., Kumar, S., Nagotu, S., 2019. Organelle dynamics and viral infections: at cross roads. *Microbes Infect.* 21, 20–32. <https://doi.org/10.1016/j.micinf.2018.06.002>
- Groom, J.R., 2019. Regulators of T-cell fate: Integration of cell migration, differentiation and function. *Immunol. Rev.* 289, 101–114. <https://doi.org/10.1111/imr.12742>
- He, Z., Zhu, X., Shi, Z., Wu, T., Wu, L., 2019. Metabolic Regulation of Dendritic Cell Differentiation. *Front Immunol* 10, 410. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.00410>
- Hofmann, M., Wieland, D., Pircher, H., Thimme, R., 2018. Memory vs memory-like: The different facets of CD8+ T-cell memory in HCV infection. *Immunol. Rev.* 283, 232–237. <https://doi.org/10.1111/imr.12642>
- Isa, M.B., Pavan, J.V., Sicilia Don, P., Grutadauria, S., Martinez, L.C., Giordano, M.O., Masachessi, G., Barril, P.A., Nates, S.V., 2014. Persistence of measles neutralizing antibody related to vaccine and natural infection acquired before HIV infection. *Epidemiol. Infect.* 142, 1708–1712. <https://doi.org/10.1017/S0950268813002628>
- Kahan, S.M., Zajac, A.J., 2019. Immune Exhaustion: Past Lessons and New Insights from Lymphocytic Choriomeningitis Virus. *Viruses* 11. <https://doi.org/10.3390/v11020156>
- Karkhah, A., Javanian, M., Ebrahimpour, S., 2018. The role of regulatory T cells in immunopathogenesis and immunotherapy of viral infections. *Infect. Genet. Evol.* 59, 32–37. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2018.01.015>
- Kaufmann, S.H.E., 2019. Immunology's Coming of Age. *Front Immunol* 10, 684. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.00684>
- Koenderman, L., 2019. Inside-Out Control of Fc-Receptors. *Front Immunol* 10, 544. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.00544>
- Maarouf, M., Rai, K.R., Goraya, M.U., Chen, J.-L., 2018. Immune Ecosystem of Virus-Infected Host Tissues. *Int J Mol Sci* 19. <https://doi.org/10.3390/ijms19051379>
- Marin, N.D., Dunlap, M.D., Kaushal, D., Khader, S.A., 2019. Friend or Foe: The Protective and Pathological Roles of Inducible Bronchus-Associated Lymphoid Tissue in Pulmonary Diseases. *J. Immunol.* 202, 2519–2526. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1801135>
- Romagnoli, P.A., Nates, S.V., Pavan, J.V., Serra, H.M., 2000. Seroprevalence of human herpesvirus 6 in Andino Puneños (Argentina). *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 94, 669–672.
- Schyns, J., Bureau, F., Marichal, T., 2018. Lung Interstitial Macrophages: Past, Present, and Future. *J Immunol Res* 2018, 5160794. <https://doi.org/10.1155/2018/5160794>

- Ugur, M., Mueller, S.N., 2019. T cell and dendritic cell interactions in lymphoid organs: More than just being in the right place at the right time. *Immunol. Rev.* 289, 115–128. <https://doi.org/10.1111/imr.12753>
- Valečka, J., Almeida, C.R., Su, B., Pierre, P., Gatti, E., 2018. Autophagy and MHC-restricted antigen presentation. *Mol. Immunol.* 99, 163–170. <https://doi.org/10.1016/j.molimm.2018.05.009>
- Wan, S.-W., Wu-Hsieh, B.A., Lin, Y.-S., Chen, W.-Y., Huang, Y., Anderson, R., 2018. The monocyte-macrophage-mast cell axis in dengue pathogenesis. *J. Biomed. Sci.* 25, 77. <https://doi.org/10.1186/s12929-018-0482-9>
- Zhang, S., Carriere, J., Lin, X., Xie, N., Feng, P., 2018. Interplay between Cellular Metabolism and Cytokine Responses during Viral Infection. *Viruses* 10. <https://doi.org/10.3390/v10100521>
- Zinkernagel, M.S., McMenamin, P.G., Forrester, J.V., Degli-Esposti, M.A., 2011. T cell responses in experimental viral retinitis: mechanisms, peculiarities and implications for gene therapy with viral vectors. *Prog Retin Eye Res* 30, 275–284. <https://doi.org/10.1016/j.preteyeres.2011.04.001>
- Zinkernagel, R.M., 1978. Major transplantation antigens in T cell-mediated immunity: a comparison of the transplantation reaction with antiviral immunity. *Fed. Proc.* 37, 2379–2384.
- Zinkernagel, R.M., 2002. Lymphocytic choriomeningitis virus and immunology. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* 263, 1–5.
- Zinkernagel, R.M., Doherty, P.C., 1977. Major transplantation antigens, viruses, and specificity of surveillance T cells. *Contemp Top Immunobiol* 7, 179–220.
- Zinkernagel, R.M., LaMarre, A., Ciurea, A., Hunziker, L., Ochsenbein, A.F., McCoy, K.D., Fehr, T., Bachmann, M.F., Kalinke, U., Hengartner, H., 2001. Neutralizing antiviral antibody responses. *Adv. Immunol.* 79, 1–53.

Capítulo 7

- Cumino, A.C., Giordano, M.O., Martínez, L.C., Medeot, S.I., Pavan, J.V., Yudowsky, S., Isa, M.B., Depetris, A.R., Nates, S.V., 1998. Culture amplification in human colon adenocarcinoma cell line (CaCo-2) combined with an ELISA as a supplementary assay for accurate diagnosis of rotavirus. *J. Virol. Methods* 76, 81–85.
- Ferreyra, L.J., Giordano, M.O., Martínez, L.C., Barril, P.A., Masachessi, G., Isa, M.B., Poma, R., Rajal, V., Biganzoli, P., Nates, S.V., Pavan, J.V., 2015. Tracking novel adenovirus in environmental and human clinical samples: no evidence of endemic human adenovirus type 58 circulation in Córdoba city, Argentina. *Epidemiol. Infect.* 143, 1427–1431. <https://doi.org/10.1017/S0950268814002192>
- Giordano, M.O., Martínez, L.C., Ferreyra, L.J., Isa, M.B., Paez Rearte, M., Pavan, J.V., Nates, S.V., 2005. Discrepancies in viral gastroenteritis diagnosis: an unusual dual reovirus-adenovirus infection case. *J. Clin. Virol.* 32, 71–72. <https://doi.org/10.1016/j.jcv.2004.08.016>
- Giordano, M.O., Martínez, L.C., Isa, M.B., Ferreyra, L.J., Canna, F., Paván, J.V., Paez, M., Notario, R., Nates, S.V., 2002. Twenty year study of the occurrence of reovirus infection in hospitalized children with acute gastroenteritis in Argentina. *Pediatr. Infect. Dis. J.* 21, 880–882.
- Lennette's Laboratory of Viral Infections. Jerome KR. Informa Healthcare. 2010
- Valle, M.C., Martínez, L.C., Ferreyra, L.J., Giordano, M.O., Isa, M.B., Paván, J.V., De Boccardo, G., Massari, P.U., Nates, S.V., 2001. [Viral agents related to diarrheic syndrome in kidney transplanted patients]. *Medicina (B Aires)* 61, 179–182.

Capítulo 8

- Akkermans, R., 2015. Jonas Salk. *Lancet Respir Med* 3, 930–931. [https://doi.org/10.1016/S2213-2600\(15\)00407-5](https://doi.org/10.1016/S2213-2600(15)00407-5)
- Doherty, P.C., Zinkernagel, R.M., 1974. T-cell-mediated immunopathology in viral infections. *Transplant Rev* 19, 89–120.
- Francis, T., 1955. Evaluation of the 1954 poliomyelitis vaccine field trial; further studies of results determining the effectiveness of poliomyelitis vaccine (Salk) in preventing paralytic poliomyelitis. *J Am Med Assoc* 158, 1266–1270.
- Galal, N.M., Meshaal, S., ElHawary, R., Nasr, E., Bassiouni, L., Ashghar, H., Farag, N.H., Mach, O., Burns, C., Iber, J., Chen, Q., ElMarsafy, A., 2018. Poliovirus excretion following vaccination with live poliovirus vaccine in patients with primary immunodeficiency disorders: clinicians' perspectives in the endgame plan for polio eradication. *BMC Res Notes* 11, 717. <https://doi.org/10.1186/s13104-018-3822-7>
- Greenberg, B.G., Cameron, C.M., 1955. The probable influence of Salk poliomyelitis vaccine on reported poliomyelitis in North Carolina. *N C Med J* 16, 391–395.
- Horstmann, D.M., Paul, J.R., Melnick, J.L., Deutsch, J.V., 1957. Infection induced by oral administration of attenuated poliovirus to persons possessing homotypic antibody. *J. Exp. Med.* 106, 159–177.
- Mbaeyi, C., Alleman, M.M., Ehrhardt, D., Wiesen, E., Burns, C.C., Liu, H., Ewetola, R., Seakamela, L., Mdodo, R., Ndoutabe, M., Wenye, P.K., Riziki, Y., Borus, P., Kamugisha, C., Wassilak, S.G.F., 2019. Update on Vaccine-Derived Poliovirus Outbreaks - Democratic Republic of the Congo and Horn of Africa, 2017-2018. *MMWR Morb. Mortal. Wkly. Rep.* 68, 225–230. <https://doi.org/10.15585/mmwr.mm6809a2>
- Nates, S.V., Frias, M., Belfiore, S., Isa, M.B., Martinez, L.C., Chuit, R., Armoni, J., Luxemburger, C., 2011. Effect on seroprevalence of anti-poliovirus antibodies and on vaccination coverage of the implementation of a DTwP-IPV-Hib vaccination programme in a South American city. *Epidemiol. Infect.* 139, 826–835. <https://doi.org/10.1017/S0950268810001512>

- Nathanson, N., Kew, O.M., 2011. Poliovirus vaccines: past, present, and future. *Arch Pediatr Adolesc Med* 165, 489–491. <https://doi.org/10.1001/archpediatrics.2011.77>
- Pons-Salort, M., Burns, C.C., Lyons, H., Blake, I.M., Jafari, H., Oberste, M.S., Kew, O.M., Grassly, N.C., 2016. Preventing Vaccine-Derived Poliovirus Emergence during the Polio Endgame. *PLoS Pathog.* 12, e1005728. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1005728>
- Sabin, A.B., 1957. Properties and behavior of orally administered attenuated poliovirus vaccine. *J Am Med Assoc* 164, 1216–1223.
- Sabin, A.B., 1959. Status of field trials with an orally administered, live attenuated poliovirus vaccine. *J Am Med Assoc* 171, 863–868.
- SALK poliomyelitis vaccine information, 1955. . *J Natl Med Assoc* 47, 183–184.
- Shen, L., Chen, C.Y., Huang, D., Wang, R., Zhang, M., Qian, L., Zhu, Y., Zhang, A.Z., Yang, E., Qaqish, A., Chumakov, K., Kouliavskaja, D., Vignuzzi, M., Nathanson, N., Macadam, A.J., Andino, R., Kew, O., Xu, J., Chen, Z.W., 2017. Pathogenic Events in a Nonhuman Primate Model of Oral Poliovirus Infection Leading to Paralytic Poliomyelitis. *J. Virol.* 91. <https://doi.org/10.1128/JVI.02310-16>
- THE SALK vaccine in Britain, 1955. . *Br Med J* 1, 1099–1101.
- Zinkernagel, M.S., McMenamin, P.G., Forrester, J.V., Degli-Esposti, M.A., 2011. T cell responses in experimental viral retinitis: mechanisms, peculiarities and implications for gene therapy with viral vectors. *Prog Retin Eye Res* 30, 275–284. <https://doi.org/10.1016/j.preteyeres.2011.04.001>
- Zinkernagel, R.M., 1978. Major transplantation antigens in T cell-mediated immunity: a comparison of the transplantation reaction with antiviral immunity. *Fed. Proc.* 37, 2379–2384.
- Zinkernagel, R.M., Doherty, P.C., 1977. Major transplantation antigens, viruses, and specificity of surveillance T cells. *Contemp Top Immunobiol* 7, 179–220.
- Zinkernagel, R.M., LaMarre, A., Ciurea, A., Hunziker, L., Ochsenein, A.F., McCoy, K.D., Fehr, T., Bachmann, M.F., Kalinke, U., Hengartner, H., 2001. Neutralizing antiviral antibody responses. *Adv. Immunol.* 79, 1–53.
- Zinkernagel R.M. Virus induced-immunopathology Nathanson N. *En Viral Pathogenesis* Lippincott-Raven. 1997

Capítulo 10

- Bustos, D.A., Pavan, J.V., Carricart, S.E., Talavera, A.D., Secchi, D., Carrica, V., Panico, R.L., Gendelman, H., 1999. [Human papillomavirus detection in oral cancer lesions in the city of Córdoba]. *Rev Fac Cien Med Univ Nac Cordoba* 56, 65–71.
- Bustos, D.A., Grenón, M.S., Benitez, M., de Boccardo, G., Pavan, J.V., Gendelman, H., 2001. Human papillomavirus infection in cyclosporin-induced gingival overgrowth in renal allograft recipients. *J. Periodontol.* 72, 741–744. <https://doi.org/10.1902/jop.2001.72.6.741>
- Gaglia, M.M., Munger, K., 2018. More than just oncogenes: mechanisms of tumorigenesis by human viruses. *Curr Opin Virol* 32, 48–59. <https://doi.org/10.1016/j.coviro.2018.09.003>
- Gualandi, F., Morelli, C., Pavan, J.V., Rimessi, P., Sensi, A., Bonfatti, A., Gruppioni, R., Possati, L., Stanbridge, E.J., Barbanti-Brodano, G., 1994. Induction of senescence and control of tumorigenicity in BK virus transformed mouse cells by human chromosome 6. *Genes Chromosomes Cancer* 10, 77–84.
- Krump, N.A., Liu, W., You, J., 2018. Mechanisms of persistence by small DNA tumor viruses. *Curr Opin Virol* 32, 71–79. <https://doi.org/10.1016/j.coviro.2018.09.002>
- Martin, D., Gutkind, J.S., 2008. Human tumor-associated viruses and new insights into the molecular mechanisms of cancer. *Oncogene* 27 Suppl 2, S31-42. <https://doi.org/10.1038/onc.2009.351>
- Negrini, M., Castagnoli, A., Pavan, J.V., Sabbioni, S., Araujo, D., Corallini, A., Gualandi, F., Rimessi, P., Bonfatti, A., Giunta, C., 1992. Suppression of tumorigenicity and anchorage-independent growth of BK virus-transformed mouse cells by human chromosome 11. *Cancer Res.* 52, 1297–1303.
- Pavan, J.V., Coranti, M.V., Sileoni, S., 1995. [Human oncogenic viruses. New findings]. *Rev Fac Cien Med Univ Nac Cordoba* 53, 37–44.
- Pavan J, F.Gualandi, P.Rimessi, A.Corallini y G.Barbanti-Brodano. *Genes oncosupresores, nuevas perspectivas para la investigación en cáncer humano. Medicina (Buenos Aires)* 54: 163-168. 1994

- Schiller, J.T., Lowy, D.R., 2014. Virus infection and human cancer: an overview. *Recent Results Cancer Res.* 193, 1–10.
https://doi.org/10.1007/978-3-642-38965-8_1