

45.  
24



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA  
DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

LAS ENFERMEDADES OCASIONADAS POR  
EL CITOMEGALOVIRUS HUMANO Y  
SU DIAGNÓSTICO DE LABORATORIO

TRABAJO MONOGRÁFICO DE  
ACTUALIZACIÓN  
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:  
QUÍMICA FARMACÉUTICA BIÓLOGA  
P R E S E N T A :  
MA. DEL ROCÍO GÓMEZ ORTEGA



MEXICO, D.F.

1995

FALLA DE ORIGEN

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

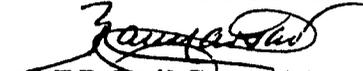
## **JURADO ASIGNADO**

**PRESIDENTE:** Prof. ELDA PENICHE QUINTANA  
**VOCAL:** Prof. MA. DEL CARMEN CORTÉS DECUIR  
**SECRETARIO:** Prof. RAÚL GARZA VELASCO  
**1er. SUPLENTE:** Prof. SATURNINO DE LEÓN CHAPA  
**2do. SUPLENTE:** Prof. ENRIQUE ORTEGA SOTO

### **LUGAR DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:**

- + HEMEROBIBLIOTECA DE LA FACULTAD DE MEDICINA  
(UNAM)
- + BIBLIOTECA DEL INSTITUTO DE INVESTIGACIONES  
BIOMÉDICAS (UNAM)
- + HEMEROTECA DEL CINVESTAV

### **ASESOR DEL TEMA:**

  
Q.F.B. Raúl Garza Velasco

### **SUSTENTANTE:**

  
Ma. del Rocio Gómez Ortega

*"No aceptar nunca como verdadera cosa alguna que no conociere yo evidentemente ser tal, es decir, evitar solícitamente la precipitación y el prejuicio, y abarcar en mis juicios nada más que lo que se presente a mi mente de modo tan claro y distinto, que no tuviese yo ocasión alguna de ponerlo en duda.*

*Dividir cada uno de las dificultades que examinase en tantas partículas como fuese posible y necesario para solventarlas mejor.*

*Conducir con orden mis pensamientos, empezando por los objetos más sencillos y fáciles de conocer, para subir poco a poco, como escalones, hasta el conocimiento de los más compuestos y suponiendo que existe orden aun entre aquellas que no se preceden naturalmente unas a otras.*

*Hacer enumeraciones tan complejas y revisiones tan generales, que estuviese yo cierto de no omitir nada.*

*Tener en cuenta que fuera de nuestros pensamientos, no hay nada que esté por completo en nuestras manos."*

*René Descartes (1596-1650)  
<<Cogito, ergo sum>>.*

A Dios: Por que me concediste conocer el sabor de la adversidad; y asi me permitiste deleitarme con el éxtasis del éxito, valorarlo y comprender que para obtenerlo se requiere de una lucha constante.

Gracias por mantenerme viva y por haberme sujetado en los momentos en que estuve a punto de caer.

A mis padres: Por apoyarme constantemente en mis decisiones y por haberme dado la vida.

A mis hermanos:

Rex, por confiar en mí, por los buenos momentos desde nuestra niñez hasta ahora, y por todos los que nos faltan ...

Pelucho, por que has estado conmigo en los instantes en que más he necesitado de apoyo, por compartir mis sueños, por ser uno de mis mejores amigos y por creer en mí.

Montita, por que tu silencio ha confirmado las palabras de más aliento que he tenido, por que me has enseñado que no se necesita hablar para hacer partícipe la presencia y el apoyo.

A mis abuelos (Consuelo y José Armando): Gracias por amarme y hacerme sentir amada, por que sé que siempre contaré con ustedes a pesar de las adversidades, por ser para mí un apoyo incondicional y un ejemplo de lucha. Gracias por ser como son.

A Penélope, por apoyarme en los momentos en que se necesita de una verdadera amistad para continuar, por haber estado conmigo en los más importantes y decisivos, por saberme escuchar, por compartir los fracasos y éxitos de ésta vida y por haber alimentado mi alma de tantas cosas positivas ...

"Todas las estrellas y galaxias del universo están hechas de la misma materia. En algunas partes, algunas de ellas se han juntado. Puede haber millones de años luz entre una y otra galaxia. Pero todas tienen el mismo origen. Todas las estrellas y planetas son de la misma estirpe".

A la Dra. Tania Del Rio: Por demostrar que la distancia sólo es etérea, y que la presencia persiste y se manifiesta justo en el instante en que nos hace falta. Te agradezco tu apoyo, comprensión, dedicación ...; así como agradezco a Dios el que te haya dotado de oídos que escuchan (sin importar la hora).

Gracias, por compartir conmigo tus sueños y por escuchar los míos, por apreciar tanta como yo la culminación de esta faceta y por luchar continuamente para lograr nuestros objetivos a futuro.

A mi Maestro y Amigo Pedro Sánchez, por tu inconsable dedicación, por tu apoyo y consejos; por ser para mi un ejemplo de bondad, fraternalismo y lucha constante por lograr lo que se quiere.

Gracias por enriquecer mi vida con tu amistad.

A mis amigos:

Julys: Por tus consejos, tu apoyo y por saberle cerca siempre que le necesité.

Oso: Por que te debo los mejores y más divertidos recuerdos que tengo de nuestra querida Facultad. Por todos los buenos momentos, por nuestra indeleble amistad, por las bromas y por todo lo que el futuro nos siga deparando juntos...

Claudia y Arturo (Compadrosos): Por que juntos me han permitido deleitarme con el dulce sabor de la amistad incondicional.

Cynthia Gerson: Por tu confianza, amistad, gran apoyo y por las palabras de aliento en el momento preciso.

Kulsi: Por que me demostraste un gran sentido de compañerismo y bondad.

Gallosa: Por todos los buenos momentos compartidos, por las grandes pláticas y por nuestra confianza.

Miranda: Por que gracias a los momentos difíciles me percate de la gran amiga que eres.

Sara Martha: Por haberme escuchado y apoyado siempre.

Sofía Amundsen: Por ser de las mejores compañías que he tenido y que siempre mantendré. Por tus palabras tan confusas, pero precisas, por enseñarme a profundizar en todo cuanto nos rodea y sorprenderme con la riqueza que posee el ser humano.

A la Maestra Sacarro Alpizar, por su constante ayuda y comprensión. Gracias por ser un constante apoyo no sólo para mí, sino para todos mis compañeros y amigos.

A mis profesores de Inmunología (Sullivan, Jorge Paniagua), especialmente a Rassandra Pelayo, por que gracias a ella conocí a la Inmunología, al CMVH y aprendí a amar a la ciencia.

Gracias a los tres por todo lo que me enseñarán.

Al profesor Raúl Carza Velasco: Por ser para mí un verdadero ejemplo de trabajo y lucha incansable.

Gracias Maestra por creer en mí y apoyarme en la realización de éste trabajo, por sus consejos y por su ejemplo de calidad humana.

A la Universidad Nacional Autónoma de México, especialmente a mi querida Facultad de Química; a quien le debo todos los conocimientos adquiridos en mi preparación profesional.

## ÍNDICE

|   |    |
|---|----|
| INTRODUCCIÓN  | 1  |
| OBJETIVOS   | 4  |
| <b>I . GENERALIDADES BIOLÓGICAS DEL CMVH</b>  |    |
| i . Antecedentes históricos   | 5  |
| ii . Taxonomía  | 6  |
| iii . Estructura y composición del virus  | 7  |
| iv . Mecanismos de replicación  | 9  |
| v . Susceptibilidad a agentes físicos, químicos y biológicos                                | 14 |
|   | 14 |
| <b>II . MECANISMOS UTILIZADOS POR EL CMVH PARA EVADIR LA RESPUESTA INMUNE DEL HOSPEDERO</b> | 15 |
| <b>III. IMPORTANCIA CLÍNICA</b>   |    |
| i . Patología   | 24 |
| <b>IV. DIAGNÓSTICO DE LABORATORIO</b>   | 37 |
| i . Métodos directos  | 38 |
| ii . Métodos indirectos   | 50 |
| <b>V . TRATAMIENTO</b>  | 54 |
| <b>CONCLUSIONES</b>   | 56 |

## **INTRODUCCIÓN**

El citomegalovirus humano (CMVH) figura entre los principales agentes infecciosos, tal como lo demuestra el hecho de que, dependiendo de la población analizada, el 40 al 100 % de las personas presenta anticuerpos (Ac's) dirigidos en su contra.

Su notable frecuencia en el humano incluye una elevada proporción de individuos asintomáticos, quienes pueden representar el origen de numerosas enfermedades asociadas al virus, cuando éste pasa de un clásico estado de latencia a su plena reactivación, como producto de inmunodeficiencias o de su transmisión a otros hospederos, vías aérea, oral, genital, transplacentaria, transfusional, o por transplantes de órganos.

En todo caso, los daños ocasionados pueden conducir hacia la muerte, sobre todo cuando las personas afectadas padecen de inmadurez o

depresiones inmunitarias, tal como ocurre durante la etapa de gestación, en los recién nacidos, en los receptores de órganos provenientes de donadores seropositivos para CMVH y quienes experimentan patologías altamente debilitantes tales como el SIDA.

Incuestionablemente, en la elevada incidencia de este virus también influyen diversos factores imputables a este último, destacando los numerosos mecanismos mediante los cuales evade o desvía la respuesta inmune: a) autoenmascaramiento, vía su unión a proteínas del hospedero; b) mimetismo molecular; c) inmunosupresión; y d) ocultamiento. Esta clase de procesos, muchos de ellos ausentes en otros agentes etiológicos más desarrollados (bacterias, hongos, protozoarios y helmintos), cuestiona las versiones en el sentido de que los virus presentan cuantiosas limitaciones para sobrevivir; ciertamente, carecen de un metabolismo propio, pero la información genética que poseen en su material nucleico es muy extensa y se expresa con notable regularidad y eficacia.

Finalmente, a todo lo antes planteado se deben adicionar los fracasos que el humano ha experimentado, buscando agentes terapéuticos efectivos

contra el CMVH, e inclusive, tratando de elaborar alguna vacuna que coadyuve a prevenir las infecciones, sobre todo en el período perinatal y cuando un individuo seronegativo va a recibir algún órgano o tejido ajenos.

El presente trabajo pretende presentar los principales conocimientos adquiridos en relación con el CMVH, haciendo énfasis en las patologías que genera y en las metodologías que representan el fundamento de su diagnóstico de laboratorio.

## **OBJETIVOS**

- Señalar los procesos involucrados en la replicación del CMVH.
- Describir los aspectos más trascendentes de las patologías debidas al CMVH.
- Enumerar y explicar los principales mecanismos a través de los cuales el CMVH evade la acción del sistema inmunológico de su hospedero.
- Describir los fundamentos y metodologías usadas en el diagnóstico de laboratorio de las infecciones debidas al CMVH.

## **I. GENERALIDADES BIOLÓGICAS DEL CMVH**

### **i. Antecedentes históricos**

En 1904, Ribert, estudiando células de riñón, hígado y pulmón, observó que todas ellas presentaban ciertas características que sugerían que estaban infectadas por un parásito: "Protozoan Like" (semejante a protozoo), constituido por un cuerpo central nuclear capaz de alterar la estructura celular y que provocaba una reacción inflamatoria de células linfoides y polimorfonucleares (PMN's). A dichas alteraciones de las células en cuestión las resumió como "**Citomegalia**" (48).

No fue sino hasta 1953, cuando Minder demostró que las inclusiones citomegálicas encontradas en células de páncreas eran ocasionadas por partículas virales de aproximadamente 100 nm, a los que llamó "**Citomegalovirus**" (CMV), y que correspondían a los agentes causantes de la enfermedad de la inclusión citomegálica (CID) (29, 48).

El citomegalovirus humano (CMVH) es especie específico y de replicación lenta tanto en los cultivos celulares como en el hospedador (28).

La infección viral es persistente y se extiende por un largo período, después del cual el virus permanece en forma latente. El CMVH ha evolucionado para vivir en equilibrio con el sistema inmunitario del ser humano, si bien ello no se concreta cuando el sistema inmunológico es aún inmaduro, como ocurre en el recién nacido (sobre todo con muy bajo peso y prematuridad), o en el caso de pacientes inmunocomprometidos debido al uso de medicamentos inmunosupresores, así como por efecto de alguna malignidad o de una inmunodeficiencia primaria o secundaria (19).

Usando como modelo biológico a las glándulas salivales de ratón, en Boston (1954) se aisló al virus en cultivo de células; pocos años después aparecieron reportes simultáneos (en St. Louis, Bethesda y Boston) sobre el aislamiento del CMVH a partir de tejidos de niños que presentaban diversas manifestaciones patológicas (2, 28, 48).

## **ii. Taxonomía**

De acuerdo con la clasificación del Comité Internacional sobre Taxonomía de Virus (ICTV), el CMVH pertenece a (31):

|                    |                          |
|--------------------|--------------------------|
| <i>Familia:</i>    | <i>Herpesviridae</i>     |
| <i>Subfamilia:</i> | <i>Betaherpesvirinae</i> |
| <i>Género:</i>     | <i>Citomegalovirus</i>   |

Cabe señalar que esta familia también incluye a los siguientes agentes virales (45):

- \* Virus Herpes Simplex 1 (HSV 1), productor de úlceras en la mucosa oral (aftas)
- \* Virus Herpes Simplex 2 (HSV 2), causante del herpes genital
- \* Virus Varicela-Zoster (VZV), productor de la varicela (chickenpox)
- \* Virus Epstein-Barr (EBV), causante de la Mononucleosis infecciosa (fiebre glandular) y, probablemente, de dos tipos de cáncer: el carcinoma de la faringe y el linfoma de Burkitt .

Asímismo, dentro del género se localizan aproximadamente 86 cepas, entre las cuales, las más importantes son las siguientes:

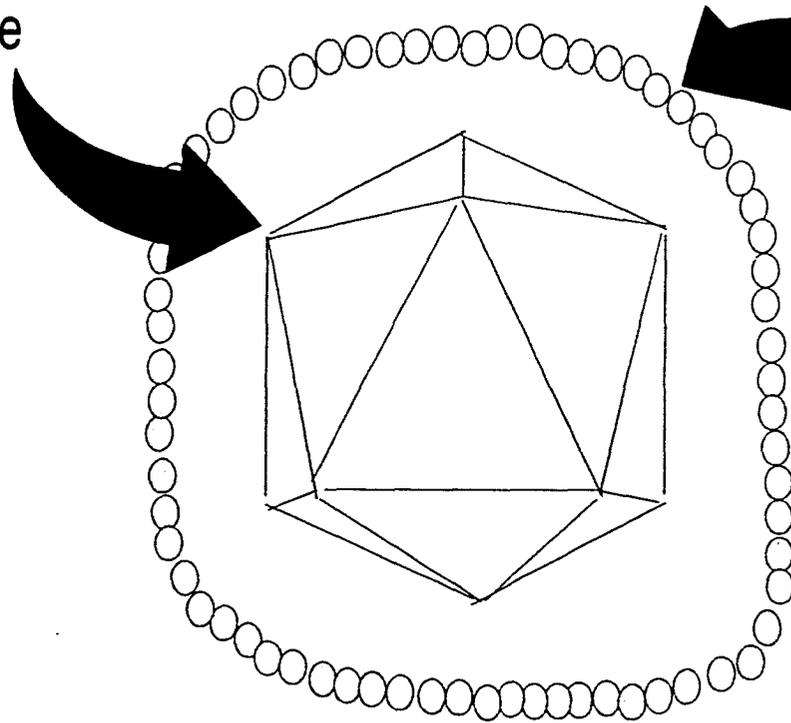
AD169, H301, Towne 125, C87, birch, Davis, Burke, entre otras (17, 52).

### **iii. Estructura y composición del virus**

El CMVH presenta un genoma de ADN de doble cadena (dsADN), y una cápside icosaédrica (Figura 1) integrada por 162 subunidades o capsómeros, cada 5 de los cuales forman una fase triangular del icosaedro (38, 45, 48, 57).

# Figura 1. Ultraestructura del CMVH

Nucleocápside



Envoltura Lipoproteica

120-200 nm

Además, dentro de la cápside se encuentra el core, que contiene al genoma viral y, rodeando a la primera, se localiza una envoltura lipoproteica, la cual es parte de la membrana celular y se adquiere al brotar de su célula hospedadora. El virus completa la unidad infecciosa, cuyo diámetro es de 120 a 200 nm. El dsADN del CMVH tiene un peso molecular de  $150 \times 10^6$  Da y se sintetiza por replicación en círculo rodante (45, 48).

Recientemente, la secuenciación del ADN de la cepa ADI69 ha revelado que el genoma se constituye por 235 kilopares de bases (kbp), lo que significa que se trata del material nuclear más grande, en relación al de todos los virus capaces de infectar al hombre. La densidad de dicho ácido nucleico es de 1.716 a 1.717  $\text{g/cm}^3$ , correspondiendo a un contenido de Guanina-Citocina (G-C) de 57 % (48, 51, 93).

El genoma se puede dividir en dos segmentos de ADN con capacidad de isomerización, conocidos como región única corta (US) de cerca de 40 kbp y región única larga (UL) de aproximadamente 195 kbp. Con ese tamaño, el genoma posee la capacidad de codificar para aproximadamente 200 genes (16, 38, 48, 53).

Se estima que el virión se encuentra conformado por 30 a 35 diferentes proteínas estructurales incluyendo a la proteína matriz-tegumento y las glicoproteínas de envoltura. Las glicoproteínas virales juegan un importante papel en el ensamblaje e infección por parte del virus, así

como en la inmunobiología de éste durante su interacción con el hospedador (15, 70).

#### **iv. Mecanismos de replicación**

En lo referente a su replicación, los virus presentan importantes desventajas comparados con formas de vida más avanzadas. A pesar de ello o quizá por eso mismo, su estudio ha tenido un profundo impacto en el desarrollo de la bioquímica y la biología molecular ya que, de cualquier manera, la multiplicación vírica representa un modelo de desarrollo celular que supone la expresión secuencial de los genes, pero además, considera el ensamblaje de macromoléculas para formar estructuras altamente ordenadas. De hecho, un virus debe poseer una gran organización, puesto que su material genético es muy pequeño; por lo que el número de espacios intrónicos es reducido, pero permite que cada gene aporte lo necesario para iniciar la replicación; en este sentido, es conveniente destacar la codificación asociada a la síntesis de enzimas involucradas en el proceso de replicación viral, ya que a su vez resulta extremadamente complicada, en comparación con la de otros microorganismos (102).

Al atravesar las membranas plasmáticas de la célula hospedadora, los virus inician sus mecanismos de replicación; numerosas familias de virus cruzan esta barrera previa unión a sus receptores; por ejemplo, en el caso del CMVH, se ha reportado que se une específicamente a: 1) dos proteínas de membrana: una de 34 y otra de 32 kDa, ambas

presentes en los fibroblastos; cabe subrayar que, de la abundancia de dichas proteínas depende la eficacia del virus para penetrar a la célula e iniciar la infección; por ello se les considera receptores obligados para el CMVH, pues resultan indispensables para que ocurra la fusión y penetración; **2)** las moléculas de clase I codificadas por el complejo principal de histocompatibilidad (MHC); **3)** una proteína de membrana de los fibroblastos, cuyo peso es de 92.5 kDa, la cual también reacciona con el gH (gp86) de herpes simplex, permitiendo también la entrada de ese virus a las células que la presentan (3, 19, 20, 75, 77).

De acuerdo con lo anterior, es claro que las proteínas celulares representan un componente importante que facilita la entrada del CMVH a las células susceptibles (20, 58, 60).

Por otra parte, el virus presenta tres complejos glicoproteicos en la envoltura viral (11, 20, 58, 75):

- a)** uno de 130 a 55 kDa (también llamado gC1), homólogo al complejo gB del HSV
- b)** otro complejo de 47 a 52 kDa (gC2)
- c)** el complejo de 145 a 86 kDa (gp86 y gC3), homólogo de la proteína gH del HSV.

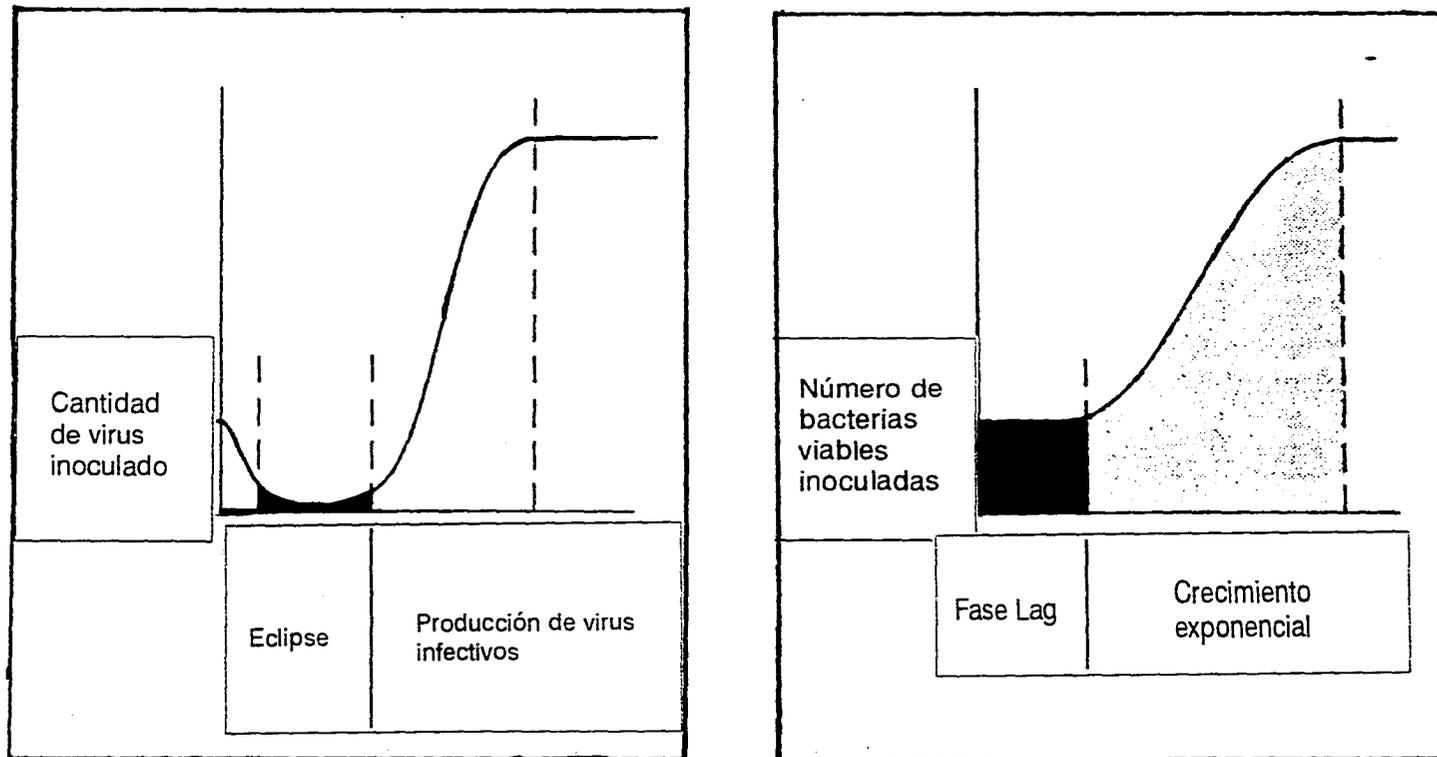
Una vez que ha iniciado la infección de la célula hospedadora, el proceso continúa con un lapso muy corto en el que ocurre una serie

de eventos importantes: primero, tiene lugar un período de eclipse (Figura 2), en el cual aparentemente no existe un aumento exponencial de partículas infectivas (como en el caso de las bacterias), pero se pone en marcha la replicación del material genético viral, ya que se transcribe un ARN mensajero (mARN) que guía la síntesis de diversas proteínas virales (19).

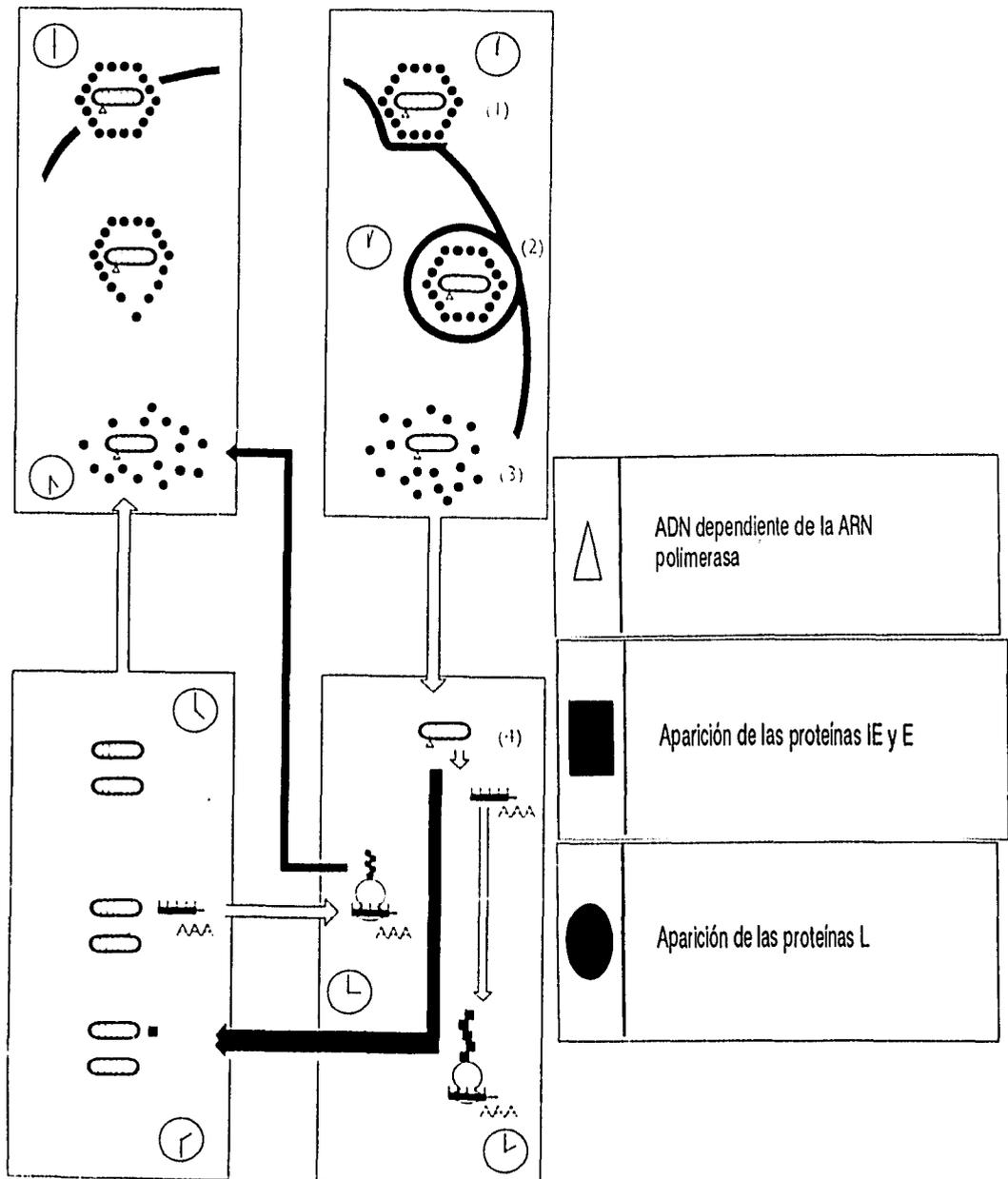
Sin embargo, en el caso de los virus envueltos, como el CMVH, también suceden algunos otros acontecimientos (Figura 3) (19, 94, 105):

- 1) El CMVH se adsorbe, por medio de su envoltura, a la superficie de la célula hospedadora
- 2) En pocos minutos se introduce a dicha célula y
- 3) Aproximadamente a los 2 minutos, después de haber penetrado, pierde su envoltura
- 4) Su ADN se transcribe cuando varios mARN que codifican para la producción de varias clases de proteínas, destacando (53, 69, 84):
  - a) Proteínas alfa ( $\alpha$ ) o inmediatas tempranas (IE), expresadas post-infección (P.I.) entre las 2 y las 6 h; éstas toman el control de la síntesis de macromoléculas en la célula hospedadora y codifican para proteínas esenciales en la replicación viral. La regulación de las funciones de las IE significa un paso decisivo en la reactivación del virus.

**Figura 2.** Curva típica de crecimiento viral en comparación con la curva de crecimiento bacteriano



# Figura 3. Proceso de infección del CMVH

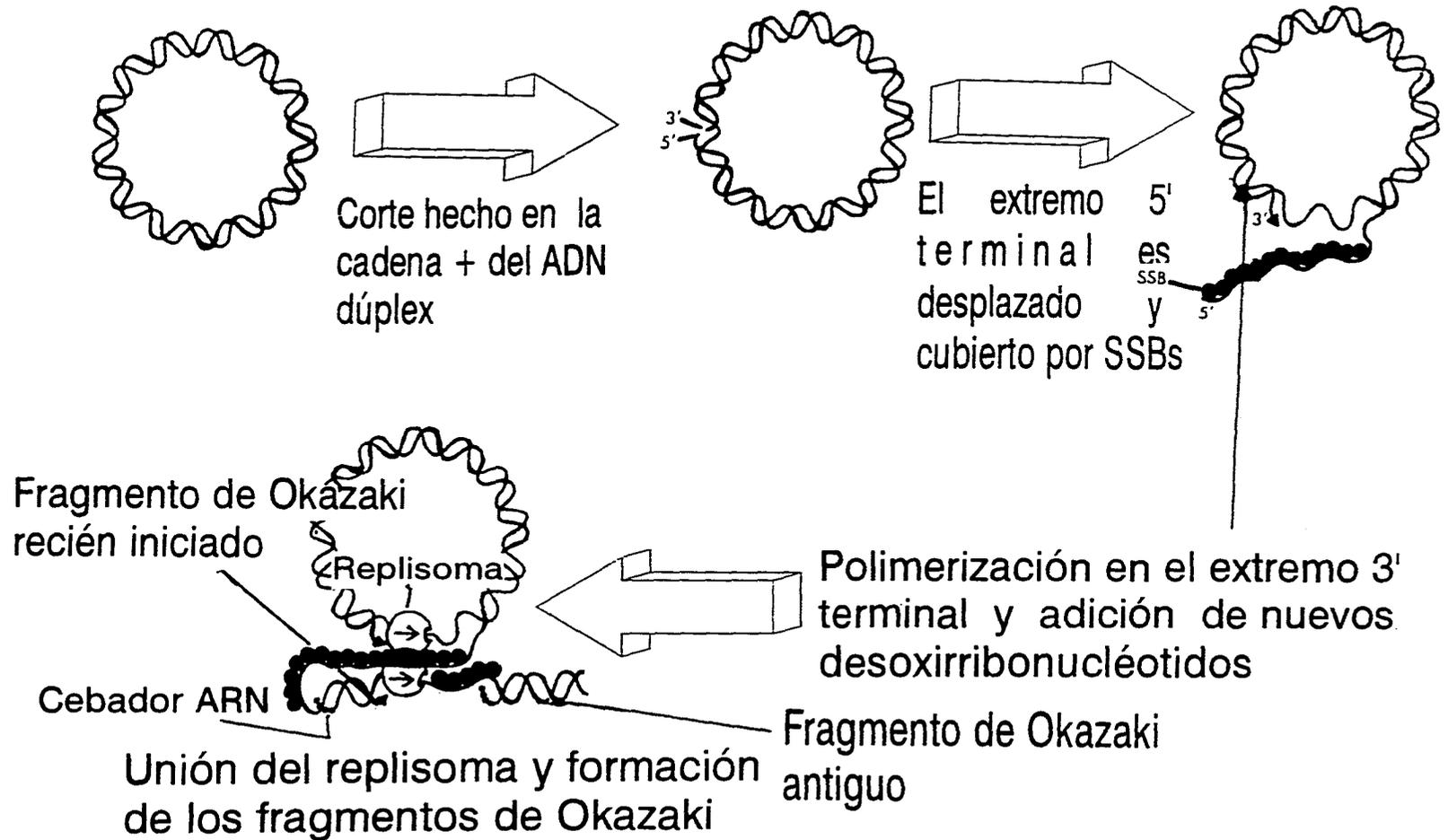


- b) Proteínas beta ( $\beta$ ) o tempranas (E), expresadas entre las 6 y las 24 h P.I., que resultan importantes para la formación de viriones, e inclusive, algunas actúan como polimerasas que catalizan la síntesis de moléculas nuevas de ADN y otras son activadores transcripcionales.
- c) Proteínas gamma ( $\gamma$ ) o tardías (L), producidas después de la replicación del ácido nucleico viral, son polipéptidos estructurales que se ensamblan con ADN recién sintetizado para formar la progenie de numerosos viriones.

Todas las proteínas ( $\alpha$ ,  $\beta$  y  $\gamma$ ) antes señaladas participan en el proceso de maduración y ensamblaje, durante un tiempo promedio de 6 a 8 h y son liberadas de las células (formando parte de los nuevos viriones) para volver a iniciar el proceso infectivo en el mismo u otro tejido (19).

Sin lugar a dudas, la parte medular de los acontecimientos implicados en la infección consiste en la replicación del genoma viral. En el caso del CMVH, dicha replicación se efectúa por "Rolling circle" (círculo rodante), proceso que se realiza en el núcleo celular (Figura 4): la síntesis de ADN se inicia con un corte específico en donde se origina la replicación, concretamente en una región determinada de la cadena (+) del dsADN (dúplex); el extremo 5' es desplazado del dúplex, permitiendo que la ADN polimerasa III agregue desoxirribonucleótidos al extremo 3' OH. Conforme continúa la replicación y, por tanto, la adición de desoxirribonucleótidos al extremo

## Figura 4. Replicación por Círculo Rodante



3', el extremo 5' de la hebra que ha sido cortada se enrolla hacia afuera, incrementando su longitud y convirtiéndose en un ADN de cadena simple (ssADN) unido a proteínas. Cada porción desenrollada del ADN dúplex se estabiliza gracias a la acción de la proteína enlazante de hebras sencillas SSB (un tetrámero cuyas subunidades son de 19 kDa que se une cooperativamente al ssADN). El extremo 5' del ssADN se convierte rápidamente en dsADN por formación de los fragmentos de Okazaki que crecen a partir de los primers de ARN. La actividad que continúa desenrollando al ADN en el extremo 5' es probablemente la reacción de polimerización que ocurre en el extremo 3' por el movimiento del complejo primosoma-Pol III (replisoma) propulsado por los componentes helicasa (65, 95, 102, 117).

El extremo 5' del nuevo dsADN formado, vuelve a conformar el dúplex circular producido por la elongación del mismo extremo, que después de un largo tiempo (6 a 8 h) completa la longitud del círculo original (65, 117).

#### **v. Susceptibilidad a agentes físicos, químicos y biológicos**

El CMVH es lábil a pH bajos, a la acción de solventes lípidos y a temperaturas altas. Su preservación se logra a través de un rápido enfriamiento y almacenamiento a  $-192^{\circ}\text{C}$  en nitrógeno líquido, preferentemente en 30 a 50 % de sorbitol. Su inactivación se efectúa a

-20°C, pero puede lograrse a 4°C, utilizando un refrigerador de temperatura ordinaria (28).

## II. MECANISMOS UTILIZADOS POR EL CMVH PARA EVADIR LA RESPUESTA INMUNE DEL HOSPEDERO

El sistema inmunitario tiene la capacidad para reconocer, eliminar o, en su defecto, controlar las infecciones a que el individuo se enfrenta; sin embargo, bacterias, parásitos y virus han desarrollado mecanismos para evitar ser detectados y, de esta manera permanecer en su hospedador. Por lo que respecta al CMVH, los principales mecanismos que le permiten evadir la respuesta inmune y, con base en ello, lograr la persistencia intracelular, son los siguientes: **1)** autoenmascaramiento vía su unión a proteínas; **2)** mimetismo molecular; **3)** inmunosupresión; **4)** ocultamiento. Evidentemente las dos primeras intentan evitar el contacto viral con el sistema inmune y los dos restantes alteran a éste último, desregulándolo para impedir su correcto funcionamiento (1).

**1) Autoenmascaramiento.** El CMVH puede unirse eficazmente a la beta-2-microglobulina ( $\beta 2m$ ), uno de los componentes de la molécula de clase I del HLA (Antígeno leucocitario humano), a través de dos proteínas de su cubierta viral: la  $\beta 2m$  BP1 ( $\beta 2m$ -proteína de unión 1) y la  $\beta 2m$  BP2, cuyos pesos moleculares son de 36,000 y 65,000 Da, respectivamente; de esta forma, el virus evita ser reconocido por el sistema inmunitario. En este sentido, se ha reportado que aproximadamente 100,000 moléculas  $\beta 2m$  se unen a cada partícula viral,

con lo cual el sistema inmunológico reconoce a ésta como propia (39, 40, 71, 122).

**2) Mimetismo molecular.** Como el término mimetismo lo sugiere, el CMVH genera moléculas semejantes a las del hospedero, con el fin de disminuir la eficacia de las defensas de este último, en su contra.

Un fenómeno que refleja claramente lo anterior es el siguiente:

El virus presenta la capacidad para inducir la producción de Fc $\gamma$ R (receptores para el Fc de las IgG), glicoproteínas de aproximadamente 42,000 Da, que aparecen a las 36 h P.I. sobre la superficie de las células infectadas; en este sentido, la síntesis de dichos receptores para Fc podría residir en genes que forman parte del ácido nucleico viral, o bien, sólo en el cromosoma de la célula infectada; en este último caso, su promotor o desrepressor podría estar contenido en el genoma viral. De cualquier manera, la unión no específica de los anticuerpos (Ac's) IgG (por su porción Fc) a las células infectadas, protegería a la célula hospedadora (y por ende al CMVH) en contra de la lisis asociada a la activación del complemento (C'), o a la acción de los linfocitos T citotóxicos (Tc), e inclusive, en contra de la citotoxicidad celular dependiente de Ac's (ADCC) (1, 34, 101, 106).

Así mismo, la producción de numerosos Fc $\gamma$ R inhibe considerablemente la activación de los linfocitos B, con lo cual disminuye la inmunidad humoral. Ello ocurre debido a que al unirse los IgG (solos) a los receptores, impiden que lo hagan los complejos antígeno (Ag)-IgG y, por

lo tanto, se evita la participación de los segundos mensajeros (fosfatidil inositol,  $\text{Ca}^{2+}$ , AMPc), indispensables para que suceda la respuesta de las células B (34, 59, 106).

El virus posee la capacidad de generar la producción de receptores para las quimiocinas  $\beta$ , tal como lo hacen los leucocitos; en este sentido, el análisis de las secuencias genómicas del CMVH revelan que tres ORF (marcos abiertos de lectura) US27, US28 y UL33 dan lugar a la síntesis de estos receptores, siendo el segundo el que origina los más semejantes a los codificados en el ADN del hospedero. Al unirse las quimiocinas  $\beta$  a los cuantiosos receptores presentes en la célula infectada, aquéllas no llegan a su destino natural: los receptores localizados en la superficie de los leucocitos (linfocitos, monocitos, macrófagos, etc.); por lo tanto, éstos carecen del poder que confieren tales moléculas: desplazarse (por quimiotaxis) hacia donde se les requiere (para liderar la defensa) y generar mayores niveles de AMPc para activar su metabolismo, incrementando su eficacia protectora. Independientemente de lo anterior, se ha demostrado que, al unirse quimiocinas a la célula infectada, se estimula la replicación viral, o alternativamente, se promueve el establecimiento del estado de latencia (4, 36).

**3) Inmunosupresión.** Este mecanismo involucra factores que, de alguna forma, afectan tanto a la inmunidad mediada por células así como a la inmunidad humoral. Aparentemente, esta clase de inmunosupresión reside en efectos nocivos del virus sobre los macrófagos: **a)** al disminuir su metabolismo oxidativo y a los agentes microbicidas lisosomales, indispensables en el proceso de fagocitosis; **b)** al reducir su capacidad

de presentación antigénica, al bloquear la expresión de las moléculas de clase I y II del MHC. En este sentido, es conveniente recordar el papel de los monocitos: inducir, amplificar y regular la respuesta inmune, funciones que son notablemente alteradas según lo antes descrito (66, 86, 88).

Otro ejemplo de inmunosupresión asociada al CMVH, es la disminución de citocinas tales como el interferón (IFN) tipo II y las interleucinas 1 (IL-1) e IL-2. A este respecto, se ha reportado la posible intervención de una proteína viral de peso de 95,000 Da, que puede actuar como intermediario, evitando que las citocinas sean captadas por los linfocitos; es obvio que ello eliminaría la actividad antiviral de las células T (56, 68).

Por su parte, la IL-1 secretada por los macrófagos constituye una señal de activación para las células T, las cuales representan la parte más importante en la respuesta dirigida contra Ag's virales, de manera que una supresión de la misma también reduce la efectividad de respuesta por parte de las células Tc (68, 114).

Por otro lado, el CMVH tiene la capacidad de disminuir la expresión de las moléculas de adhesión, tales como las moléculas de adhesión intracelular-1 (ICAM-1); estas moléculas de superficie se encuentran presentes en los linfocitos y resultan trascendentales en la interacción bidireccional célula-célula, que permite una adecuada comunicación, indispensable para generar la respuesta inmune; lógicamente, los trastornos a este nivel reducen la activación de las células T y ocasionan

un descenso en la vigilancia inmunológica por parte de los linfocitos (6, 42, 43, 114, 119).

Finalmente, se ha demostrado que el CMVH provoca efectos asociados a la supresión de la hematopoyesis de las células progenitoras normales, y a la carencia de la respuesta de las células de médula ósea al GMCSF (factor estimulador de colonias de granulocitos y macrófagos) y al GCSF (factor estimulador de colonias granulocíticas). Como es sabido, las estirpes monocítica y granulocítica poseen actividad antiviral (1, 89).

**4) Ocultamiento.** Diversos virus poseen la capacidad de originar infecciones latentes, que se difunden como infecciones persistentes en las cuales el genoma viral está presente, aunque su expresión genética se encuentra restringida; en el caso del CMVH, dicha expresión depende de los genes IE, que regulan la replicación viral de forma muy controlada (44).

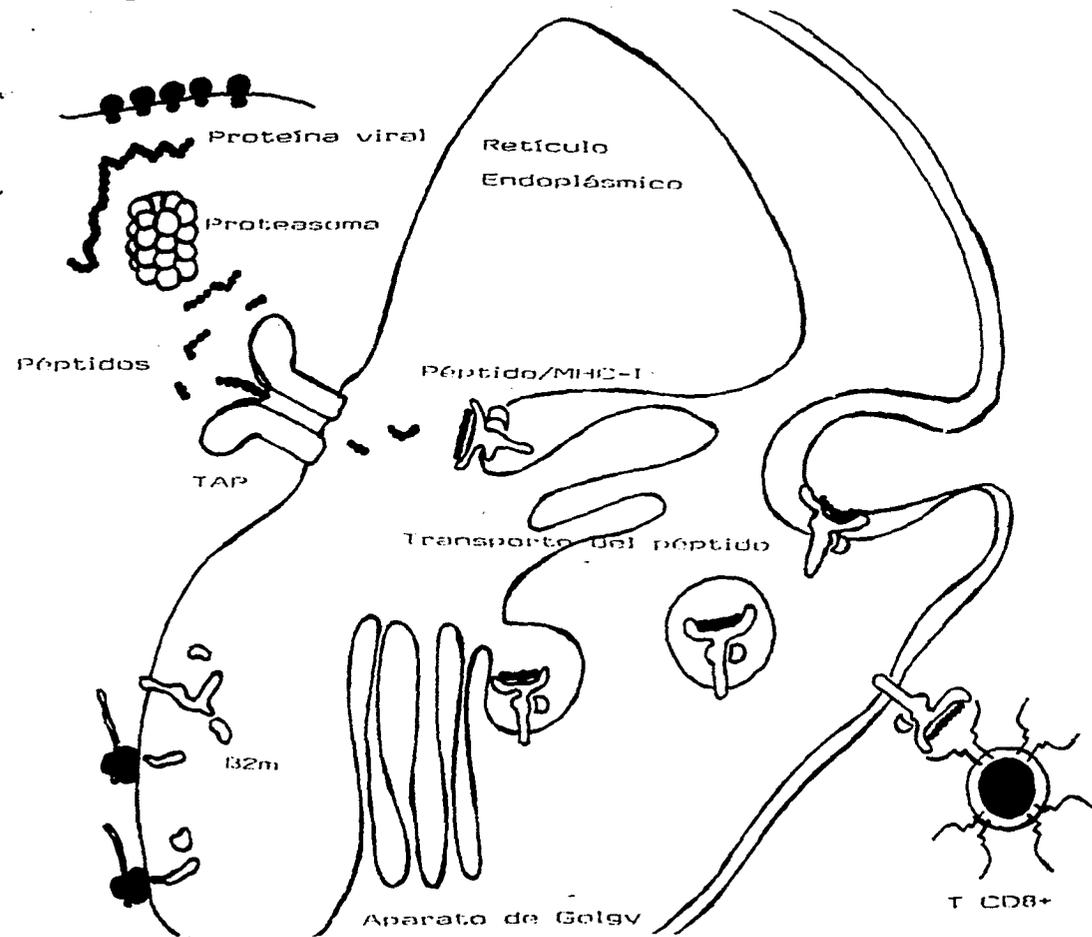
Adicionalmente, algunos experimentos permiten suponer que varias cepas del CMVH presentan mutaciones en su genoma, dando lugar a variantes antigénicas, que evaden el reconocimiento de la respuesta inmune celular en contra de las proteínas asociadas a secuencias anteriores; por ejemplo: los receptores presentes sobre los linfocitos T (provenientes de las clonas activadas) no reconocerán a las nuevas proteínas implicadas en la mutación, de manera que tendrá que volverse a montar la respuesta inmune, dando tiempo para que el virus continúe su replicación (35).

Volviendo a la notable trascendencia de las proteínas IE, otro de sus aspectos importantes en el ocultamiento del CMVH radica en su capacidad para interferir (en las células presentadoras de Ag -APC-) el procesamiento del Ag lo que, sin lugar a dudas, deriva en una inefectiva presentación de este último a los linfocitos Tc especializados. Esta clase de fenómenos tienen origen en los siguientes hechos (14, 15, 24, 37, 53, 82, 83, 85):

- 1) las proteínas IE poseen cualidades intrínsecas que interfieren, selectivamente, algunos pasos del procesamiento (Figura 5) que precede a la entrada del Ag en el retículo endoplásmico (RE); ello se refleja en la indisponibilidad de dichos péptidos para unirse al heterodímero de clase I, ocurriendo una presentación antigénica ineficiente.
- 2) los péptidos derivados de las proteínas IE compiten con los procedentes de otras proteínas del virus, las cuales mostrarían uniones más eficientes a las moléculas del MHC, lo que permitiría la adecuada presentación antigénica de péptidos con capacidad de montar una respuesta inmune menos eficiente en comparación con la elaborada por los péptidos derivados de las proteínas IE.

Otra estrategia de ocultamiento del virus tiene lugar en la alternancia continua: latencia-infección (el paso del virus de una célula a otra, sin entrar en contacto con el espacio extracelular), pues reduce la posibilidad de que el virus sea detectado por el sistema inmune; en este

## Figura 5. Procesamiento y presentación de antígenos virales



proceso participa una proteína viral (gB) que promueve la fusión membranal entre la célula infectada y las que se localizan alrededor de ella (11, 75).

Al margen de todos los mecanismos antes descritos, los cuales resultarían suficientes para evadir y confundir al sistema inmunitario, mención aparte merece el que se señala a continuación: el CMVH ha desarrollado una estrategia especial, a través de la cual afecta directamente la citotoxicidad y la cooperación celular, la cual consiste en **modular la expresión de las moléculas codificadas por el MHC**; en resumen, se trata de un mecanismo que le permite al virus disminuir o aumentar los niveles de expresión de las moléculas de clase I y II (8, 41, 44, 49, 55, 92, 112, 113, 122).

El MHC es una región altamente polimórfica del genoma humano, cuyos productos se expresan en la superficie de una gran variedad de células. El papel central de tales moléculas superficiales es la de fijar péptidos antigénicos extraños para que se pueda generar la respuesta inmune correspondiente, previo reconocimiento de los mismos por parte de los linfocitos T; en este sentido, estos últimos son incapaces de reconocer al Ag si éste se encuentra libre o soluble, pero no cuando se han unido (en forma no covalente) a las moléculas cuya síntesis está codificada en el MHC y que, en concreto, se conocen como moléculas de clase I y de clase II (1).

Sin lugar a dudas, la ausencia de estas últimas en la superficie de las células infectadas restaría al sistema inmunológico las posibilidades de actuar en contra del virus (6, 22, 25, 87).

Entre los agentes virales que poseen la capacidad de disminuir la expresión de las moléculas de clase I, también se encuentran: los Adenovirus tipo 2 y tipo 12, los HSV tipo 1 y 2, el VIH-1, el Pseudorabies (PsV) y el Poxvirus (72, 122).

Sin embargo, en la infección *in vitro* por el CMVH, se ha observado que dicha expresión en la superficie celular, se reduce hasta 46 % (6, 7, 8, 12, 13, 44, 46, 55, 109, 116, 121, 122).

Finalmente, por lo que se refiere las moléculas de clase II del MHC, aún se desconocen los mecanismos virales a través de los cuales se inhibe su expresión, aunque se piensa que podría ocurrir a nivel de la transcripción del mRNA, con la participación de una proteína de choque térmico (hsp70) del hospedero, cuya síntesis dependería de la transactivación de los productos de los genes virales IE, que incluyen a las proteínas IE1, IE2, UL36-38 y US23; éstas impedirían la transcripción de las moléculas de clase II a través de la inhibición del IFN- $\gamma$  (35, 92, 113).

### **III. IMPORTANCIA CLINICA**

#### **i. Patología**

El CMVH se asocia a un amplio espectro de enfermedades, existiendo las que prácticamente son asintomáticas hasta otras que con frecuencia resultan letales. En los estudios asociados a la patología de este virus se han analizado las típicas inclusiones citomegálicas que aparecen en las células de varios tejidos; por tal motivo, a las afecciones correspondientes se les conoce como “de inclusión citomegálica”, considerándoseles como frecuentemente mortales en el término de días o semanas (28, 54).

Los síntomas más comunes en los recién nacidos afectados por el virus son: hepatoesplenomegalia, ictericia, púrpura trombocitopénica, anemia hemolítica y petequias; cuando el niño sobrevive, por lo general presenta disnea y algunas alteraciones de índole neurológico, tales como microcefalia, calcificaciones focales en el cerebro, retraso mental y sordera; la coriorretinitis, comúnmente presente, se confunde con las infecciones congénitas; en E.U.A., se calcula que anualmente nacen 5,000 infantes con complicaciones neurológicas imputables al CMVH (31, 47, 99).

Tanto *in vivo* como *in vitro*, la infección de las células susceptibles provoca que su diámetro crezca notablemente; de aquí que se les asigne el nombre de células citomegálicas, término con el cual también se le conoce al virus (29, 31).

Las personas sanas resultan poco sensibles a la acción patológica del CMVH, por lo cual las infecciones que adquieren suelen ser asintomáticas y detectables sólo por la seroconversión y/o por la eliminación del virus en las secreciones orgánicas. En contraste, los neonatos y los individuos inmunocomprometidos desarrollan con cierta regularidad diversos padecimientos, sobre todo cuando el virus penetra a su organismo durante la gestación, el nacimiento, la lactancia, o bien, previo trasplante de algún órgano o la coexistencia de padecimientos debilitantes como el SIDA (31, 47).

El CMVH se replica principalmente en las células epiteliales del tracto respiratorio, en las glándulas salivales y en el riñón; en este último, las células tubulares liberan virus durante tiempos prolongados. Además, el CMVH se localiza frecuentemente en las secreciones cervicales (especialmente al final del embarazo) y en el fluido seminal (31).

Si bien la patogénesis asociada al resto de los integrantes de la familia *Herpesviridae* se ha definido razonablemente, la que involucra al CMVH aún no se ha logrado determinar con claridad (19).

En general, se considera que las enfermedades ocasionadas por este virus son tan comunes como asintomáticas, aunque su frecuencia resulta notablemente mayor en los recién nacidos, en las personas de los estratos socioeconómicos menos favorecidos (desnutridas) y en los individuos inmunocomprometidos (por recepción de transplantes, cáncer o por adquisición del síndrome de inmunodeficiencia adquirida SIDA ) (19, 33).

Desde el punto de vista del período de vida dentro del cual se adquieren las infecciones por el CMVH, éstas se clasifican como congénitas, perinatales y postnatales (Tabla 1) (19).

#### **a) Infecciones congénitas**

Ocurren durante la gestación, alcanzando cifras globales de hasta 1 % del total de los recién nacidos, en quienes la viruria puede detectarse desde los momentos posteriores al nacimiento. Evidentemente, el virus llega por vía transplacentaria hasta el feto, ya sea que la madre lo haya albergado en forma latente (y lo transmita previa reactivación), lo haya readquirido (recurrente) por vía exógena, o bien, como una clásica infección primaria (33, 97).

Sin embargo, es precisamente en este último caso cuando la infección congénita resulta más grave: la infección primaria materna representa el origen del 40 a 50 % de las virosis por CMVH que se encuentran en los

lactantes y, de todas ellas, hasta en el 5 al 10 % se evidencian síntomas característicos de la enfermedad (28, 33).

**Tabla 1.** Mecanismos de adquisición del CMVH en el humano

| <b>Infeción</b> | <b>Paciente</b>        | <b>Modo de Infeción</b>   |
|-----------------|------------------------|---|
| Congénita       | Feto                   | Atravesando placenta y por ingestión de leche materna                   |
| Perinatal       | Recién nacido          | Contacto en el conducto vaginal e ingestión de leche materna            |
| Postnatal       | Infantes               | Ingestión de leche materna y contacto con saliva u orina de otros niños |
|                 | Niños                  | Contacto con saliva u orina de otros niños                              |
|                 | Adolescentes y adultos | Besos, contacto sexual y transfusiones                                  |
|                 | Receptores diversos    | Transplantes de órganos y transfusiones                                 |

Lo antes mencionado tiene lógica, pues cuando el feto adquiere a un virus reactivado en el organismo de la madre, ésta ya ha formado niveles protectores de anticuerpos durante la latencia y, como es sabido, las IgG también atraviesan placenta, lo que permite neutralizar en un grado considerable al CMVH (32).

### **b) Infecciones perinatales**

Cuando la madre presenta la infección viral durante el embarazo, independientemente de que los viriones podrían transmitirse al feto (infección congénita), el proceso implica la proliferación del CMVH en el útero materno, sobre todo durante los 3 meses que anteceden al parto (28, 31).

En este sentido, el producto también suele adquirir la infección viral durante su paso por el canal vaginal y, adicionalmente, a través de la ingestión de la leche materna (31).

Tal como ocurre en el caso de las infecciones congénitas, los neonatos infectados durante el nacimiento o dentro de las semanas posteriores a él, también llegan a ser asintomáticos, aunque en un considerable número de casos pueden ocurrir las manifestaciones antes señaladas. Ello, desde luego, se debe a la inmadurez de su sistema inmunológico (32).

La infección perinatal por el CMVH se ha detectado en 0.5 a 2.5 % de los recién nacidos en E.U.A. y menos del 5 % de ellos resultan sintomáticos desde el período neonatal (99, 100).

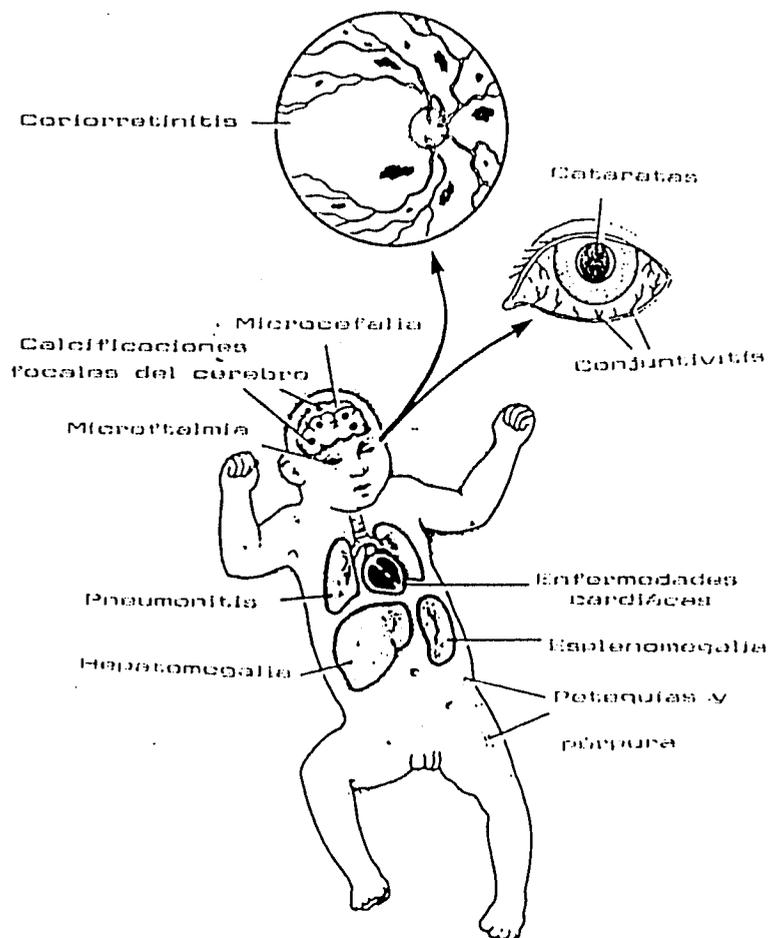
Los neonatólogos acreditan al CMVH como una de las más frecuentes causas del síndrome TORCH, junto con *Toxoplasma gondii*, el virus de la rubéola y el HSV. Las infecciones ocurren en el 1 al 5 % de los neonatos, estimándose que se trata de una enfermedad intrauterina. En el caso del CMVH, la infección ocurre intraparto, como una causa común de enfermedad venérea. Entre los síntomas más prominentes del TORCH (Figura 6) destacan la cataratas y los microftalmos, anomalías que no se detectan al nacer, pero que aparecen durante las primeras semanas de vida; otras anomalías oculares incluyen glaucoma, corioidorretinitis y coloboma de la retina (31, 32, 33, 97).

### **c) Infecciones postnatales**

Aunque este tipo de infecciones se presenta a cualquier edad, los grupos más afectados son los conformados por individuos inmunocomprometidos, figurando aquéllos que reciben transfusiones de sangre o de sus derivados, transplantes de órganos y los que padecen de SIDA (26, 27, 47).

Los lactantes que nacen con bajo peso y reciben sangre proveniente de donadores seropositivos, corren un riesgo muy serio de adquirir alguna afección severa asociada al virus; de hecho, por tal razón, en los

## Figura 6. Consecuencias ocasionadas por el síndrome de TORCH



países desarrollados se selecciona productos sanguíneos seronegativos para CMVH (38, 60).

Por lo que respecta a sujetos de edad avanzada, la infección transfusional suele ser asintomática, si bien algunos llegan a presentar enfermedad hepática leve o un síndrome similar a la mononucleosis (como se describe posteriormente) (29, 31).

Independientemente de que el virus se adquiriera por transfusión o trasplante, los riesgos son mayores cuando los donadores son seropositivos y los receptores seronegativos; ello se debe, incuestionablemente, a que la inmunidad pre-existente ofrece algún grado de protección contra la reactivación o la reinfección; de hecho, hasta el 53 % de los pacientes seronegativos adquiere infecciones primarias sintomáticas por el CMVH, cifra muy parecida a las que se observan en receptores seronegativos de otros órganos sólidos o de médula ósea. No obstante, puede afirmarse que, en individuos transplantados, la frecuencia y severidad de la infección por el CMVH son variables, dependiendo del tipo de trasplante, de la fuente del órgano donado, de las condiciones del sistema inmune del receptor y de la duración de la terapia inmunodepresiva destinada a evitar el rechazo correspondiente (47, 74, 115).

Los síntomas relacionados con este tipo de pacientes incluyen fiebre elevada, leucopenia, trombocitopenia, hepatitis, retinitis, encefalitis y neumonitis; la muerte puede ocurrir por varios tipos de complicación,

incluyendo infecciones secundarias de origen bacteriano, fúngico o parasitario (21, 30, 63).

Como si lo antes mencionado no fuera suficiente, también se sabe que una buena proporción de rechazos a transplantes se atribuye al CMVH; estudios recientes enfocados a transplantes de músculo cardíaco, han sugerido la asociación entre una Vasculopatía Cardíaca Alográfica (CAV) y la infección por el CMVH, las cuales de manera conjunta potencian el proceso de rechazo, debido probablemente a una clásica respuesta proliferativa. Sin embargo, también se ha reportado que la proteína IE-2 del CMVH y la cadena  $\alpha$  del HLA representan epítomos comunes, por lo que los Ac's producidos en contra del CMVH pueden unirse a la cadena del Ag HLA-DR y provocar el rechazo correspondiente; en este último caso se estaría tratando de producción de autoanticuerpos y activación policlonal de células B (49, 62, 66, 74, 115).

La tabla 2 resume las afecciones más relevantes causadas por el CMVH en pacientes adultos (28).

El CMVH es uno de los oportunistas más comunes en infecciones asociadas al SIDA y frecuentemente origina varias patologías recurrentes en individuos seropositivos (27, 64).

**Tabla 2.** Infecciones causadas por el CMVH en adultos

|                              |
|------------------------------|
| Hepatitis                    |
| Mononucleosis                |
| Pneumonitis                  |
| Infección post-transfusional |
| Síndrome post-transplante    |
| Otros posibles síndromes:    |
| Encefalitis                  |
| (Síndrome de Guillain-Barré) |
| Colitis ulcerativa           |

Como se sabe, el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) puede causar descenso en el número de las células mediadoras de la inmunidad celular (principalmente linfocitos T CD4+), carencia en la que también podría participar algún tipo de inmunosupresión generada por el CMVH. De hecho, estudios *in vitro* sugieren que ocurre una potenciación bidireccional de infectividad entre el CMVH y el VIH. Al parecer, la región de los genes IE del primero actúa como un transactivador para varios genes promotores del VIH y, este fenómeno, aunado a deficiencias en la inmunidad celular, aumentaría la virulencia del CMVH en pacientes VIH seropositivos. En este sentido, al realizar las autopsias correspondientes, se ha demostrado que el 50 % de los cadáveres muestra infección por CMVH en múltiples órganos, entre los que se encuentran: las adrenales (75 %), los pulmones

(58 %), el tracto gastrointestinal (30 %), el SNC (20 %) y el tejido ocular (10 %) (27, 47, 64, 73).

Sin embargo, la coinfección entre el CMVH y otros patógenos oportunistas es tan común en los pacientes con SIDA que resultaría muy aventurado atribuir la patología de algún órgano exclusivamente al virus. De hecho, éste, *Pneumocystis carinii* y algunos hongos pueden coexistir en enfermedades pulmonares, así como el HSV, *Toxoplasma gondii* y el VIH lo hacen en varios padecimientos cerebrales (31, 38, 60, 61).

Los hombres homosexuales, especialmente aquéllos que poseen múltiples parejas, figuran entre los que más se exponen al CMVH. Sus manifestaciones clínicas más comunes son la retinitis progresiva y severas colitis que también ocurren como respuesta a otros patógenos gastrointestinales (31, 73).

El número de personas coinfectadas con VIH y CMVH es extremadamente alto (75 a 100 %) observándose que el CMVH suele reactivarse en aquéllos individuos seropositivos cuyas células T cooperadoras (CD4+) han decaído a niveles menores de 200 células/mL. Aproximadamente el 20 % de las personas con SIDA desarrollan enfermedades por CMVH en algún órgano particular (47).

La retinitis por el CMVH se manifiesta generalmente en personas con un compromiso inmunológico severo (menos de 100 células CD4+/mL); de hecho, el 5 % de los individuos con SIDA presentan esta entidad

clínica, la cual se manifiesta como una reducción del campo visual o como "manchas" en la retina que bloquean parcialmente el campo visual (28, 31).

Por su lado, como es bien sabido, otra de las manifestaciones más comunes de los pacientes VIH seropositivos son las infecciones gastrointestinales. En este sentido, es preciso considerar que, cualquier parte del tracto digestivo, el hígado y el sistema biliar, pueden evidenciar lesiones por el CMVH; no obstante, los problemas ocurren con mayor frecuencia en la parte baja del intestino delgado o en el colon, involucrando principalmente a personas que presentan retinitis, aunque también se observan dichas anomalías entre quienes presentan formas menos avanzadas de SIDA (27, 31, 60, 73).

Dichas colitis "inferiores" suelen manifestarse con exanguinación o úlceras persistentes en el colon y el recto, y sus síntomas más comunes son: diarrea persistente, pérdida de peso, anorexia y fiebre. Un diagnóstico de colitis ocasionada por el CMVH requiere diferenciarse de la debida a otros microorganismos que pueden generar síntomas parecidos, destacando *Cryptosporidium*, *Isospora*, *Giardia*, *Entamoeba histolytica*, *Shigella* y *Campylobacter jejuni* (28, 47, 48).

#### **d) Infecciones en hospederos aparentemente sanos**

En los niños y adultos normales (inmunocompetentes), las infecciones primarias por el CMVH suelen ser asintomáticas, pero también pueden

dar lugar a una enfermedad similar a la mononucleosis, la cual cursa con fiebre, temperaturas orales entre los 37.7° y 40.5° C, letargo, mialgias, cefalea y una hepatitis leve (31).

Los cambios típicos en la sangre de pacientes con mononucleosis son, en más del 50 % de los casos, una notable linfocitosis (más de 5,000 células/mm<sup>3</sup>) con abundantes linfocitos atípicos, los cuales permanecen durante una o dos semanas después de los períodos febriles. La linfocitosis puede persistir por meses o años después de la recuperación y la hepatitis subclínica es muy común; en ésta, los niveles enzimáticos se encuentran medianamente elevados (TGO menos 100 U/l) durante 4 a 6 semanas y la bilirrubina disminuye por debajo de los 2.0 mg/dL (31).

Otras complicaciones asociadas al CMVH son raras, aunque incluyen erupciones, hepatitis granulomatosa, síndrome de Guillain-Barré, meningoencefalitis, miocarditis, neumonía, anemia hemolítica y trombocitopenia (54).

Adicionalmente, en la mononucleosis por CMVH, ocurren algunas anormalidades inmunológicas no específicas, que sugieren fenómenos de autoinmunidad; ésto, comúnmente, incluye elevados títulos de IgM, así como de factores reumatoides y Ac's antinucleares; sin embargo, ocasionalmente (en menos del 20 %) también se observan Ac's antieritrocíticos e incrementos en las alfafetoproteínas (AFP) séricas (28).

## **CMVH y Cáncer**

El CMVH comparte diversas propiedades con otros virus oncogénicos, tales como la capacidad para estimular el ADN celular y la síntesis de ARN, e inducir la producción de marcadores oncogénicos como la ornitina descarboxilasa; lógicamente, dicha capacidad oncogénica reside en el genoma viral. Entre los procesos carcinogénicos asociados al CMVH, destacan el carcinoma prostático, adenocarcinoma del colon, el carcinoma cervical y el sarcoma de Kaposi (28, 31, 76).

Cabe precisar que la presencia de información genética del virus en los tejidos tumorales humanos no implica necesariamente que éste haya provocado la neoplasia en cuestión, ya que podría tratarse de una simple infección latente, análoga a la que se ha demostrado en numerosas personas. No obstante, al CMVH se le ha considerado como un carcinógeno o, simplemente, como un pasajero en las células cancerosas (28).

#### **IV. DIAGNÓSTICO DE LABORATORIO**

El CMVH es una de las principales causas de morbilidad y mortalidad en individuos inmunosuprimidos y, paralelamente, un patógeno muy persistente en cerca del 80 % de la población inmunológicamente competente; en este sentido, se requiere contar con métodos de diagnóstico confiables, que conduzcan a deducir rápida y oportunamente la presencia del virus y, con base en ello, poder iniciar una terapia que de alguna manera disminuya los daños que ocasiona a su hospedador (28).

Los principales métodos para poner de manifiesto la infección por CMVH en el humano, se dividen como sigue (31):

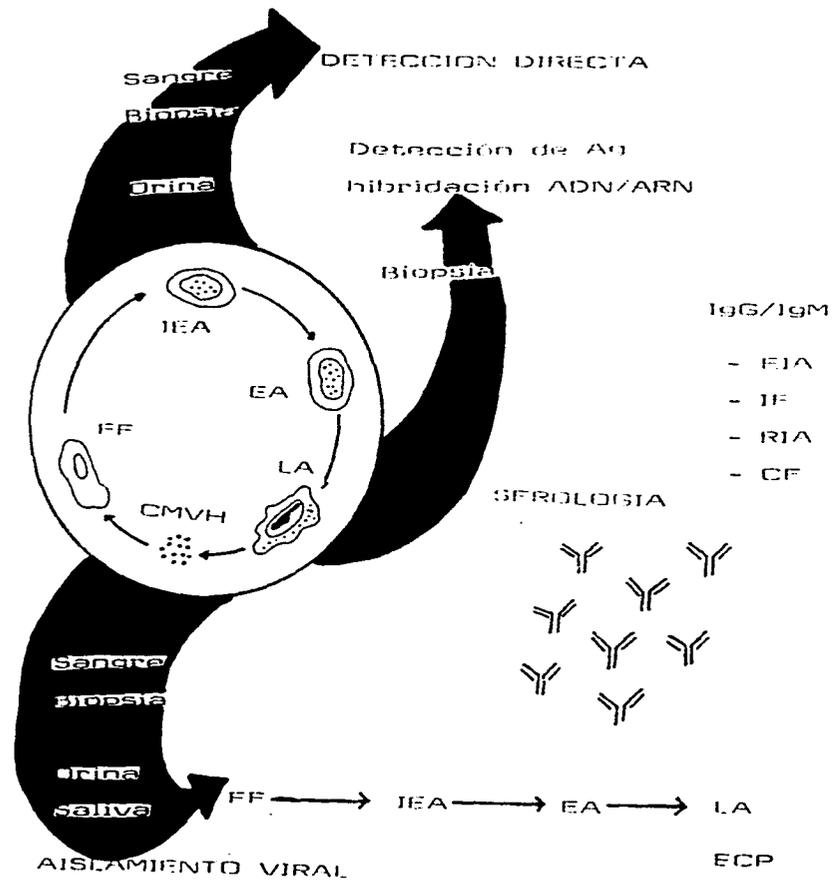
1) Métodos directos

- a) Cultivos celulares
- b) Análisis histopatológico
- c) Técnicas de Biología Molecular
- d) Inmunofluorescencia

2) Métodos indirectos

- a) EIA
- b) Aglutinación en látex
- c) Fijación del complemento
- d) Inmunofluorescencia
- e) RIA

# Figura 7. Muestras involucradas en el diagnóstico del CMVH



## **I. Métodos directos**

En este rubro se agrupan las técnicas cuya finalidad consiste en detectar a los viriones o, en su defecto, a los componentes de éstos, incluyendo sus proteínas estructurales y su ácido nucleico.

### **Muestras involucradas**

El virus y sus componentes pueden ser puestos de manifiesto en una gran variedad de fluidos del cuerpo (Figura 7), entre los cuales se cuentan la sangre periférica, la leche materna, las secreciones de la faringe, los lavados bronquiales, las evacuaciones, las lágrimas, las secreciones cervicales y el semen; sin embargo, la orina, saliva, sangre y secreciones de garganta suelen ser las muestras más comunes para propósitos de diagnóstico directo (28, 31, 45).

Adicionalmente, cabe mencionar que las biopsias, particularmente las de pulmón, riñón, bazo, hígado y retina, también pueden ser procesadas con el mismo fin (31).

#### **a) Cultivo celular**

Entre los métodos de diagnóstico más utilizados, los cultivos celulares se consideran el sistema más sensible para detectar la infección por el CMVH.

La presencia del virus se revela después de sembrar el espécimen correspondiente en líneas celulares de fibroblastos: WI-38, IMR-90; MRC-5 y HFF, los cuales se obtienen a partir de embriones humanos o de tejidos fetales (19, 45).

Una vez transcurrida la incubación, se busca evidenciar el efecto citopático (ECP) clásico, o bien, los viriones y/o su material nuclear.

En el caso de pacientes inmunodeficientes, además de sembrar sus saliva y orina, debe intentarse cultivar sus propios linfocitos ya que, en varios casos, la detección del virus dentro de estas células representa el mejor indicador de una infección asintomática (64).

#### **a.1. Procesamiento previo de las muestras**

El CMVH presenta necesidades de crecimiento especie-específicas estrictas, y su replicación tiene lugar con mayor eficacia en fibroblastos diploides humanos. El virus muestra una estabilidad térmica y química hasta cierto punto impredecible, pero es claro que, de no procesarse inmediatamente después de ser obtenido, el espécimen fresco de cualquier procedencia debe almacenarse en refrigeración, adicionándosele un volumen igual de sacarosa-fosfato 0.4 M (28).

A continuación se señalan algunos de los requisitos relacionados con cada una de las principales muestras (45):

**Orina.** Una vez recolectada, se transporta y mantiene a 4°C por un período máximo de 24 h. Para fines de cultivo, 3 mL de muestra se tratan previamente con 0.5 mL de soluciones de gentamicina (0.5mg/mL) y anfotericina (0.25 mg/mL), empleando como diluyente al Medio Mínimo Esencial de Eagle (MME); finalmente se centrifugan a 1,000 rpm durante 10 minutos, a fin de separar a las bacterias contaminantes (en el sedimento), quedando en el sobrenadante (SN) tanto los viriones como su material nucleico

**Saliva.** Se obtiene con ayuda de hisopos estériles y se resuspende en 2 mL de caldo infusión de ternera; antes de efectuar las siembras, se procesa de la misma manera que la orina.

**Leche materna.** Se colectan aproximadamente 10 mL en un recipiente estéril y se transporta y mantiene a 4°C durante un período máximo de 24 h; posteriormente, se coloca en un tubo cónico de 15 mL y se incuba a 37°C durante 2 a 3 h (para separar las grasas). A continuación se recogen 3 a 5 mL del fondo del tubo y se depositan en otro tubo cónico para centrifugarlos a 800 rpm por 10 minutos; por último, se filtran 1.5 a 2 mL del sedimento (empleando membrana con poros de 45 µ) y, antes de la inoculación, el filtrado se trata de igual forma que la orina.

### **a.2. Siembra de las muestras**

Una vez tratados los especímenes antes mencionados, 0.2 mL del SN (de cada uno) se inoculan por duplicado en tubos de cultivo que contienen células HFF en MME y se procede a incubar a 37°C durante 24 h en atmósfera de 10 % de CO<sub>2</sub>; transcurrido este período, el MME se cambia por medio de mantenimiento (MME + 2 % de suero fetal de ternera) y se lleva a cabo una nueva incubación durante 28 días, bajo las mismas condiciones antes señaladas (31, 45).

Cabe señalar que, recientemente, se ha demostrado que la adición de Ac's anti-β interferón a las líneas celulares, derivan en mayores índices de éxito en el cultivo del virus (103).

### **a.3. Detección de CMVH o de su material nucleico en los cultivos celulares**

Por lo que se refiere a la detección de los viriones y/o de su ADN, los primeros se pueden evidenciar mediante inmunofluorescencia directa y, el segundo, por hibridación o corrimiento electroforético, incluyendo un paso previo de reacción en cadena de la polimerasa. Los fundamentos de estas técnicas se resumen posteriormente (5, 9, 79).

En cuanto a la observación del clásico ECP producido por el CMVH en la línea HFF, éste consiste en la aparición de células refringentes,

redondas, ensanchadas o alargadas; la diseminación de dicho efecto a través de la monocapa es lenta y se lleva a cabo de manera gradual, el tiempo que tarda en evidenciarse es variable, pudiendo observarse a las 24 h o hasta los 28 días, dependiendo de la cantidad de partículas virales presentes en cada espécimen. Por tal motivo, las lecturas correspondientes se realizan tres veces por semana, al microscopio óptico (19,28).

De acuerdo con lo antes descrito, se puede inferir que el cultivo resulta extremadamente laborioso y lento, así como imposible de implementar en la mayoría de los laboratorios clínicos; sin embargo, constituye un método adecuado de detección y su uso es efectivo para dar seguimiento al curso del padecimiento, antes, durante y después del tratamiento antiviral (31).

#### **b) Análisis histopatológico**

La búsqueda de las clásicas células grandes (citomegálicas) con inclusiones basofílicas intranucleares y, en ocasiones, con inclusiones citoplásmicas eosinofílicas, suelen ser parte de las observaciones de rutina en los materiales de biopsia y autopsia. Dichas células son fácilmente distinguibles por su tamaño (10 a 40  $\mu$ ), su escaso citoplasma y su gran núcleo; según los especialistas las inclusiones intranucleares tienen la apariencia de ojo de buho, por encontrarse rodeadas claramente por un halo que se extiende a partir de la membrana nuclear (2, 29).

Aunque la presencia de esta clase de cambios citopatológicos sugieren la infección por CMVH, se aconseja confirmar los resultados mediante otras técnicas directas o por serología (31).

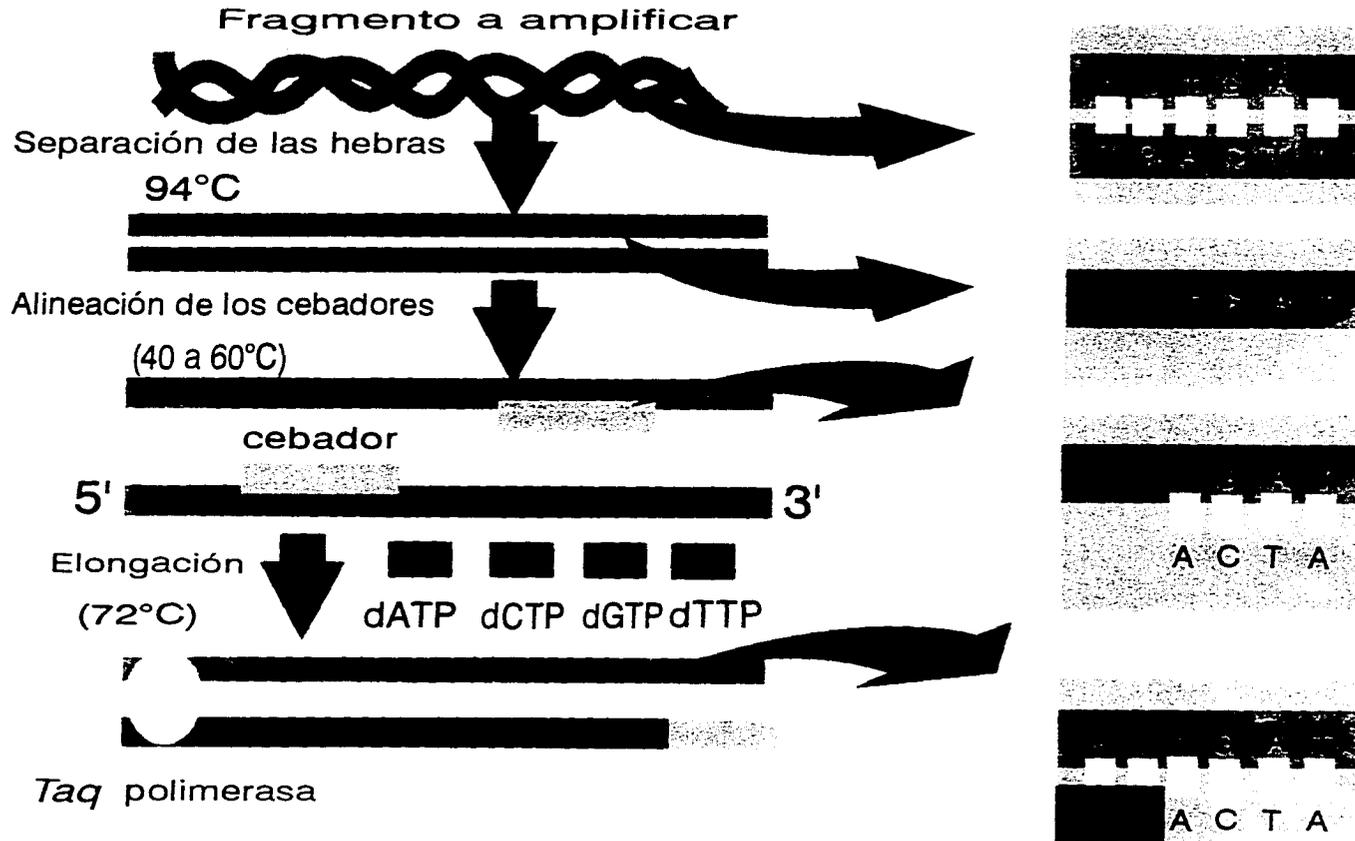
### **c) Técnicas de biología molecular**

La diferenciación de los ácidos nucleicos representa el fundamento de diversos métodos de vanguardia en el diagnóstico de numerosos padecimientos infecciosos, incluyendo los ocasionados por el CMVH (5).

Sin lugar a dudas, las nuevas técnicas de ADN recombinante representan uno de los avances más notables de la Infectología, dado que posibilitan la identificación del agente causal, con elevados índices de especificidad (105).

De hecho, existen bibliotecas de fragmentos de ADN de numerosos patógenos (incluyendo al CMVH), los cuales se han obtenido haciendo uso de enzimas de restricción clonadas en plásmidos. Evidentemente, la sensibilidad de los diversos métodos involucrados, se ha incrementado notablemente, gracias a la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), sin embargo, uno de los principales retos para las técnicas de biología molecular, reside en la posibilidad de detectar y distinguir entre la enfermedad activa y la infección asintomática latente; ello, sin lugar a dudas,

# Figura 8. Principales eventos de un ciclo de ampliación por PCR



aportaría grandes ventajas al diagnóstico de enfermedades y a la prevención de las mismas (5, 50, 107).

### **c.1. PCR**

Entre las técnicas de vanguardia, la PCR destaca por su gran utilidad, ya que logra la polimerización del material genético del virus, permitiendo que las cantidades escasas de ADN no representen una limitante para el diagnóstico (5).

La estrategia consiste en amplificar una secuencia de ADN, por medio de la ADN polimerasa, a partir de una pequeña muestra del ácido nucleico, en presencia de dos oligonucleótidos o cebadores, que delimitan la región que se va a amplificar, uniéndose al extremo 3' de cada una de las cadenas de ADN. El fragmento de ADN sintetizado, generalmente posee de 50 a 2,500 nucleótidos (65, 95).

Cada ciclo de amplificación consta de tres etapas (Figura 8) (23):

1. **Desnaturalización.** La doble hélice de ADN se calienta a 94°C, lo que permite romper los puentes de hidrógeno existentes entre las bases de las dos hebras.

2. **Unión de los cebadores.** La temperatura se disminuye hasta aproximadamente 50°C en presencia de los cebadores. De

esta manera, éstos se unen específicamente en los extremos de la región a amplificar, cada uno en la hebra que le corresponde.

3. Elongación. La temperatura se eleva a 72°C, con lo cual la ADN polimerasa alarga las nuevas hebras de ADN a partir de los cebadores, uniendo nucleótidos trifosfato (dATP, dGTP, dTTP y dCTP).

De estos eventos resultan dos nuevas copias del fragmento de ADN y en el ciclo de amplificación siguiente (que pasa por las mismas tres etapas) estas nuevas hebras servirán, a su vez, de matrices para la ADN polimerasa. De este modo se obtienen  $2^n$  fragmentos después de  $n$  ciclos (23, 65).

La elongación se lleva a cabo por medio de una polimerasa estable a altas temperaturas: *Thermus aquaticus* (*Taq*) (23).

Hasta el momento, la PCR se emplea para amplificar los genes de expresión temprana (IE) del CMVH, haciendo uso de cebadores específicos y dNTP biotinilado; las muestras a analizar pueden ser cultivos celulares (obtenidos tal como se describió con anterioridad), o especímenes clínicos provenientes del paciente (10, 67, 90, 108).

El empleo de cebadores específicos para un determinado fragmento génico presente en todas las variantes del virus, habilita la detección de éste en receptores de transplantes, individuos con VIH e infantes

con infección congénita; ello implica que la variabilidad de las cepas no es un factor limitante para la confiabilidad de la prueba (23, 90, 108).

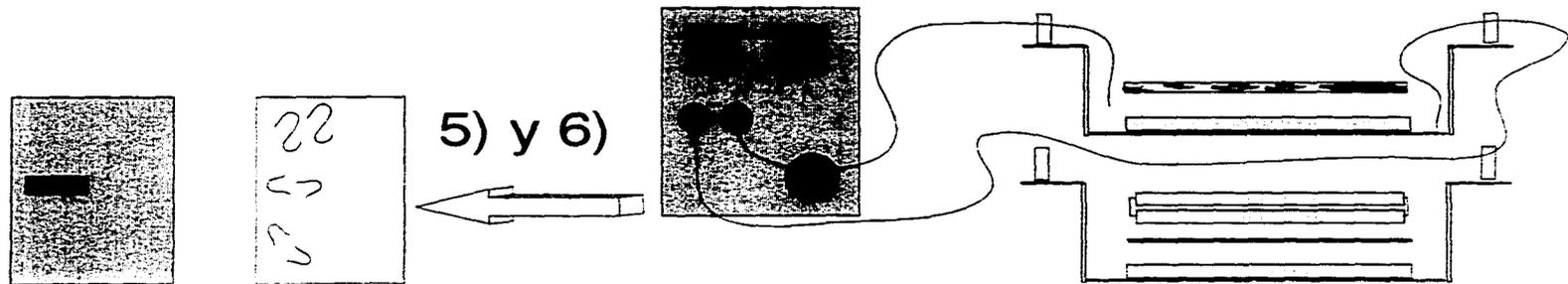
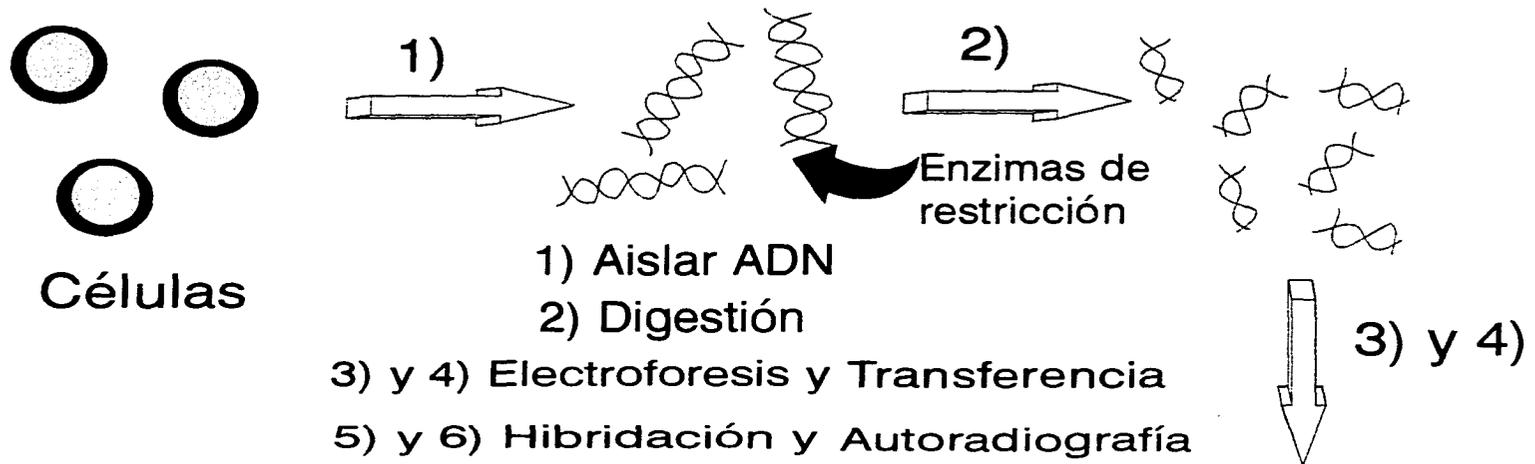
### **c.2. Hibridación, Southern blot e impresión digital**

Una vez aplicada la técnica PCR a los cultivos celulares y a las muestras clínicas, el ADN resultante puede ser analizado y detectado mediante hibridación, Southern blot o impresión digital. En general, los diversos métodos se fundamentan en el hecho de que 2 especies diferentes difícilmente llegan a compartir una secuencia considerable de bases nucleotídicas; por lo tanto, en cuanto al primero de ellos, las cadenas sencillas de ADN o ARN de un determinado microorganismo sólo hibridarán con sondas moleculares que procedan de su misma especie. Lógicamente, dichas sondas presentan las siguientes características: **1)** El analista conoce la especie de procedencia; **2)** Se encuentran marcadas (o se les marca después de la reacción correspondiente) con alguna sustancia que permita poner de manifiesto las reacciones positivas (1, 80, 120).

En cuanto a la segunda característica, es conveniente señalar que los marcadores más utilizados son diversos radioisótopos o la combinación biotina-avidina (80).

Por lo que se refiere al Southern Blot (Figura 9) y a la impresión digital, ambas técnicas se basan en el empleo de enzimas de restricción las cuales, como es bien sabido, rompen las cadenas del ácido

# Figura 9. Principales eventos asociados a la técnica de Southern Blot



nucleico en regiones muy específicas, de manera tal que una hebra determinada reditúa siempre los mismos fragmentos (1).

Posteriormente, los fragmentos resultantes se corren electroforéticamente, dando lugar a un patrón de bandas (impresión digital) que se reproduce con exactitud y que se puede identificar confiablemente al hacer reaccionar estas últimas con Ac's homólogos marcados con biotina-avidina, previa transferencia a nitrocelulosa (90, 110).

Esta clase de técnicas se emplea para realizar la detección del genoma viral en orina, en tejidos de pulmón fijados con formalina, preparaciones de flúidos bronquialveolares y tejidos que manifiestan sarcoma de Kaposi. Para que la técnica se lleve a cabo bajo las condiciones óptimas se requiere el control de las siguientes variables, así como la previa purificación de extractos de ADN o ARN, que permitan aumentar la sensibilidad (9, 10, 26, 31, 76).

#### **d) Inmunofluorescencia**

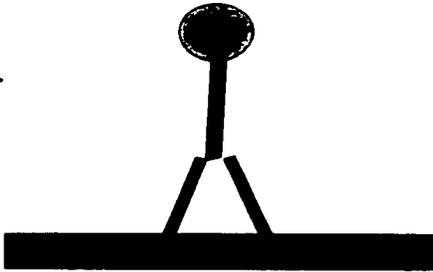
Aunque existen varios equipos comerciales que se basan en la utilización de Ac's policlonales, éstos se han sustituido recientemente por los que usan Ac's monoclonales dirigidos contra los epítopes localizados en el virus. En cualquier caso, dichos Ac's se encuentran marcados con fluoresceína, lo que permite visualizar a los viriones en las extensiones provenientes de cultivos celulares o de muestras clínicas (79, 91, 104).

# Figura 10. Eventos de la técnica de inmunofluorescencia

## DIRECTA

Ac marcado con fluoresceína

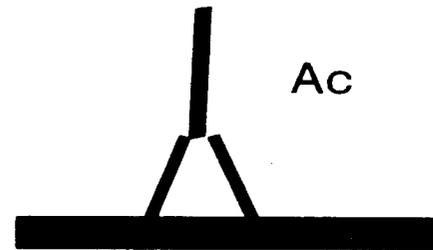
1.



Corte de tejido

## INDIRECTA

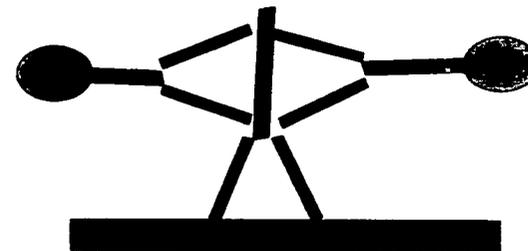
1.



Lavar

Adición del  
Ac anti-Ig

2.



El desarrollo de Ac's monoclonales (mAb) dirigidos contra varias proteínas del CMVH genera una nueva perspectiva en el diagnóstico viral (79, 104).

La inmunofluorescencia (Figura 10) se emplea con frecuencia para detectar Ac's (método indirecto) en contra de Ag's de tejidos y células, o bien, para indentificar Ag's (método directo) por medio de mAb dirigidos contra varias proteínas virales; en este último caso, se emplean distintos patrones de tinción; aunque la técnica es bastante laboriosa, cuando es necesaria una medición cuantitativa de la concentración de Ac's ofrece ventajas. Los especímenes bronquioalveolares, sedimento urinario y leucocitos de la sangre son examinados de esta manera; observándose que la sensibilidad del ensayo aumenta con mezclas o pools de mAb, obteniéndose resultados a varias horas (24 h) después de haber obtenido la muestra. Entre las mezclas utilizadas se encuentran el p63-27, empleado como un sistema de detección rápida para las muestras de orina en neonatos (79, 89, 104).

El uso de mAb no está restringido únicamente a técnicas de inmunofluorescencia, sino que también se puede emplear en técnicas de tinción por inmunoperoxidasa, como es en el caso de la infección activa por el CMVH, pudiendo ser diagnosticada por la detección de antigenemia, la cual constituye un método para el diagnóstico directo, basado en la detección inmunoquímica de Ag's IE en leucocitos de sangre. Esta técnica posee una sensibilidad y especificidad mayor o igual al 90 % y en pacientes sintomáticos del 100 %, lo que le

permite ser usada como un método eficiente para el diagnóstico temprano de la infección, o bien, en el monitoreo de rutina en pacientes con alto riesgo de la enfermedad, para lo cual se requiere de:

- 1) Aislamiento de leucocitos sanguíneos separados por centrifugación;
- 2) Preparación de frotis;
- 3) Tinción con inmunoperoxidasa empleando mAb dirigidos contra los Ag's IE del CMVH y
- 4) Evaluación microscópica (18, 78, 107).

Una variante del método es por medio del uso de mAb dirigidos contra una fosfoproteína de la matriz inferior de 65 kDa (pp65) presente en el núcleo de leucocitos PMN aislados de la sangre periférica, lo que permite detectar al CMVH antes de los síntomas, siendo posible cuantificar, predecir y diferenciar la enfermedad de una infección asintomática. El método es relativamente simple; las células son fijadas, permeabilizadas y teñidas con el mAb dirigido contra la pp65, seguido por incubación con un segundo Ac marcado con peroxidasa de rábano y un cromógeno; o bien, un marcaje con isotiocianato de fluoresceína, en cuyo caso los resultados positivos se manifiestan como una fluorescencia amarilla-verdosa que se distribuye homogéneamente. El frotis se observa al microscopio a 200x y 400x como aumento (73, 79, 107, 111).

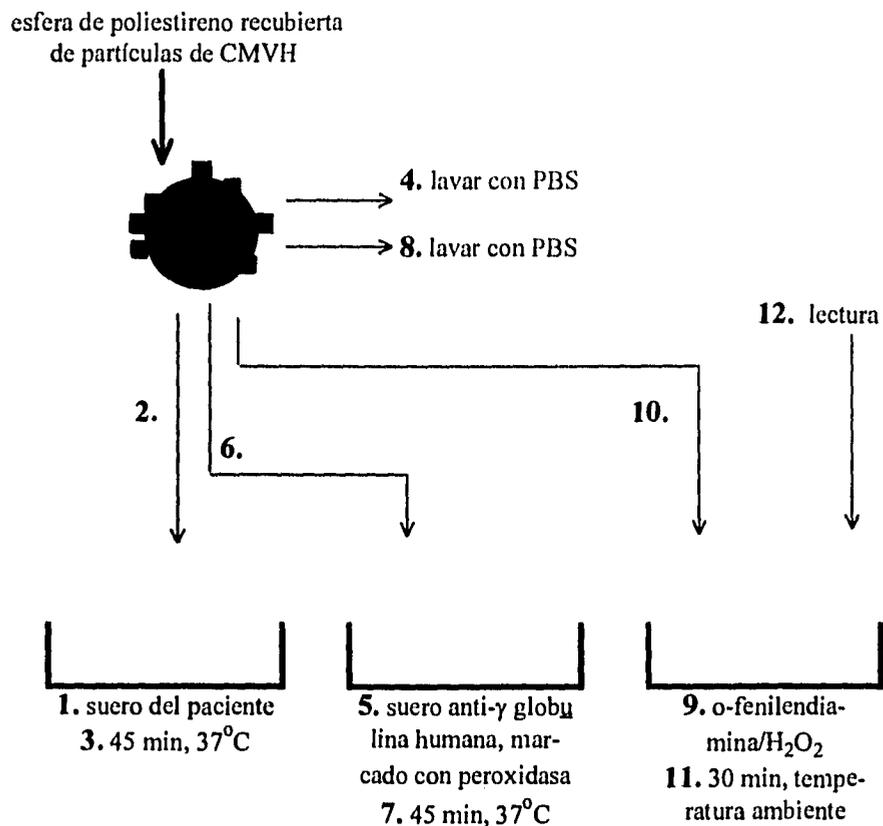
Una de las principales desventajas del procedimiento, es que requiere de una labor intensa y consumo de tiempo en el conteo de células para efectuar el ajuste a  $1 \times 10^6$  células/mL (79).

## **2) Métodos indirectos**

### **a) EIA**

El ensayo inmuno-enzimático (EIA), utiliza una fase sólida a la cual se han adsorbido previamente partículas víricas de CMVH (Figura 11); el sistema se pone en contacto con el suero del paciente, con lo cual los Ac's anti-CMVH (en caso de estar presentes) reaccionarán con su antígeno homólogo (durante la incubación), quedando incorporados de manera estable. Previo lavado con amortiguador de fosfatos (PBS), el sistema se coloca en presencia de una anti-globulina humana marcada con peroxidasa, que se unirá a los Ac's antivirales, permaneciendo aún después de un segundo lavado, por lo que la enzima podrá actuar sobre su sustrato específico al sumergirse la fase sólida en el revelador o-fenilendiamina/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>; el oxígeno nascente (producto de la degradación enzimática del H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) oxidará al compuesto aminado, provocando que éste adquiera una coloración amarilla, indicativa de una reacción positiva. Cabe mencionar que la intensidad de dicha coloración estará en función directa de la concentración de Ac's anti-CMVH en la muestra correspondiente (1, 89, 98).

Figura 11. Ensayo inmunoenzimático aplicado a la detección de Ac's séricos anti-CMVH



### **b) Aglutinación en látex**

Tal como se describió para EIA, partículas virales de CMVH se adsorben a partículas de látex y, de esta manera, el reactivo se distribuye comercialmente. Sobre una placa de vidrio, se mezcla perfectamente una gota de este producto con otra de suero del paciente, con lo cual ocurrirá una aglutinación característica, en caso de que éste último contenga Ac's dirigidos contra el CMVH (28, 89).

En los casos positivos, dichos Ac's podrán cuantificarse, enfrentando el reactivo comercial a diluciones seriadas del suero del paciente.

### **c) Fijación del complemento**

Como es sabido, un complejo Ag-Ac (antígeno-anticuerpo) fija el complemento (C') y ello se puede detectar al adicionar al sistema una suspensión de eritrocitos sensibilizados; en este sentido, productos de lisis del CMVH se distribuyen comercialmente, a fin de ponerlos en contacto con diluciones seriadas del suero del paciente y, posteriormente, adicionar suero fresco de cobayo (como fuente de C') (28, 31, 89).

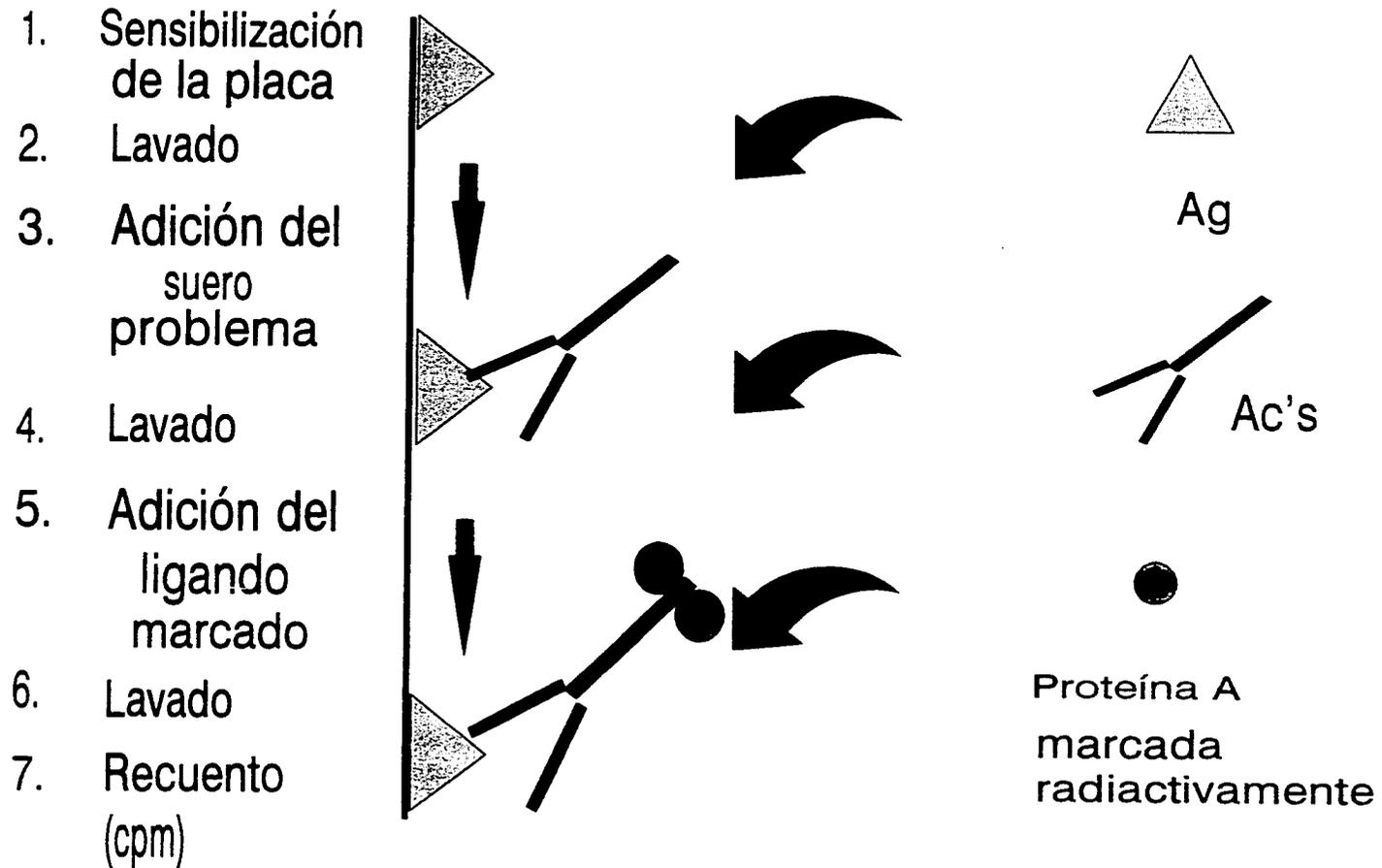
De esta manera, al agregar el revelador (glóbulos rojos de carnero sensibilizados), éste sólo manifestará lisis si la reacción previa entre el producto comercial y el suero del paciente no dió lugar a la formación del complejo Ag-Ac, por carencia de Ac's séricos anti-CMVH.

Evidentemente, cuando se utilizan diluciones seriadas del suero del paciente, el título de Ac's estará dado por el tubo en donde se encuentra la máxima dilución del suero que no provoca hemólisis.

#### **d) RIA**

El método de radio inmuno-análisis (RIA), presenta el siguiente fundamento (Figura 12): el antígeno se une a una fase sólida y, posteriormente, se añade el suero del paciente a fin de que, de contener éste último Ac's anti-CMVH, se incorporen al sistema; su presencia se revelará previa adición de proteína A (de *Staphylococcus aureus*, cepa Cowan I) marcada radiactivamente, ya que ésta última tiene una clara afinidad por la fracción Fc de los Ac's; finalmente, se emplea un contador de centelleo que cuantificará la concentración de éstos, al medir la radiactividad en cpm (1,89,98).

## Figura 12. Eventos asociados a la técnica de RIA



## V. TRATAMIENTO

Desafortunadamente, los avances logrados en el desarrollo de alguna terapia efectiva en contra del CMVH son muy pobres; de hecho, numerosos agentes antivirales se han probado en casos severos de las enfermedades que el virus ocasiona, pero ninguno de ellos ha manifestado una gran eficacia desde el punto de vista clínico (18).

Entre los fármacos antivirales que recientemente se han sometido a investigación, destacan el ganciclovir, cuyo nombre químico es 9-(1,3-dihidroxi-2-propoximetil) guanina y el fosfono-formato; ambos estabilizan o mejoran el estado de los pacientes con retinitis, pero poco o nada ayudan a los que padecen colitis o neumonía. No obstante, si se suspende su administración a los pacientes con SIDA, éstos recaen notablemente (18, 61).

Cabe mencionar que los receptores de trasplantes de médula ósea que llegan a adquirir neumonía, mejoran considerablemente con un régimen basado en la combinación del ganciclovir e inmunoglobulina anti-CMVH a títulos elevados (21, 63, 67).

En cuanto al interferón leucocitario humano, éste se ha empleado sin mayor éxito para prevenir o tratar tanto infecciones congénitas en recién

nacidos como adquiridas por transplante de riñón o de médula ósea (63, 68, 77).

Otros agentes antivirales ineficaces contra el CMVH incluyen al arabinósido de citosina, vidarabina, idoxuridina y aciclovir, los cuales se han empleado en forma combinada entre ellos, e incluyendo la incorporación de interferón leucocitario humano (68, 73, 78).

Por otra parte, también se han elaborado algunas vacunas que prevengan las formas más severas de las enfermedades causadas por el virus en cuestión, incluyendo las infecciones primarias en individuos inmunocomprometidos y los cuadros congénitos que, como se ha señalado, generan graves complicaciones neurológicas; en este contexto, se ha trabajado con las vacunas AD169 y la Towne 125, las cuales se conforman por cepas vivas, pero atenuadas, comprobándose que ambas constituyen buenos inmunógenos y son seguras, aunque la inmunidad que inducen se reduce rápidamente a partir de su aplicación; evidentemente, varios laboratorios se encuentran realizando nuevos estudios con cepas inactivadas (81, 96, 118).

De acuerdo a lo anteriormente señalado, podemos constatar que el tratamiento en contra de las enfermedades ocasionadas por el CMVH aún no está establecido (60).

## CONCLUSIONES

- El CMVH infecta aproximadamente al 80 % de la población mundial, sin manifestarse en los individuos inmunológicamente competentes y ocasionando diversas patologías a recién nacidos, transplantados y pacientes seropositivos al VIH.
- La elevada frecuencia del CMVH en las personas deriva, entre otras razones, de sus diversas vías de transmisión, de sus numerosos mecanismos a través de los cuales evade la acción del sistema inmunológico del hospedero y de la gran cantidad de individuos asintomáticos que lo diseminan entre la población.
- En el caso de neonatos, aunque las enfermedades causadas por el CMVH pueden cursar de forma asintomática, generalmente son evidentes y su gravedad suele depender de la etapa de gestación en la que se adquiere la infección congénita: mientras más temprano ocurra ésta, el daño al feto resultará mayor.
- En cuanto a los individuos transplantados, el CMVH aparenta ser una importante causa de rechazo, principalmente cuando se trata de trasplante renal y trasplante de médula ósea; por su parte, en los pacientes con SIDA ocasiona lesiones en diversos órganos, aunque su

patología no está plenamente comprobada, ya que se detecta en infecciones mixtas, participando junto con otros microorganismos.

- El diagnóstico de laboratorio de las enfermedades debidas al CMVH se realiza mediante cultivo en líneas celulares, pero sobre todo, a través de ensayos inmunoenzimáticos, pruebas de fijación del C' y de aglutinación en látex (como diagnóstico serológico) y, desde hace poco tiempo, con métodos de biología molecular cuya sensibilidad y confiabilidad son óptimas, aunque requieren de equipo especializado.
- Los actuales regímenes terapéuticos y preventivos asociados a los padecimientos debidos al CMVH, aún se consideran inefectivos, aunque la administración de ganciclovir, de la Ig anti-CMVH y de la vacuna Towne 125 han abierto nuevas expectativas para el tratamiento y la profilaxis.

## **BIBLIOGRAFIA**

1. Abbas A.K., Lichtman A.H. and Pober J.S.:  
CELLULAR AND MOLECULAR IMMUNOLOGY  
Saunders Company, 1991.
2. Acton J.D., Kucera L.S., Myrvik Q.N. y Weiser R.S.:  
VIROLOGIA  
Nueva Editorial Interamericana  
México, 1974.
3. Adlish J.D., Lahijani R.S. and St Jeor S.C.: Identification of a putative receptor for human cytomegalovirus, *Virology*, 1990; 176: 337-345.
4. Ahuja S.K., Gao J-L and Murphy P.M.: Chemokine receptors and molecular mimicry, *Immunol Today*, 1994; 15: 281-287.
5. Allen R.D., Pellet P.E., Stewart J.A. and Koopmans M.: Nonradioactive PCR-enzyme-linked immunosorbent assay method for detection of human cytomegalovirus DNA, *J Clin Microbiol*, 1995; 33: 725-728.
6. Barnes D.P. and Grundy J.E.: Down-regulation of the class I HLA heterodimer and  $\beta$ 2-microglobulin on the surface of cells infected with cytomegalovirus, *J Gen Virol*, 1992; 73: 2395-2403.
7. Beck S. and Barrell B.G.: Human cytomegalovirus encodes a glycoprotein homologous to MHC class-I antigen, *Nature*, 1988; 331: 269-272.
8. Beersma M.F.C., Bijlmakers M.J.E. and Ploegh H.L.: Human cytomegalovirus down-regulates HLA class I expression by reducing the stability of class I H chains, *J Immunol*, 1993; 151: 4455-4464.

9. Bettinger D., Mouglin C. and Lab. M.: Rapid detection of active cytomegalovirus infection by *in situ* polymerase chain reaction on MRC5 cells inoculated with blood specimens, J Virol Methods, 1994; 49: 59-66.
10. Boström L., Sundqvist V.-A.: PCR detection of CMV DNA in peripheral blood leucocytes and plasma from BMT recipients, Transplantation Proc, 1994; 26: 1723-1724.
11. Britt W.J. and Vugler L.G.: Processing of the gp55-116 envelope glycoprotein complex (gB) of human cytomegalovirus, J Virol, 1989; 63: 403-410.
12. Browne H., Smith G., Beck S. and Minson T.: A complex between the MHC class I homologue encoded by human cytomegalovirus and  $\beta$  2microglobulin, Nature, 1990; 347: 770-772.
13. Browne H., Churcher M. and Minson T.: Construction and characterization of a human cytomegalovirus mutant with the UL18 (class I homology) gene deleted, J Virol, 1992; 66: 6784-6787.
14. Cameron J.M. and Preston C.M.: Comparison of the immediate early polypeptides of human cytomegalovirus isolates, J Gen Virol, 1981; 54: 421-424.
15. Chang C-P., Vesole D.H., Nelson J., Oldstone M.B.A. and Stinski M.F.: Identification and expression of human cytomegalovirus early glycoprotein, J Virol, 1989; 63: 3330-3337.
16. Chee M.S., Satchwell S.C., Preddie E., Weston K.W. and Barrell B.G.: Human cytomegalovirus encodes three G protein-coupled receptor homologues, Nature, 1990; 344: 774-777.
17. Chou S.: Reactivation and recombination of multiple cytomegalovirus strains from individual organ donors, J Infect Dis, 1989; 160: 11-15.

18. Cinatl Jr. J., Cinatl J., Rabenau H., Gmbel H.O., Kornhuber B. and Doerr H.W.: *In vitro* inhibitor of human cytomegalovirus replication by desferrioxamine, *Antiviral Res*, 1994; 25: 73-77.
19. Coller L. and Oxford J.:  
HUMAN VIROLOGY  
Oxford Human Publications  
U.S.A., 1993.
20. Compton T., Nowlin D.M. and Cooper N.R.: Initiation of human cytomegalovirus infection requires initial interaction with cell surface heparan sulfate, *Virology*, 1993; 193: 834-841.
21. De Graan-Hentzen, Gratama J., Mudde G.C., Verdonck L.F., Houbiers J.G.A., Brand A., Sebens F.W., Van Loop A.M., The T.H., Willemze R. and De Gast G.C.: Prevention of primary cytomegalovirus infection in patients with hematologic malignancies by intensive white cell depletion of blood products, *Transfusion*, 1989; 29: 757-760.
22. Degen E., Cohen-Doyle M.F. and Williams D.B.: Efficient dissociation of the p88 chaperone from major histocompatibility complex class I molecules requires both  $\beta$ 2-microglobulin and peptide, *J Exp Med*, 1992; 175: 1653-1661.
23. Delpech M.: PCR. Un nuevo instrumento para el diagnstico mdico, *La Recherche*, 1993; 13: 174-180.
24. Del Val M., Mnch K., Reddehase M.J. and Koszinowski U.H.: Presentation of CMV immediate-early antigen to cytolytic T lymphocytes is selectively prevented by viral genes expressed in the early phase, *Cell*, 1989; 58: 305-315.
25. Del Val M., Hengel H., Hcker H., Hartlaub U., Ruppert T., Lucin P. and Koszinowski U.H.: Cytomegalovirus prevents antigen presentation by blocking the transport of peptide-loaded major histocompatibility complex class I molecules into the medial-Golgy compartment, *J Exp Med*, 1992; 176: 729-738.

26. Drew W. L.: Multiple infection by cytomegalovirus in patients with acquired immunodeficiency syndrome: documentation by southern blot hybridization, *J Infect Dis*, 1984; 150: 952-956.
27. Drew W. L.: Cytomegalovirus infection in patients with AIDS, *J Infect Dis*, 1988; 158: 449-456.
28. Evans S.A.:  
VIRAL INFECTIONS OF HUMAN. *Epidemiology and Control*.  
Plenum Medical Book Company, 3<sup>a</sup> ed.  
U.S.A., 1991.
29. Fenner F. y White O. D.:  
VIROLOGIA MEDICA  
La Prensa Médica Mexicana, S.A., 2<sup>a</sup> ed.  
México, 1984.
30. Fiala M., Payne J.E., Berne T.V., Moore T.C., Henle W.,  
Montgomerie J.Z., Chatterjee S.N. and Guze L.B.: Epidemiology of  
cytomegalovirus infection after transplantation and  
immunosuppression, *J Infect Dis*, 1975; 132: 421-433.
31. Fields B.N., Knipe D.M.:  
VIROLOGY  
Raven Press Ltd, 2nd ed.  
New York, 1990.
32. Fowler K.B., Stagno S., Pass R., Britt W., Boll T.J. and Alford C.A.:  
The outcome of congenital cytomegalovirus infection in relation to  
maternal antibody status, *N Engl J Med*, 1992; 326: 664-667.
33. Fowler K.B., Stagno S. and Pass R.F.: Maternal age and congenital  
cytomegalovirus infection: screening of two diverse newborn  
populations, 1980-1990, *J Infect Dis*, 1993; 168: 552-556.

34. Frey J. and Einsfelder B.: Induction of surface IgG receptors in cytomegalovirus-infected human fibroblasts, *Eur J Biol*, 1983; 81: 213-216.
35. Fujinami R., Nelson J.A., Walker L. and Oldstone M.B.A.: Sequence homology and immunologic cross-reactivity of human cytomegalovirus with HLA-DR  $\beta$  chain: a means for graft rejection and immunosuppression, *J Virol*, 1988; 62: 100-105.
36. Gao J.L. and Murphy P.M.: Human cytomegalovirus open reading frame US28 encodes a functional  $\beta$  chemokine receptor, *J Biol Chem*, 1994; 269: 28539-28542.
37. Gilbert M.J. and Greenberg P.D.: Selective interference with class I major histocompatibility complex presentation of the major immediate-early protein following infection with human cytomegalovirus, *J Virol*, 1993; 67: 3461-3469.
38. Griffiths P.D. and Grundy J. E.: Molecular biology and immunology of cytomegalovirus, *Biochem J*, 1987; 241: 313-324.
39. Grundy J.E., McKeating J.A. and Griffiths P.D.: Cytomegalovirus strain AD169 binds  $\beta$ 2 microglobulin *in vitro* after release from cells, *J Gen Virol*, 1987; 68: 777-784.
40. Grundy J.E. and Griffiths P.D.:  $\beta$ 2 microglobulin enhances the infectivity of cytomegalovirus and when bound to the virus enables class I HLA molecules to be used as a virus receptor, *J Gen Virol*, 1987, 68: 793-803.
41. Grundy J.E. and Poulter L.W.: Enhancement of class I HLA antigen expression by cytomegalovirus: role in amplification of virus infection, *J Med Virol*, 1988; 25: 483-495.
42. Grundy J.E. and Downes K.L.: Up-regulation of LFA-3 and ICAM-1 on the surface of fibroblasts infected with cytomegalovirus, *Immunology*, 1993; 78: 405-412.

43. Grundy J.E., Pahal G.S. and Akbar A.N.: Increased adherence of CD2 peripheral blood lymphocytes to cytomegalovirus-infected fibroblasts is blocked by anti-LFA-3 antibody, *Immunology*, 1993; 78: 413-420.
44. Hamprecht K. and Steinmass L: Low-dose human cytomegalovirus infection of human fibroblast cultures induces lymphokine-activated killer cell resistance: interferon- $\beta$ -mediated target cell protection does not correlate with up-regulation of HLA class I surface molecules, *Eur J Immunol*, 1994; 82: 171-177.
45. Hernández P. y Demmler G.J.: Diagnóstico por cultivo de tejidos del citomegalovirus, *Infectología*, 1988 (4): 205-231.
46. Hill A., Jugovic P., York I., Russ G., Bennink J., Yewdell J., Ploegh H. and Johnsons D.: Herpes simplex virus turns off the TAP to evade host immunity, *Nature*, 1995; 375: 411-415.
47. Ho M.: Epidemiology of cytomegalovirus infections, *Rev Infect Dis*, 1990; 12: S701-S710.
48. Ho M.:  
**CYTOMEGALOVIRUS: BIOLOGY AND INFECTION**  
 Plenum Medical Books  
 New York, 1992.
49. Housenpud J.D., Chou S. and Wagner C.R.: Cytomegalovirus-induced regulation of major histocompatibility complex class I antigen expression in human aortic smooth muscle cells, *Transplantation*, 1991; 52: 896-903.
50. Hsia K., Spector D.H., Lawrie J. and Spector S.A.: Enzymatic amplification of human cytomegalovirus sequences by polymerase chain reaction, *J Clin Microbiol*, 1989; 27: 1802-1809.
51. Huang E-S., Chen S-T. and Pagano J.: Human cytomegalovirus: I. Purification and characterization of viral DNA, *J Virol*, 1973; 12: 1473-1481.

52. Huang E-S. and Pass R.F.: Molecular epidemiology of cytomegalovirus infections in women and their infants, *N Engl J Med*, 1980; 303: 958-962.
53. Janh G. and Fleckenstein B.: Predominant immediate-early transcripts of human cytomegalovirus AD 169, *J Virol*, 1994; 49: 363-370.
54. Joklik W.K., Willett H.P. y Amos D.B.:  
MICROBIOLOGIA ZINSSER  
Editorial Médica Panamericana, 18ª ed.  
Buenos Aires, 1990.
55. Jones R.T., Hanson L.K., Sun L., Slater J.S., Stenberg R.M. and Campbell E.A.: Multiple independent loci the human cytomegalovirus unique short region down-regulate expression of major histocompatibility complex class I heavy chains, *J Virol*, 1995; 69: 4830-4841.
56. Kapasi K. and Rice G.P.: Cytomegalovirus infection of peripheral blood mononuclear cells: Effects on interleukin-1 and -2 production and responsiveness, *J Virol*, 1988; 62: 3603-3607.
57. Kari B., Radeke R. and Gehrz R.: Processing of human cytomegalovirus envelope glycoproteins in and egress of cytomegalovirus from human astrocytoma cells, *J Gen Virol*, 1992; 73: 253-260.
58. Keay S., Merigan T.C. and Rasmussen L.: Identification of cell surface receptors for the 86-kilodalton glycoprotein of human cytomegalovirus, *PNAS*, 1989; 86: 10100-10103.
59. Keller R., Peitchell R., Goldman J.N. and Goldman M.: An IgG-Fc receptor induced in cytomegalovirus-infected human fibroblasts, *J Immunol*, 1976; 116: 772-777.
60. Kirchner H.: Immunology of infection with human cytomegalovirus, *Adv Cancer Res*, 1983; 40: 31-105.

61. Koretz S.H.: Treatment of serious cytomegalovirus infections with 9-(1,3-Dihydroxy-2-propoxymethyl)guanine in patients with AIDS and other immunodeficiencies, *N Engl J Med*, 1986; 314: 801-805.
62. Koskinen P., Nieminen M.S., Mattila S.P., Häyry P.J. and Lautenschlager I.: The correlation between symptomatic CMV infection and CMV antigenemia in heart allograft recipients, *Transplantation*, 1993; 55: 547-551.
63. Koskinen P. and Lautenschlager I.: Cytomegalovirus infection-associated immune activation in human blood and heart allografts, *Transplantation Proc*, 1994; 26: 1721-1722.
64. Leach C.T. and Cherry J.D.: A longitudinal study of cytomegalovirus infection in human immunodeficiency virus type 1-seropositive homosexual men: Molecular epidemiology and association with disease progression, *J Infect Dis*, 1994; 170: 293-298.
65. Lewin B.:  
GENES V  
Oxford University Press  
U.S.A., 1994 .
66. Lindsley M.D., Torpey III D.J. and Rinaldo Jr C.R.: HLA-DR-restricted cytotoxicity of cytomegalovirus-infected monocytes mediated by Leu-3-positive T cells, *J Immunol*, 1986; 136: 3045-3051.
67. Lisby G., Dessau R., Andersen C.B. and Ladefogen S.: Detection of cytomegalovirus DNA in renal transplant recipients by the polymerase chain reaction, *Transplantation Proc*, 1994; 26: 1726.
68. Lucin P., Pavić I., Polić B., Jonjić S. and Koszinowski U.H.: Gamma interferon-dependent clearance of cytomegalovirus infection in salivary glands, *J Virol*, 1992; 66: 1977-1984.
69. Martinez J., Lahijani R.S. and St. Jeor S.C.: Analysis of a region of the human cytomegalovirus (AD169) genome coding for a 25-kilodalton virion protein, *J Virol*, 1989; 63: 233-241.

70. McDonough S.H. and Spector D.H.: Transcription in human fibroblasts permissively infected by human cytomegalovirus strain AD169, *Virology*, 1983; 125: 31-46.
71. McKeating J.A., Griffiths P.D. and Grundy J.E.: Cytomegalovirus in urine specimens has host  $\beta$ 2microglobulin bound to the viral envelope: a mechanism of evading the host immune response?, *J Gen Virol*, 1987; 68: 785-792.
72. Mellencamp M.W., O'Brien C.M. and Stevenson J.R.: Pseudorabies virus-induced suppression of major histocompatibility complex class I antigen expression, *J Virol*, 1991; 65: 3365-3368.
73. Merigan T.C. and Resta S.: Cytomegalovirus: Where have we been and where are we going?, *Rev Infect Dis*, 1990; 12: S693-S700.
74. Meyers J.D., Flournoy N. and Thomas E.D.: Risk factors for cytomegalovirus infection after human marrow transplantation, *J Infect Dis*, 1986; 156: 478-488.
75. Navarro D. and Pereira L.: Glycoprotein B of human cytomegalovirus promotes virion penetration into cells, transmission of infection from cell to cell, and fusion of infected cells, *Virology*, 1993; 197: 143-158.
76. Nishiyama Y. and Rapp F.: Enhanced capacity of DNA repair in human cytomegalovirus-infected cells, *J Virol*, 1981; 38: 164-172.
77. Nowlin D.M., Cooper N.R. and Compton T.: Expression of a human cytomegalovirus receptor correlates with infectibility of cells, *J Virol*, 1991; 65: 3114-3121.
78. Pérez J.L., De Oña M., Niubo J., Villar H., Meón S., García A. and Martín R.: Comparison of several fixation methods for cytomegalovirus antigenemia assay, *J Clin Microbiol*, 1995; 33: 1646-1649.

79. Pillay D., Charman H., Lok J. and Griffiths P.D.: Detection of cytomegalovirus by a rapid culture system: a comparison of monoclonal antibodies in a clinical setting, *J. Virol Methods*, 1992; 40: 219-224.
80. Polak M.J. and O'D. McGee J.:  
IN SITU HIBRIDIZATION. Principles and Practice  
Oxford Science Publications  
London, 1990.
81. Porath A. and Weigle K.A.: Effectiveness and cost benefit a proposed live cytomegalovirus vaccine in the prevention of congenital disease, *Rev Infect Dis*, 1990; 12: 31-40.
82. Prösch S. and Krüger D.H.: Stimulation of the human cytomegalovirus IE enhancer/promoter in HL-60 cells by TNF $\alpha$  is mediated via induction of NF- $\kappa$ B, *Virology*, 1995; 208: 197-206.
83. Reddehase M. and Koszinowski U.H.: Significance of herpesvirus immediate early gene expression in cellular immunity to cytomegalovirus infection, *Nature*, 1984; 312: 369-371.
84. Reddehase M.J. and Koszinowski U.H.: Late-phase expression of a murine cytomegalovirus immediate-early antigen recognized by cytolytic T lymphocytes, *J Virol*, 1986; 60: 1125-1129.
85. Rice G.P.A., Schrier R.D. and Oldstone M.B.A.: Cytomegalovirus infects human lymphocytes and monocytes: Virus expression is restricted to immediate-early gene products, *PNAS*, 1984; 81: 6134-6138.
86. Rice G.P.A.: Role of a monocyte in cytomegalovirus-mediated immunosuppression *in vitro*, *J Infect Dis*, 1986; 154: 881-884.
87. Riddell S.R. and Greenberg P.H.: Class I MHC-restricted cytotoxic T lymphocyte recognition of cell infected with human cytomegalovirus does not require endogenous viral gene expressions, *J Immunol*, 1991; 146: 2795-2804.

88. Rodgers B.C., Scott D.M., Munding J. and Sissons J.G.P.: Monocyte-derived inhibitor of interleukin 1 induced by human cytomegalovirus, *J Virol*, 1985; 55: 527-532.
89. Roit I., Brostoff J. y Male D.:  
INMUNOLOGIA  
Salvat Editores, S.A., 2ª ed.  
España, 1991.
90. Schrier R.D., Nelson J.A. and Oldstone M.B.A.: Detection of human cytomegalovirus in peripheral blood lymphocytes in a natural infection, *Science*, 1985; 230: 1048-1051.
91. Scott D.M. and Sissons J.G.P.: Human cytomegalovirus and monocytes: limited infection and negligible immunosuppression in normal mononuclear cells infected *in vitro* with Mycoplasma-free virus stains, *J Gen Virol*, 1989; 70: 685-694.
92. Sedmak D.D. and Waldman W.J.: Cytomegalovirus inhibits major histocompatibility class II expression on infected endothelial cells, *Am J Pathol*, 1994; 144: 683-692.
93. Sissons J.G.P., Borysiewicz L.K., Rodgers B. and Scott D.: Cytomegalovirus-its cellular immunology and biology, *Immunol Today*, 1986; 7: 57-61.
94. Smit J.D. and De Harven E.: Herpes simplex virus and human cytomegalovirus replication in WI-38 cells, *J Virol*, 1974; 14: 945-956.
95. Smit-Keary P.:  
MOLECULAR GENETICS: A workbook  
Guilford  
U.S.A., 1991.
96. Solheim B.G., Albrechtsen D.H., Evensen S.A. and Lelvestad T.: Bruck av leukocyttfiltrerte, cytomegalovirus-antistoffnegative of

- bestralte cellulaere blodprodukter, Tidsskr Nor Laegeforen, 1990; 110: 42-45.
97. Stagno S. and Alford C.A.: Congenital cytomegalovirus infection, N Engl J Med, 1982; 306: 945-949.
98. Stagno S. and O'Beirne A.J.: Immunoglobulin M antibodies detected by enzyme-linked immunosorbent assay and radioimmunoassay in the diagnosis of cytomegalovirus infections in pregnant women and newborn infants, J Clin Microbiol, 1985; 21: 930-935.
99. Stagno S. and Whitley R.J.: Herpes infection of pregnancy. Part I: Cytomegalovirus and Epstein-Barr virus infection, N Engl J Med, 1985; 313: 1270-1274.
100. Stagno S. and Alford M.D.: Primary cytomegalovirus infection in pregnancy. Incidence, transmission to fetus, and clinical outcome, JAMA, 1986; 256: 1904-1908.
101. Stannard L.M. and Hardie D.R.: An Fc receptor for human immunoglobulin G is located within the tegument of human cytomegalovirus, J Virol, 1991; 65: 3411-3415.
102. Stryer L.:  
BIOQUIMICA  
Reverté, 3ª ed.  
España, 1990.
103. Swack N.S., Rodriguez J.E. and Jirsa S.: Isolation of human cytomegalovirus using anti-interferon: A decreased incubation period, LabMedica International, 1995; 12: 28-29.
104. Tackaberry E.S. and Brodeur B.R.: Monoclonal anti-idiotypes for the rapid detection of human cytomegalovirus, J Virol Methods, 1992; 40: 175-182.

**ESTA TESIS NO DEBE  
SALIR DE LA BIBLIOTECA**

105. Taylor H.P. and Cooper N.R.: Human cytomegalovirus binding to fibroblasts is receptor mediated, *J Virol*, 1989; 63: 3991-3998.
106. Thäle R., Lucin P., Schneider K., Eggers M. and Koszinowski U.H.: Identification and expression of a murine cytomegalovirus early gene coding for an Fc receptor, *J Virol*, 1994; 68: 7757-7765.
107. The T.H. and Van Son W.J.: Cytomegalovirus antigenemia, *Rev Infect Dis*, 1990; 12: S737-S744.
108. Toyoda M. and Jordan S.C.: Use of polymerase chain reaction to rapidly detect cytomegalovirus DNA in peripheral blood leukocytes of transplant recipients, *Transplantation Res*, 1995; 27: 1272-1273.
109. Tysoe-Calnon V.A., Grundy J.E. and Perkins S.J.: Molecular comparisons of the  $\beta$ 2-microglobulin-binding site in class I major-histocompatibility-complex  $\alpha$ -chains and proteins of related sequences, *Biochem J*, 1991; 277: 359-369.
110. Van den Berg A.P. and The T.H.: Cytomegalovirus infection associated with a decreased proliferative capacity and increased rate of apoptosis of peripheral blood lymphocytes, *Transplantation Proc*, 1995; 27: 936-938.
111. Van del Voort L.H.M., Del Leij L.F.M.H. and The T.H.: Characterization of membrane antigens on human cytomegalovirus-infected fibroblasts recognized by human antibodies, *J Virol*, 1989; 63: 1485-1488.
112. Van Dorp W.T. and Van Der Woude F.J.: Direct induction of MHC class II, expression on endothelial cells by cytomegalovirus infection, *Transplantation*, 1989; 48: 469-472.
113. Von Willebrand E., Pettersson E., Ahonen J. and Häyry P.: CMV infection, class II antigen expression, and human kidney allograft rejection, *Tranplantation*, 1986; 42: 364-367.

114. Waldman W.J. and Sedmak D.D.: *In vitro* induction of endothelial HLA class II antigen expression by cytomegalovirus-activated CD4+ T cells, *Transplantation*, 1993; 56: 1504-1512.
115. Waldman W.J. and Sedmak D.D.: *In vitro* induction of endothelial adhesion molecule and MHC antigen expression, *Transplantation Proc*, 1995; 27: 1269-1271.
116. Warren A.P. and Borysiewics L.K.: Human cytomegalovirus-infected cells have unstable assembly of major histocompatibility complex class I complexes and are resistant to lysis by cytotoxic T lymphocytes, *J Virol*, 1994; 68: 2822-2829.
117. Watson J.D., Hopkins N.H.:  
MOLECULAR BIOLOGY OF THE GENE, Volume I  
The Benjamin/Cummings Publishing Company, Inc. 4<sup>a</sup> ed.  
U.S.A., 1987.
118. Wenz B. and Besso N.: Quality control and evaluation of leukocytedepleting filters, *Transfusion*, 1989; 29: 186-187.
119. White J.M. and Littman D.R.: Viral receptors of the immunoglobulin superfamily, *Cell*, 1989; 56: 725-728.
120. Wigzell H.: The immune system as a therapeutic agent, *Scientific American*, 1993; 269: 95-101.
121. Wiley D.: MHC gene in cytomegalovirus, *Nature*, 1988; 331: 209-210.
122. Yamashita Y., Shimokata K., Mizuno S., Yamaguchi and Nishiyama Y.: Down-regulation of the surface expression of class I MHC antigens by human cytomegalovirus, *Virology*, 1993; 193: 727-736.

*A un Delfín que ha nadado en un mar de adversidades, sin embargo la profundidad de las mismas, no ha sido suficiente para agolarlo; por el contrario, lo ha dotado de una fuerza superior que le permitió vencerlas, lo hizo fuerte y al mismo tiempo capaz de enfrentar aun mayores. Ahora lo he visto hacer piruetas en un Océano, en realidad no sé en cual, pues su cuerpo estaba nadando, pero su alma parecía estar en otro lugar, sin embargo eso ya no importa, lo importante es que ha aprendido a navegar;...*