



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

---

**FACULTAD DE QUÍMICA**

**PERSISTENCIA POR EL VIRUS SINCITAL  
RESPIRATORIO: MODELOS *IN VIVO* E *IN VITRO***

**T E S I S**

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE  
QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO**

**PRESENTA**

**HUGO ANDRÉS RIVAS GUERRERO**



**MÉXICO, D.F.**

**2010**



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:** Profesor: **MARÍA GUADALUPE TSUZUKI REYES**

**VOCAL:** Profesor: **ANA ESTHER AGUILAR CÁRDENAS**

**SECRETARIO:** Profesor: **ROSA ELENA SARMIENTO SILVA**

**1er. SUPLENTE:** Profesor: **NORMA TREJO MEDINA**

**2° SUPLENTE:** Profesor: **ROCÍO GABRIELA TIRADO MENDOZA**

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

BIBLIOTECA DIGITAL BIDI, UNAM. DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGÍA E INMUNOLOGÍA. FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA, UNAM.

## **ASESOR DEL TEMA:**

---

**DRA. ROSA ELENA SARMIENTO SILVA**

## **SUSTENTANTE:**

---

**HUGO ANDRÉS RIVAS GUERRERO**

## **AGRADECIMIENTOS**

A la Universidad Nacional Autónoma de México y a la Facultad de Química, por otorgarme una formación profesional en donde el conocimiento, la cultura y los valores representan un tesoro invaluable. Estoy orgulloso de ser miembro de la comunidad universitaria.

A toda la comunidad de la Facultad de Química, al personal académico y administrativo, les agradezco enormemente su apoyo y colaboración durante mis estudios.

A cada uno de los profesores que me formaron en la ciencia de la Química, los conocimientos, habilidades y valores que me transmitieron son muy valiosos. ¡Gracias totales!

A la Dra. Rosa Elena Sarmiento Silva por la asesoría del presente trabajo.

A los miembros del jurado revisor, profesoras María Guadalupe Tsuzuki Reyes, Ana Esther Aguilar Cárdenas, Rosa Elena Sarmiento Silva, Norma Trejo Medina y Rocío Gabriela Tirado Mendoza, con profunda gratitud y estimación por su tiempo, atención, y por las valiosas y acertadas observaciones realizadas.

Al Programa Nacional de Becas para la Educación Superior por la beca otorgada para terminar este trabajo.

Al Departamento de Microbiología e Inmunología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, UNAM por el apoyo recibido durante la realización del presente trabajo.

## DEDICATORIAS

A Dios por bendecir tanta generosidad y permitirme culminar una etapa importante de mi vida, por otorgarme la fuerza y tenacidad para avanzar siempre. Soy muy afortunado y te doy las gracias por todo lo que me has dado.

A mis amados padres María Nieves y General Agustín, por la vida, el amor, la confianza, el apoyo y el aliento incondicional que me han dado, por la educación y los valores inculcados desde bebé.

Es hora de decir: "MISIÓN CUMPLIDA".

A mis queridas hermanas Julieta y Patricia, con un profundo agradecimiento y amor por su comprensión y paciencia durante mi estancia en la Facultad de Química. ¡El viaje en Londres ha terminado!

A toda mi familia: abuelitos, tías, tíos, primos y primas, por su amor y gran apoyo en todo momento. Con amor para mis abuelitos Leoba Tepale y Joaquín Guerrero, Aurelia Ramírez y Ángel Rivas.

De manera muy especial, con todo el cariño a mis tíos Joaquín Guerrero y María Guadalupe Guerrero (Tía Peranza); y a mis padrinos Juan Meneses y Teresa Guerrero. ¡Todo positivo!

A Mirna Aidee, gracias por tu apoyo, paciencia y confianza incondicional y sincera en todo momento. Este resultado es posible por ti princesa, soy muy afortunado de que estés a mi lado. ¡Te amo!, OSI.

Gracias a todos los colegas de la Facultad, por brindarme su amistad, solidaridad y confianza a lo largo de nuestra formación. Por compartir momentos inolvidables e increíbles en todo este tiempo, de manera especial gracias a mis compañeros de generación.

A la Doctora Rosa Elena Sarmiento Silva por su asesoría, atención, tiempo y el invaluable apoyo otorgado para la realización de este trabajo, ¡muchas gracias tutora!

A la Q.F.B. María Luisa García Padilla por el soporte, la atención y confianza otorgadas desde mi ingreso a la Facultad. ¡Gracias tutora!

Al equipo de trabajo del Departamento de Control Analítico de la Facultad de Química, por el apoyo enorme que me brindaron en todo momento. ¡Gracias profesoras!

A la Lic. Marcela Valadés, por las asesorías, el soporte y la motivación que me proporcionó durante los momentos más cruciales de mi carrera y de mi vida.

A todos los héroes que nos dieron Patria y libertad, como un homenaje por su valiosa labor y sacrificio. Mi admiración, agradecimiento y respeto. En “2010, Año de la Patria. Bicentenario del Inicio de la Independencia y Centenario del Inicio de la Revolución.”

A Fiona por su solidaridad en tantas madrugadas y desvelos.

A mi ángel de la guarda que siempre me acompaña y protege.

# ÍNDICE

## CAPÍTULO

LISTA DE TÉRMINOS Y ABREVIATURAS .....	1
I. INTRODUCCIÓN.....	2
II. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA .....	4
III. OBJETIVO GENERAL.....	4
IV. OBJETIVOS PARTICULARES.....	4
V. HIPÓTESIS .....	5
VI. ANTECEDENTES .....	6
1. VIRUS SINCITAL RESPIRATORIO .....	6
2. CONSIDERACIONES EPIDEMIOLÓGICAS .....	6
3. ESTRUCTURA Y BIOLOGÍA MOLECULAR DEL VSR.....	7
4. CICLO DE REPLICACIÓN.....	10
VII. METODOLOGÍA PARA EL ANÁLISIS DE DATOS.....	12
VIII. RESULTADOS.....	12
1. PERSISTENCIA DEL VIRUS SINCITAL RESPIRATORIO .....	12
2. INFECCIONES VIRALES PERSISTENTES EN HUMANOS .....	22
IX. DISCUSIÓN.....	30
XII. PERSPECTIVAS .....	36
XI. CONCLUSIONES.....	39
BIBLIOGRAFÍA .....	40

## LISTA DE TÉRMINOS Y ABREVIATURAS

DC	Células dendríticas
EPOC	Enfermedad Pulmonar Obstructiva Crónica
HIV	Virus de Inmunodeficiencia Humana
IFN- $\gamma$	Interferón gamma
IL	Interleucina
IRAS	Infecciones respiratorias agudas
mRNA	Ácido ribonucleico mensajero
MHC-I	Región del complejo principal de histocompatibilidad clase I
MHC-II	Región del complejo principal de histocompatibilidad clase II
MV	Virus del sarampión
NS1	Proteína no estructural 1 del VSR
NS2	Proteína no estructural 2 del VSR
NF- $\kappa\beta$	Factor nuclear $\kappa\beta$
PI3K	Fosfoinositol 3-cinasa
siRNA	RNA de silenciamiento
TNF- $\alpha$	Factor de necrosis tumoral alfa
TLR	Receptores tipo Toll
VLP	Partículas similares a virus
VSR	Virus Sincitial Respiratorio
VSRB	Virus Sincitial Respiratorio Bovino

## I. INTRODUCCIÓN

Los virus son elementos genéticos que necesitan a las células para poder reproducirse, por lo que son parásitos intracelulares obligados. Su genoma contiene información genética insuficiente para replicarse de manera independiente (Madigan, 2004). Pueden replicarse independientemente de los cromosomas de una célula, pero no independientemente de dicha célula. A fin de multiplicarse, los virus deben entrar en una célula hospedera, en la cual se aprovechan de la maquinaria metabólica codificada por los cromosomas de la misma.

Así, los virus pueden conferir importantes propiedades a su hospedero. Estas propiedades serán heredadas cuando la célula se divida, si las dos células hijas heredan el genoma vírico. Frecuentemente estos cambios no son dañinos, e incluso pueden ser benéficos.

Los virus tienen una forma extracelular que los capacita para ser fácilmente transmitidos de un hospedero a otro, esta forma les ha permitido a los virus replicarse dentro de un hospedero de una manera dañina. Esta replicación destructiva es la causa de que algunos virus sean agentes causantes de enfermedades.

Las infecciones por el virus sincitial respiratorio (VSR) figuran como la principal causa de muerte en infantes, aunque la mortalidad relacionada con este virus ha disminuido desde el desarrollo y uso de anticuerpos profilácticos, sin embargo, estos tratamientos son muy costosos y se han aplicado únicamente en niños hospitalizados. El VSR también origina bronquiolitis, neumonía y exacerbaciones de enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC) en edad madura, lo cual lleva a tasas substanciales de hospitalización y muerte (Murata, 2008).

Las infecciones por VSR no provocan inmunidad de larga duración, por lo tanto el hospedero humano experimenta a lo largo del tiempo ciclos de infección y re-infección. Afortunadamente, la enfermedad por VSR es leve en personas sanas.

Los mecanismos que contribuyen a una inadecuada resistencia a este virus aun no son bien conocidos, sin embargo las evidencias indican que algunas

proteínas del VSR pueden modular y evadir la respuesta inmune del hospedero (Tripp, 2004).

Este virus infecta principalmente células epiteliales respiratorias, no obstante algunos resultados sugieren que la infección se presenta en ciertas regiones tisulares inmunoprivilegiadas. El VSR puede infectar y persistir en macrófagos alveolares de cerdos de guinea por más de 60 días post-infección (Hegele, Hayashi, Bramley, & Hogg, 1994), en células B de bovinos infectadas (Valarcher et al., 2001) y persistir en los pulmones de ratón por más de 100 días post-infección (Rueda, Garcia-Barreno, & Melero, 1994).

La persistencia de este virus es importante en las enfermedades crónicas y tiene implicaciones en el desarrollo de vacunas eficaces, además de las estrategias para el diagnóstico y tratamiento de estas enfermedades.

Los virus están entre los más numerosos microorganismos de nuestro planeta e infectan a todos los tipos de organismos. Por lo tanto el estudio de los mecanismos de infección virales, permitirá tener herramientas eficaces para prevenir y erradicar su infección.

## **II. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

Dado que el virus sincitial respiratorio es actualmente reconocido como el agente viral más importante de enfermedades pediátricas del tracto respiratorio a nivel mundial y no existe una vacuna para prevenir las infecciones por este virus, es relevante comprender los mecanismos que utiliza para sobrevivir y posiblemente persistir en el hospedero. Por otro lado, cada vez se tiene un mayor número de datos que sugieren la persistencia del VSR en humanos.

Entre las estrategias que generalmente utilizan los virus para evadir la vigilancia del sistema inmune, se encuentran: 1) la multiplicación viral, 2) alterar las funciones de la célula, 3) seleccionar, para permanecer en sitios poco accesibles al sistema inmune (como el Sistema Nervioso Central) o bien en las células del mismo sistema inmune, como macrófagos y linfocitos.

En los últimos años, ha aumentado el interés por estudiar las infecciones virales persistentes, debido al desarrollo de técnicas altamente sensibles para detectar proteínas y ácidos nucleicos, Con estas metodologías se han encontrado virus en pacientes con enfermedades crónicas y/o degenerativas cuya etiología se desconoce, sugiriendo así que estos pueden ser los agentes causales de enfermedades de esta índole.

## **III. OBJETIVO GENERAL**

Analizar en la literatura reportada los mecanismos que utiliza el virus sincitial respiratorio para el establecimiento de la persistencia en modelos de estudio *in vivo* e *in vitro*.

## **IV. OBJETIVOS PARTICULARES**

- Analizar los diferentes mecanismos que utilizan los virus de RNA y DNA para persistir en un organismo.
- Discutir los modelos de persistencia viral más estudiados en virus de RNA y DNA.
- Revisar las evidencias que sugieren persistencia del VSR en modelos *in vivo* e *in vitro*.

- Analizar los requerimientos que permiten el establecimiento de la persistencia viral por el VSR.
- Describir los mecanismos que emplea el VSR para evadir la vigilancia del sistema inmune del hospedero.
- Discutir los posibles sitios de persistencia del VSR, así como su importancia en la patogénesis de enfermedades crónicas en los modelos de estudio *in vivo* e *in vitro*.

## **V. HIPÓTESIS**

El VSR cuenta con mecanismos que le permiten subsistir a la eliminación de la respuesta inmune del hospedero y persistir en lugares privilegiados, modulando diversos procesos celulares.

## **VI. ANTECEDENTES**

### **1. VIRUS SINCITAL RESPIRATORIO**

El virus sincital respiratorio (VSR) fue aislado por primera vez en 1956 en un chimpancé de laboratorio que presentó enfermedad semejante al resfriado común. Poco después, el mismo virus fue recuperado de infantes con enfermedad respiratoria, y los estudios serológicos indicaron que la infección en infantes y en niños era común (P.L. Collins & Crowe Jr., 2007). El VSR actualmente es reconocido como el agente causal más importante de enfermedades pediátricas del tracto respiratorio a nivel mundial. En muchas áreas supera a otros microorganismos patógenos, como los causales de neumonía y bronquiolitis en infantes menores a un año de edad.

Aunque es conocido primordialmente como un patógeno pediátrico, puede infectar y causar enfermedades en individuos de todas las edades y puede ser particularmente serio en población de edad avanzada y en individuos gravemente inmunodeprimidos, como los receptores de trasplante hematopoyético de células madre (P.L. Collins & Crowe Jr., 2007).

### **2. CONSIDERACIONES EPIDEMIOLÓGICAS**

Las infecciones del tracto respiratorio inferior durante la infancia son un factor de riesgo para el desarrollo posterior de padecimientos crónicos de las vías respiratorias en adultos.

Estudios epidemiológicos indican que la frecuencia y severidad de síntomas pulmonares en adultos, están asociados con antecedentes de enfermedad respiratoria severa durante la infancia.

En diversos estudios los cuadros de neumonías en adultos con padecimientos crónicos han demostrado la presencia del VSR en el 50% de los casos (Boeck, 1996).

A nivel mundial, la enfermedad aguda de las vías respiratorias es la causa principal de la mortalidad por enfermedades infecciosas y el VSR sigue siendo uno de los patógenos considerados más importantes para el desarrollo de vacunas.

Las infecciones por el VSR se presentan principalmente en invierno e inicio de la primavera, por lo que no es posible detectar el virus en otras estaciones del año.

En México, la Secretaría de Salud reportó que en 2005 las infecciones respiratorias agudas (IRAS) figuran como la tercera causa de muerte en niños menores de un año, mientras que las IRAS altas en octavo lugar para la misma población (SSA, 2009).

En niños de entre 1 y 5 años de edad, las IRAS bajas resultaron ser la segunda causa de muerte, y las IRAS altas ocuparon el lugar número 17.

En adultos de edad post productiva (65 años), la enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC) fue la cuarta causa de mortalidad, y las IRAS la séptima.

En México las enfermedades respiratorias agudas se encuentran entre las principales causas de muerte en niños menores de 5 años y adultos mayores. Aunque la persistencia del VSR en humanos no se ha demostrado, existen evidencias que la sugieren: a) las infecciones del tracto respiratorio inferior durante la infancia son un factor de riesgo para el desarrollo posterior de padecimientos crónicos de las vías respiratorias en adultos, b) neumonías en adultos con padecimientos crónicos indican en diversos estudios la presencia del VSR en el 50% de los casos, y c) el establecimiento de la infección persistente en condiciones experimentales en diversas líneas celulares.

### **3. ESTRUCTURA Y BIOLOGÍA MOLECULAR DEL VSR**

El VSR tiene un solo serotipo, con dos grupos antigénicos A y B. Es un virus envuelto, su material genético está constituido de RNA de una sola cadena no segmentado de 15385 nt y posee regiones no codificantes: “leader” y “trailer” (Figura 1). Pertenece a la familia *Paramixoviridae*, subfamilia *pneumovirinae*.

El RNA viral codifica para 10 mRNA subgenómicos, cada uno tiene un marco de lectura abierto, excepto M2 el cual contiene dos marcos de lectura abiertos, uno codifica para la proteína M2-1 y otro para M2-2.

De las 11 proteínas codificadas, tres están presentes en la superficie del virión. La proteína F es responsable de la fusión de la membrana viral con la membrana plasmática del hospedero.

La función de la proteína SH es desconocida, aunque es prescindible para la infección viral *in vitro* e *in vivo*. Wilson et al. demostraron que la proteína SH tiene la función de inhibir la apoptosis durante la infección por VSR, al bloquear la señalización de TNF- $\alpha$  (Wilson et al., 2006).

G es una glicoproteína tipo II que se encuentra anclada en la membrana celular, así como en la forma soluble. Se ha considerado que G es la proteína de unión del VSR, en estudios se ha demostrado que los anticuerpos en contra de ella, inhiben la unión del virus (K.-F. R. Levine S, Paradiso PR., 1987). Aunque el receptor celular para el virus actualmente no se ha caracterizado, se tiene conocimiento de la unión de G a heparán sulfato.

No obstante, mientras G tiene una función primordial en la unión, en tejidos de cultivo este proceso también puede estar mediado por la proteína F (Karron et al., 1997).

Como G y F son los dos antígenos protectores principales, es probable que el VSR requiera de ambas proteínas para su eficiente unión y entrada a la célula hospedera (P.L. Collins & Crowe Jr., 2007) .

El VSR también codifica dos pequeñas proteínas no estructurales, NS1 y NS2. NS1 inhibe la inducción de IFN tipo I y NS2 inhibe la señalización de IFN tipo I, activa la cinasa PI3K, y NF- $\kappa\beta$ , además de inhibir el proceso de apoptosis. Se ha reportado que la supresión de algunas de estas proteínas atenúa la infectividad viral *in vivo*, sin embargo, las dos proteínas parecen ser prescindibles para la replicación viral *in vitro* (P. L. Collins & Graham, 2008). Algunos autores han descrito que las proteínas correspondientes en el VSR bovino (VSRB) parecen contrarrestar los efectos antivirales del interferón de tipo I (P.L. Collins & Crowe Jr., 2007).

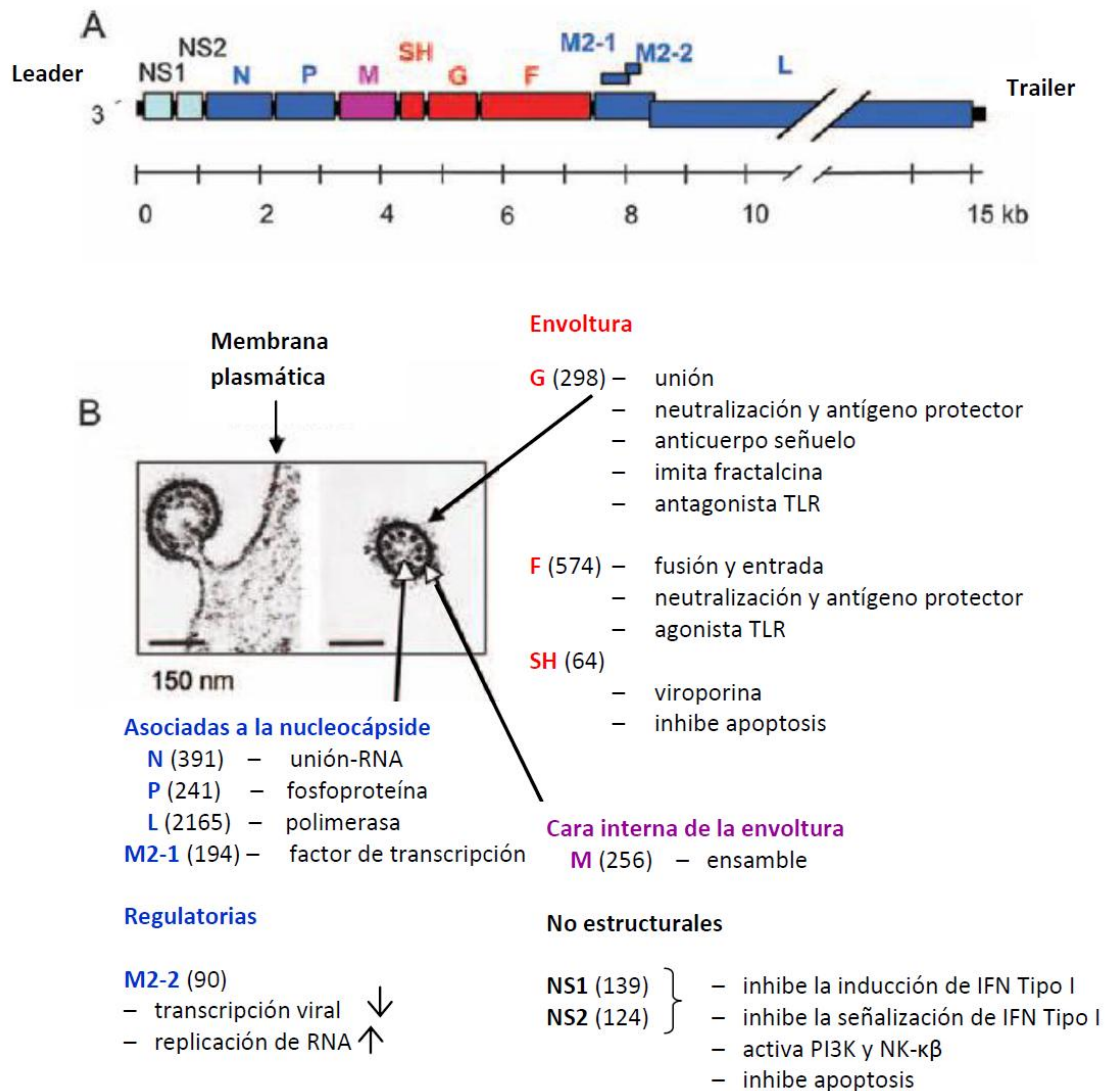


FIGURA 1. Virión del VSR y genoma de RNA. (A) El genoma de RNA de sentido negativo está representado de 3' a 5', mostrando las regiones extragénicas 3' leader y 5' trailer y los 10 genes virales (en rectángulos), de los cuales cada una se expresa como mRNA. M2-1 y M2-2 son marcos de lectura abiertos sobrelapados del mRNA de M2. Los genes M2 y L se enciman ligeramente, y L se expresa por polimerasa en retroceso. (B) Micrografías electrónicas mostrando la desenvoltura del virión de VSR a través de la membrana plasmática de una célula infectada (izquierda) y un virión libre (derecha). Se indican las funciones de las proteínas y longitud de aminoácidos en paréntesis. (Modificado de P. L. Collins & Graham 2008 (P. L. Collins & Graham, 2008)).

TABLA 1. Características de las proteínas del Virus Sincitial Respiratorio. Adaptado de Hall, C.B., 2001 (Hall, 2001).

PROTEÍNA	PESO MOLECULAR (kilodaltones)	FUNCIÓN
<b>Proteínas Estructurales</b>		
<b>Superficie</b>		
<b>Fusión (F)</b>	68	Penetración, principal protección antigénica
<b>Unión (G)</b>	90	Unión del virus, principal protección antigénica
<b>Hidrofóbica pequeña (SH)</b>	4.8-30	Inhibición de la apoptosis
<b>Matriz (M)</b>	28	Media la unión de la nucleocápside de la envoltura
<b>Pequeña envoltura (M2)</b>	22	Regulación transcripcional
<b>Asociadas a la nucleocápside</b>		
<b>Nucleoproteína (N NP)</b>	44	Principal proteína unión a RNA
<b>Fosfoproteína (P)</b>	37	Principal proteína fosforilada, actividad de polimerasa dependiente de RNA
<b>Complejo polimerasa largo (L)</b>	200	Proteína asociada a la nucleocápside, principal subunidad de polimerasa, actividad de polimerasa dependiente de RNA
<b>Proteínas No estructurales</b>		
<b>No estructural 1(NS1)</b>	15.6	Inhibe la inducción de IFN tipo I
<b>No estructural 2(NS2)</b>	14.7	Inhibe la señalización de IFN Tipo I, activa la cinasa PI3K, y NF- $\kappa$ B. Inhibe la apoptosis.

#### 4. CICLO DE REPLICACIÓN

La unión del VSR a las células ocurre principalmente por la vía de dominios con unión a heparina de la proteína G, con los glucosaminoglicanos de superficie celular (Bourgeois, Bour, Lidholt, Gauthray, & Pothier, 1998; Feldman, Hendry, & Beeler, 1999; Krusat & Streckert, 1997). La proteína G no se requiere para la unión del virión, ya que las cepas mutantes del virus con delección de los genes G o SH han demostrado infectar células a través de la interacción con la proteína F (Karron, et al., 1997; Techaarpornkul, Collins, & Peeples, 2002; Teng, Whitehead, & Collins, 2001; Tripp et al., 1999).

Sin embargo, la proteína G parece ser necesaria para la eficiente replicación del virus *in vivo* (Teng, et al., 2001).

Después de la fusión del virión con la membrana celular del hospedero y la penetración mediada por la proteína G, la nucleocápside es liberada dentro del citoplasma (Arslanagic et al., 1996; Hierholzer & Tannock, 1986; H. R. Levine

S, 1969; Routledge et al., 1987), donde la proteína L inicia la transcripción viral y procede la replicación (Fearn & Collins, 1999).

La transcripción del mRNA ocurre en sentido 3' a 5' a partir de un promotor sencillo cercano al extremo 3', resultando en una serie de mRNAs subgenómicos (Dickens, Collins, & Wertz, 1984; Harmon, Megaw, & Wertz, 2001; Huang, Collins, & Wertz, 1985; Krempl, Murphy, & Collins, 2002; Kuo, Grosfeld, Cristina, Hill, & Collins, 1996).

Los mRNAs pueden ser detectados 4 horas post-infección en un pico de síntesis de mRNA y la expresión proteica que ocurre entre las 12-20 horas post-infección. Es importante destacar que el nivel de proteína expresado está relacionado con la abundancia de mRNA (Dickens, et al., 1984), de esta manera hay una disminución en los niveles de mRNA proporcionales a la distancia del gen desde su secuencia promotor.

Los viriones se ensamblan en la membrana plasmática, a donde la nucleocápside se aproxima a la membrana que contiene glicoproteínas virales. Los viriones maduran en grupos en la superficie apical en una forma filamentosa asociados con caveolina-1 y se extienden desde la membrana plasmática (Brown, Aitken, Rixon, & Sugrue, 2002).

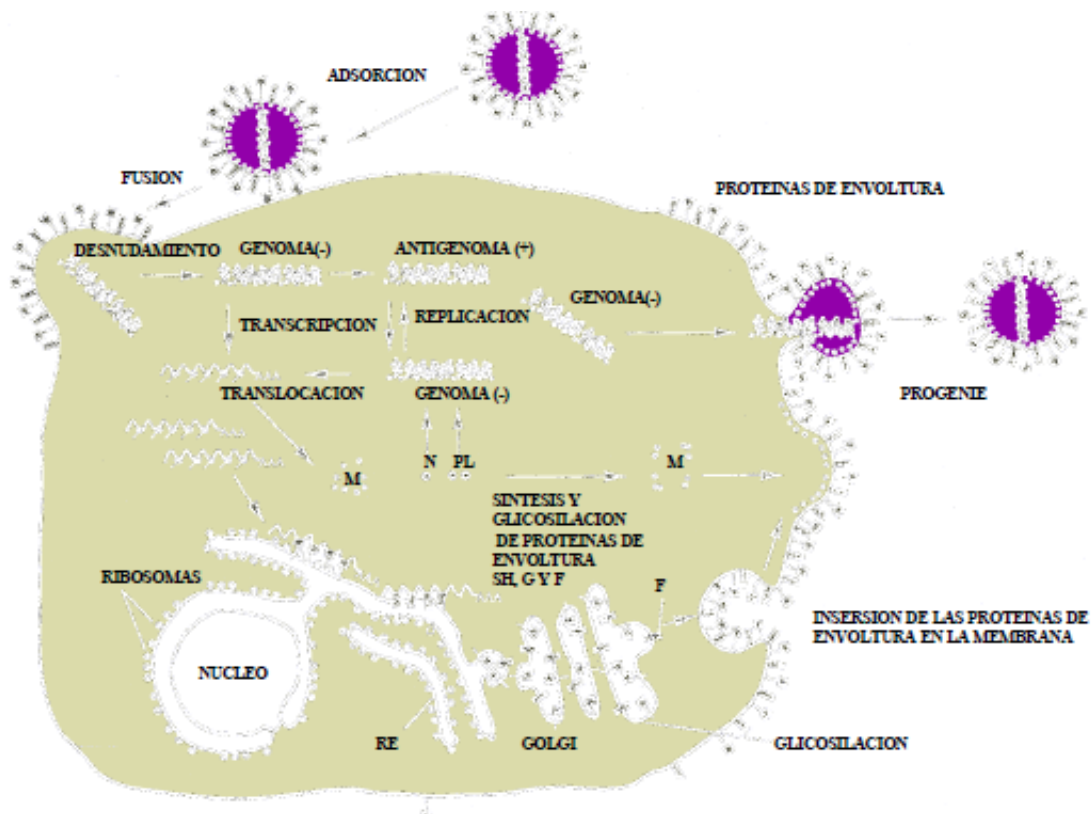


FIGURA 2. Ciclo de replicación del virus sincitial respiratorio

## **VII. METODOLOGÍA PARA EL ANÁLISIS DE DATOS**

Se efectuó una revisión en la literatura, desde los primeros reportes sobre persistencia viral por el VSR, hasta datos recientes que presentan la evidencia de la misma.

## **VIII. RESULTADOS**

### **1. PERSISTENCIA DEL VIRUS SINCITAL RESPIRATORIO**

Las infecciones virales se caracterizan por presentarse en forma aguda o persistente. En la enfermedad aguda el cuadro clínico es evidente, la respuesta inmune del hospedero controla la multiplicación del virus, los síntomas y signos desaparecen y posiblemente se elimina el agente infeccioso. En cambio en las infecciones persistentes, la desaparición de los síntomas y signos no siempre va acompañada de la eliminación del agente infeccioso, el virus permanece en el organismo a pesar de que el hospedero responde al proceso infeccioso y por lo general la respuesta inmune es permanente.

Las infecciones virales persistentes a diferencia de las agudas, donde el virus permanece por corto tiempo en el organismo, favorecen daños patológicos por tiempos prolongados.

Para que un virus permanezca en el organismo es necesario que sea capaz de infectar a la célula sin producir muerte celular y que éste pueda evadir su detección y eliminación por el sistema inmune del hospedero (de la Torre, Borrow, & Oldstone, 1991).

La persistencia por el VSR en humanos es un área de gran interés, debido a que se sospecha de la participación de este virus en procesos de hiperreactividad crónica. Padecimientos como enfermedad obstructiva crónica y dificultad para respirar, se han asociado con bronquiolitis debida a la infección por VSR (Piedimonte, 2002).

Aunque la persistencia del VSR en humanos no está claramente demostrada, existen observaciones que lo sugieren: 1) el virus se ha aislado de la nasofaringe de niños aparentemente sanos (Isaia et al., 1985); 2) se ha

detectado al antígeno viral en osteoclastos y células de pacientes con la enfermedad de Paget (Mills & Singer, 1987; Mills, Singer, Weiner, & Holst, 1981; Mills et al., 1984); 3) en análisis post-mortem de tejidos de niños se ha encontrado RNAm viral, durante los meses en los cuales no es posible aislar al virus y puesto que el humano es el único hospedero natural se sugiere la persistencia (Cubie, Duncan, Marshall, & Smith, 1997); 4) las constantes reinfecciones en niños y los casos reportados de bronquitis obstructiva crónica y bronquitis recurrente (Krivitskaia & Iakovleva, 1992; Krivitskaia, Iakovleva, & Aleksandrova, 1996; Mikhalchenkova, Kniazeva, & Slepshkin, 1987); 5) persistencia del virus en pacientes con inmunodeficiencia: enfermos de VIH y en niños con inmunodeficiencias congénitas (P.L. Collins & Crowe Jr., 2007; Openshaw, 1995; Wyde, 1998) y 6) evidencia *in vivo* de infección persistente por el VSR en linfocitos de pacientes infantiles que adquirieron al VSR en forma natural (Domurat, Roberts, Walsh, & Dagan, 1985).

Por otro lado, la persistencia del VSR bovino se ha reportado en su hospedero natural. El VSR humano y el bovino están altamente relacionados, ya que los anticuerpos contra el VSR humano reaccionan con el VSR bovino (Valarcher, et al., 2001), y también existe alta homología en la secuencia de las proteínas no estructurales NS1 y NS2 (de 69% y 84% respectivamente (Bossert & Conzelmann, 2002)).

Actualmente se cuenta con modelos de estudio de persistencia por el VSR a nivel experimental.

Modelos de estudio *In vivo*: 1) en el modelo animal de cobayo se ha documentado que durante la infección por el VSR, es posible detectar la presencia del genoma y proteínas del virus en pulmón aún después de que el cuadro agudo desaparece (Hegele, et al., 1994). 2) Otros reportes indican que es posible detectar la presencia del genoma del VSR hasta 6 meses después de la infección y recuperación del virus infeccioso en presencia de altos títulos de anticuerpos (Dakhama, Vitalis, & Hegele, 1997; Streckert, Philippou, & Riedel, 1996).

Modelos de estudio *In vitro*: 1) En infecciones de células HEp-2, BSC1 y Linfocitos B (humano) se observó disminución en la producción de virus extracelular con respecto a una infección aguda, no se observó muerte celular en estos cultivos y por técnicas inmunocitoquímicas se detectó la presencia de

antígenos virales en las células infectadas (Baldrige & Senterfit, 1976; Bangham & McMichael, 1986; Iankevich & Dreizin, 1977; P'Ringle C, Shirodaria, Cash, Chiswell, & Malloy, 1978). En la línea celular de fibroblastos de ratón (Balb/C) infectada persistentemente se reportó un alto porcentaje de células que expresaron antígeno viral y la producción de virus infeccioso extracelular en bajos niveles (Ferne, Ford, & Gerin, 1981). 3) Bangham et al. describió en 1986 (Bangham & McMichael, 1986) la persistencia del VSR en una línea celular de origen linfoide (células B de linfoma de ratón), con resultados similares a los obtenidos por Fernie (Ferne, et al., 1981).

En la línea celular de macrófagos murinos P388D1 (Sarmiento, Tirado, & Gomez, 2002) se reportó un alto porcentaje que expresó antígeno viral, así como la identificación de una variante viral no citopática (Sarmiento, Arias, Mendez, & Gomez, 2009). También se han encontrado infecciones virales persistentes en la línea celular A519 de origen humano, en la cual se detectaron altos niveles de IL-8, lo cual estaría relacionado con la hiperreactividad en los padecimientos crónicos (Tirado, Ortega, Sarmiento, & Gomez, 2005).

Las infecciones virales pueden clasificarse en diferentes categorías basadas en los niveles de virus infeccioso detectable en el organismo, durante varios momentos de la infección viral:

- I. Infección aguda seguida de la eliminación del virus por la respuesta inmune del hospedero.
- II. Infección aguda seguida por una infección latente en la cual el virus persiste en forma no infecciosa con periodos intermitentes de reactivación y producción de virus libre. Estos virus pueden causar infección productiva bajo ciertas condiciones en algunas células e infección no permisiva en otras. En esta clase de infecciones es importante reconocer el mecanismo por el cual el potencial efecto citopático de estos virus se limita, cómo pueden establecer un estado de latencia, cómo se mantiene la forma latente y cómo es que se reactiva.
- III. Infección aguda seguida de una infección crónica en la cual el virus infeccioso continuamente está presente en los tejidos infectados. Las infecciones crónicas pueden establecerse si la respuesta inmune del hospedero no es capaz de eliminar al virus producido durante la infección

aguda. La infección productiva de algunas células del hospedero puede estar seguida de la infección de células que son menos permisivas.

### *Mecanismos de Persistencia Viral.*

Para que un virus permanezca en el organismo es necesario que se cumplan tres condiciones generales. *Primero*, un virus debe ser capaz de infectar células sin producir efecto citopático. *Segundo*, debe haber mecanismos que permitan el mantenimiento del genoma viral dentro de la célula hospedera y *tercero*, que el virus pueda evadir la detección y eliminación por el sistema inmune del hospedero.

Los virus han desarrollado diferentes estrategias para el establecimiento de la persistencia: restricción del efecto viral citolítico, infección de células no permisivas, generación de variantes virales, mecanismos para mantener al genoma viral dentro de la célula y evasión del sistema inmune.

#### Restricción del efecto viral citolítico

Un requerimiento básico para la persistencia viral es la sobrevivencia de un número crítico de células infectadas. Un virus puede persistir solamente si no la mata o si no produce un daño considerable. Por ejemplo, muchos Arenavirus pueden replicarse en una célula sin matarla y sin afectar su tasa de crecimiento, este fenotipo no lítico permite a muchos Arenavirus sobrevivir en la naturaleza provocando infecciones crónicas en sus hospederos (Ahmed, Morrison, & Knipe, 1997; de la Torre, et al., 1991). Algunas condiciones bajo las cuales el efecto citopático de los virus es limitado, incluyen:

- a) Infección de células no permisivas o células en un ambiente no permisivo.
- b) Evolución de variantes virales que son menos citopáticas o que interfieren con la replicación del virus silvestre.
- c) Regulación de la expresión de los genes virales.
- d) Otra consideración importante es que algunos virus pueden ser líticos para cierto tipo de células y no para otras, tal como se ha descrito en el caso del virus de la inmunodeficiencia humana (Simmons, 2000). La infección productiva de las células T puede resultar en la muerte celular mientras que la infección de monocitos y macrófagos produce virus por periodos de

tiempo considerables sin lisis celular. Esto es particularmente relevante para la persistencia *in vivo* puesto que están presentes muchos tipos celulares en el organismo. Otro ejemplo es el virus Sindbis el cual produce una infección lítica en células de neuroblastoma, pero establece infección persistente en neuronas que han sido diferenciadas, aun cuando la persistencia por los Alfvirus en humanos no se ha documentado, estudios recientes han demostrado que Sindbis puede persistir en neuronas de ratones adultos sin causar daño patente aparente (Levine, Hardwick, & Griffin, 1994).

### *I. Infección de células no permisivas*

Los mejores ejemplos de la restricción en la expresión de los genes virales involucran la infección de células no-permisivas y semi-permisivas. Por ejemplo: las neuronas sensoriales no son permisivas para el virus del herpes simplex (HSV), en estas células la infección latente se establece (Corey & Spear, 1986). De igual manera, los linfocitos B no son permisivos para la infección por el virus de Epstein-Barr (EBV), en este caso la expresión selectiva de los genes virales no involucrados en la infección lítica, permite la replicación del DNA viral durante la división de la célula (Hong et al., 2005). Otro ejemplo es la infección por el Citomegalovirus (CMV), *in vivo* este virus infecta células mononucleares de sangre periférica, la expresión de los genes virales parece estar limitada a productos tempranos, existen algunas evidencias que muestran que la diferenciación de los monocitos en macrófagos, puede convertir esta infección no productiva, en una productiva.

### *II. Infección de un bajo número de células no permisivas*

Estudios de infecciones persistentes de células en cultivo han demostrado que los virus líticos pueden persistir bajo ciertas condiciones *in vitro* en donde solo una pequeña fracción de células se encuentra infectada. En tales cultivos las células infectadas liberan virus y se mueren, pero la progenie de virus puede infectar a otras células. Este tipo de infección se ha demostrado que ocurre en la persistencia por Adenovirus humanos sin embargo, es posible que sea más común *in vivo* de lo que se ha estimado (Nelson & Kay, 1997).

### *III. Evolución de variantes virales.*

Existe un número considerable de evidencias *in vitro* de que las mutantes generadas a partir de un virus silvestre con características citolíticas poseen un potencial lítico modificado. Diferentes tipos de variantes virales se han implicado en el establecimiento de infecciones persistentes *in vitro*, tales como mutantes temperatura-sensibles, que producen una placa pequeña y partículas defectuosas-interferentes.

En algunos sistemas las bases genéticas de la atenuación son conocidas así como el papel que desempeñan algunos genes virales en la persistencia. Por ejemplo, durante la persistencia por Reovirus se ha demostrado que mutaciones en genes virales específicos son cruciales para el establecimiento y mantenimiento de la infección persistente en células L-929 (Ahmed, Kauffman, & Fields, 1983). También se ha demostrado que algunas alteraciones en las glicoproteínas de virus Sindbis modifican el potencial lítico de este virus en las neuronas. Estos estudios ilustran el concepto de que pocos cambios en los aminoácidos convierten una infección lítica en una persistente.

Además de la selección de variantes virales, también es posible obtener variantes de las células hospederas. Existen diferentes reportes que describen la selección de mutantes de las células durante una infección persistente de células en cultivo. Por ejemplo: células HeLa con una resistencia incrementada a la infección por Poliovirus o Coxsackie A9 (Kaplan & Racaniello, 1991). En el caso del Polio virus el incremento en la resistencia de las células HeLa, es el resultado del bloqueo de diferentes etapas del ciclo de vida del virus. Algunas líneas celulares fueron no permisivas para la infección de los Poliovirus debido a la disminución en los niveles de expresión del receptor de Poliovirus, mientras que otras no fueron permisivas porque existió algún bloqueo en la replicación intracelular del virus.

El modelo de persistencia del VSR en un cultivo celular de macrófagos murinos, mostró la presencia de una variante viral con una actividad fusogénica reducida en células Vero, esta diferencia se demostró cuantificando el número de sincitia y el número de núcleos /sincitio (Sarmiento, et al., 2009).

### Mecanismos de permanencia del genoma viral en la célula

Cuando una célula infectada se divide, debe de haber replicación viral para garantizar que las células hijas permanezcan infectadas. Para los retrovirus, el RNA viral se copia en DNA y este se integra en el cromosoma de tal forma que el genoma viral se propaga dentro del cromosoma de la célula, de igual forma el DNA de los Parvovirus se integra en el genoma de la célula.

El genoma de algunos virus de DNA permanece en la célula como una molécula circular (episoma) cuya replicación está asociada a la replicación de la célula, pero promovida por proteínas virales.

### Mecanismos de evasión del sistema inmune

- a) Expresión restringida de genes virales. La expresión restringida de los genes virales no solo reduce el potencial lítico de los virus, como ya se describió anteriormente sino que también provee de un mecanismo efectivo para la evasión del sistema inmune. Uno de los ejemplos más estudiados es la infección latente de neuronas por el HSV en la cual la expresión de proteínas está apagada completamente excepto la transcripción de una región del genoma, bajo estas condiciones el virus se torna invisible al sistema inmune (Khanna, Lepisto, Decman, & Hendricks, 2004). En el caso del virus EBV durante la infección latente de células B, es necesario que se exprese la proteína EBNA-1 para que el DNA que se encuentra como episoma se propague a las células hijas durante el proceso de división celular.
- b) Infección de sitios inmunológicamente privilegiados. Un sitio favorecido para la persistencia viral es el sistema nervioso central, debido al menos a dos factores; el primero es la presencia de la barrera hematoencefálica y el segundo es que las neuronas no expresan al MHC II necesario para el reconocimiento por células T (Ramakrishna, Stohlman, Atkinson, Shlomchik, & Bergmann, 2002). El riñón es otro sitio en donde los virus pueden persistir, por ejemplo poliomavirus y Citomegalovirus pueden permanecer en el riñón y eliminarse por la orina por un largo periodo de tiempo,

aparentemente las células T tienen un acceso limitado a las células epiteliales infectadas (Sato & Arase, 2006).

c) Variación antigénica. La generación de variantes virales durante la persistencia viral es un fenómeno bien documentado. Los virus con un genoma de RNA tienen una alta tasa de mutación y bajo una presión selectiva apropiada las variantes pueden incrementarse rápidamente. Esta capacidad para generar variantes puede permitir la evasión tanto de los anticuerpos así como de las células T.

i) Escape viral al reconocimiento de anticuerpos: Existen muchos ejemplos de variantes resistentes a los anticuerpos, el mejor ejemplo de variación antigénica en un individuo durante la persistencia viral es el de los Lentivirus. En el cual caballos infectados de manera crónica con el virus de la anemia infecciosa de equinos (EIAV), se demostró que sueros tomados de animales infectados a diferentes tiempos, neutralizan virus aislados de episodios clínicos previos pero no neutralizan aislados subsecuentes (Hussain, Issel, Schnorr, Rwambo, & Montelaro, 1987). Estudios posteriores demostraron que estos cambios serológicos se correlacionan con cambios en las glicoproteínas del EIAV. También se ha demostrado la presencia de variantes antigénicas en borregos infectados crónicamente con el virus Visna, las propiedades alteradas de neutralización también se han correlacionado con cambios en las glicoproteínas (Stanley, Bhaduri, Narayan, & Clements, 1987). La aparición de variantes serológicas durante una infección crónica es una característica común de todos los lentivirus, sin embargo la importancia biológica de este fenómeno no está completamente entendida, generalmente coexisten en el organismo persistentemente infectado tanto el virus parental como las variantes que se seleccionan.

ii) Escape al reconocimiento de las células T. El primer sistema en donde se demostró el escape de variantes virales a las células T citotóxicas es el del virus de Linfocoriomeningitis (LCMV), en este estudio se demostró que el cambio en un solo aminoácido resulta en el escape al reconocimiento de las células T citotóxicas y permite el establecimiento de la infección persistente *in vivo* (Welsh &

Seedhom, 2008). Se ha demostrado que las variantes que evaden el reconocimiento de las células T ocurre en diferentes virus que infectan al humano, tales como HIV, EBV y Virus de la hepatitis B (HBV), sin embargo, en estudios en donde se han identificado las variantes que escapan a las células T citotóxicas éstas variantes no llegan a ser predominantes. En un estudio con individuos infectados con HIV no se detectaron variantes virales después de un seguimiento de 14 meses, demostrando que la presencia de las variantes virales no es necesaria para la persistencia por HIV (Meyerhans et al., 1991). El escape de las células citotóxicas también puede ocurrir si la cantidad de péptidos que se presentan en la membrana de la célula infectada es baja y por lo tanto el proceso de lisis es menos eficiente.

d) Supresión de moléculas de la superficie de la célula requeridas para el reconocimiento de células T

La reducción en la expresión de moléculas MHC I en las células infectadas es una consecuencia de la infección viral. El mejor ejemplo que se ha descrito es la supresión de los antígenos MHC I por Adenovirus (Ahn et al., 1996). Este virus puede regular la expresión del MHC I por dos mecanismos: en uno de ellos la proteína E3 de 19 Kd, llamada E3/19K puede unirse a moléculas del MHC. La formación de este complejo evita que el MHC sea procesado adecuadamente e inhibe la glicosilación, por lo tanto se ve reducida la expresión de esta molécula en la superficie de las células. El Adenovirus tipo 12 bloquea el transporte del mRNA fuera del núcleo, la proteína E1a se ha implicado en esta inhibición (Alcami & Koszinowski, 2000a).

También se ha demostrado que CMV, HIV y Sarampión interfieren con la expresión de las moléculas del MHC II. El efecto aparentemente no es directo sobre la expresión del MHC II sino que regula la expresión del IF- $\gamma$  el cual regula la transcripción del mRNA del MHC.

Además se ha demostrado una regulación en las moléculas de adhesión LFA-3 e ICAM-1 por EBV. La resistencia al ataque de las células T citotóxicas no se debe a alteraciones en la expresión de MHC I o a que no hay suficiente expresión del genoma viral sino que se correlaciona con una reducción en los

niveles de las moléculas de adhesión LFA-3 e ICAM-1 (Alcami & Koszinowski, 2000b).

e) Interferencia con la función de citocinas

Se han reportado 3 proteínas (E3 14.7K, E3 10.4K y E1B 19K) de Adenovirus que protegen a las células infectadas de la lisis por el TNF (Iannello et al., 2006). El mecanismo por el cual estas proteínas neutralizan la actividad del TNF aun no se conoce. La proteína T2 de los Poxvirus también inhibe la acción del TNF. La proteína T2 es un análogo del receptor celular para el TNF. T2 se une al TNF e impide que éste se una a su receptor en la célula infectada evitando su destrucción.

En el caso del EBV la proteína es homóloga a la IL-10 y puede bloquear la síntesis de la IL-2 y del IF- $\gamma$  (Hsu et al., 1990).

f) Tolerancia inmunológica

Finalmente, quizá el mecanismo más eficiente para el establecimiento y mantenimiento de una infección persistente es la supresión de células citotóxicas, como se ha demostrado en el caso de la infección congénita en ratones por el virus de linfocoriomeningitis, los ratones adultos infectados con este virus establece una efectiva y fuerte respuesta tanto humoral como celular y son capaces de eliminar al virus en dos semanas, la eliminación del virus está principalmente mediada por la células T citotóxicas, sin embargo la infección *in utero* da lugar a infecciones crónicas con una viremia de larga duración, con altos niveles de virus infecciosos y antígeno viral en la mayoría de los órganos. La persistencia del LCMV en estos ratones está acompañada de una nula respuesta de células T, en estos ratones se ha demostrado que existe una respuesta normal a otros antígenos, pero no contra LCMV.

La tolerancia inmunológica también tiene una función importante en el establecimiento de la infección persistente por el HBV, y para la persistencia por el virus de diarrea viral bovina, en terneros que adquirieron la infección *in útero* (Ridpath, 2010).

## 2. INFECCIONES VIRALES PERSISTENTES EN HUMANOS

### Herpes Simplex Virus

El HSV establece una infección persistente en neuronas. El HSV1 y HSV2 generalmente infectan a humanos en diferentes sitios. El HSV1 genera infección productiva primaria en la mucosa oral o en la cavidad oral (gingivostomatitis). El virus entra en el nervio sensorial y establece una infección latente en las neuronas sensoriales del ganglio trigémino (Fatahzadeh & Schwartz, 2007). Posteriormente la infección se reactiva por lesiones recurrentes. El HSV1 también puede infectar la cornea como resultado de una infección primaria o por la reactivación de una infección latente. Además se ha sugerido que el HSV 1 puede establecer infección latente en los queratinocitos de la córnea. El HSV también puede viajar a través de la red neuronal hacia el sistema nervioso central durante la infección primaria o reactivación dando como resultado una panencefalitis (Knipe & Cliffe, 2008).

El HSV 2 se adquiere generalmente por vía sexual, infecta mucosas, se disemina a través de las terminaciones nerviosas y es transportado hacia los ganglios en donde se establece la infección persistente. La reactivación de estos virus generalmente ocasiona lesiones asociadas al herpes genital, además en un número limitado de casos el HSV se puede diseminar por vía sistémica produciendo meningitis (Arduino & Porter, 2008).

### Establecimiento de la infección persistente

Los eventos que permiten el establecimiento de una infección persistente en una neurona parecen estar relacionados con la restricción en la expresión de los genes IE. Si IE Se ha propuesto que los factores necesarios para la expresión de este gen están ausentes o se presentan en niveles tan bajos que no permiten la replicación del virus en las neuronas. También se cree que existe un inhibidor del gen presente en las neuronas o que la proteína VP6 del virión, la cual es necesaria para la transcripción de los genes IE, no funciona en las neuronas por lo tanto no promueve la transcripción de IE. Obviamente, uno o más de estos mecanismos podrían contribuir a la infección latente de las neuronas (Knipe & Cliffe, 2008).

### Mantenimiento de la infección persistente

Durante la infección persistente no es posible detectar virus infeccioso pero se puede demostrar la presencia del DNA viral por Southern blot y por PCR, sin embargo, es posible detectar los transcritos de los genes virales LAT pero no se ha encontrado la proteína producto de estos transcritos. Estudios genéticos que han examinado el papel de LAT en el mantenimiento de la infección latente han demostrado que los transcritos de LAT no son esenciales para el mantenimiento de la infección latente ya que virus LAT-negativos pueden establecer infección latente (Batchelor & O'Hare, 1990; Zwaagstra et al., 1990). Es probable que el DNA viral se encuentre en forma episomal asociado con los nucleosomas.

### Reactivación de la infección latente

Se ha propuesto que un estímulo apropiado permite la expresión de ICP0, un transactivador no específico de la expresión viral de los genes IE, puede activar la expresión de los genes ICP4 e ICP27 (P.L. Collins & Crowe Jr., 2007; Kramer & Coen, 1995), estos productos pueden entonces activar la expresión de los genes virales E y L. Otro modelo sugiere que la amplificación del DNA viral en las células infectadas en forma latente puede disparar la expresión de los genes virales que se expresan en la infección lítica.

Los estímulos para la reactivación en la infección en humanos incluyen; la inmunosupresión, cambios hormonales, estrés y exposición a la luz ultravioleta. Estos estímulos probablemente provoquen cambios en el estado fisiológico de la neurona y de esta forma podrían activarse vías de señalización promoviendo la activación de factores de transcripción o protein cinasas.

### Virus Varicela-Zoster (VZV)

El VZV infecta a las células epiteliales de la mucosa del tracto respiratorio superior, orofaringe o conjuntiva. Después de la replicación en el epitelio el virus se disemina por la sangre hacia el sistema retículo endotelial en donde se replica el virus. La infección de células endoteliales permite la diseminación del

virus a las células epiteliales de la dermis dando lugar a las lesiones cutáneas, causando la pústula característica de la varicela (Kennedy, 2002).

La inmunidad del hospedero puede limitar la infección aguda pero durante la diseminación al epitelio el virus también infecta nervios sensoriales y el virus es transportado a los ganglios sensoriales. La infección latente se establece en los ganglios, neuronas y/o en células satélites. Posteriormente la reactivación puede ocurrir como consecuencia de inmunosupresión u otro estímulo.

Se cree que la infección latente se establece por la infección de células no permisivas para la replicación viral.

### Virus Epstein-Barr (EBV)

El EBV es el agente causal de mononucleosis infecciosa y es un cofactor en la inducción de enfermedades neoplásicas como el linfoma de Burkitt, carcinoma nasofaríngeo, enfermedad linfoproliferativa pos trasplante y linfoma no-Hodgkin (P.L. Collins & Crowe Jr., 2007). El EBV establece infección latente en células B *in vitro* e infecta células epiteliales de la orofaringe en forma reproductiva y puede continuar como una infección crónica en algunos individuos. Por un mecanismo no conocido el virus se transmite a los linfocitos B en donde la infección es no productiva y usualmente la infección latente se establece. Para entrar a la célula B el virus utiliza el receptor CD21, una vez dentro de la célula el virus se desnuda y circulariza para formar un genoma circular unido covalentemente que persiste como episoma en las células infectadas.

En las células persistentemente infectadas se ha detectado la presencia del antígeno viral EBNA1 (Humme et al., 2003), aparentemente este antígeno desempeña un papel importante en el mantenimiento del DNA en forma latente en la célula B infectada. La proteína EBNA1 se une específicamente en el DNA, en secuencias que sirven como origen para la replicación del plásmido, oriP, y promueven la replicación del episoma viral por la DNA polimerasa de la célula infectada. La proteína viral EBNA2 estimula el crecimiento de las células B, en parte induciendo la expresión de moléculas activadoras de las células B. Este estado continuo de estimulación del crecimiento generalmente se conoce como inmortalización (Peng, Moses, Tan, Kremmer, & Ling, 2005).

Una pequeña porción de células B puede ser permisiva para la replicación del virus, en ese caso se induce la expresión de la proteína viral IE, seguida de la expresión de las proteínas E y la replicación del DNA viral.

El EBV utiliza diferentes mecanismos para evadir la inmunidad (Iannello, et al., 2006), en linfoblastos transformados con el EBV la expresión de las moléculas LFA3 e ICAM-1 está disminuida. En la infección del epitelio nasofaríngeo por el EBV, el virus infecta un sitio inmunológicamente privilegiado porque el acceso de las células T está relativamente restringido. Además se ha demostrado la presencia de variantes virales que escapan al reconocimiento por las células T citotóxicas.

#### Virus de Papiloma Humano (HPV)

El HPV establece una infección no productiva en células de la lámina basal, pero se replica cuando estas células comienzan a diferenciarse en células queratinizadas del estrato espinoso y lamina granular de la epidermis (Nieto, Gissmann, & Schadlich, 2010). La infección de la lámina basal se inicia cuando el virus se introduce en las capas inferiores de la dermis como consecuencia del un trauma del epitelio. La transcripción temprana puede ocurrir en estas células y el DNA viral se mantiene en la célula, probablemente replicando un bajo número de copias como un plásmido extracromosómico. La transcripción de los genes virales tempranos puede ocurrir en estas células pero no es posible la replicación de los genes tardíos ni el empaquetamiento del DNA viral en el virión. La expresión de los productos virales tempranos estimula el crecimiento de la lámina basal permitiendo la formación de la verruga.

Es posible que después de un periodo de 20-25 años una verruga o una célula infectada en forma latente pueda, en algunos casos, convertirse en maligna. Las neoplasias se han asociado con el HPV 16 y 18, en donde el genoma viral se integra al cromosoma de la célula (Palefsky, 2006).

#### Adenovirus.

El adenovirus puede persistir en el hospedero, mediante la infección de células no epiteliales y tejidos (Chu, Sperber, Mayer, & Hsu, 1992). El Adenovirus también se ha aislado de linfocitos de adultos sanos sugiriendo que esta pueda

ser otra fuente de persistencia del virus *in vivo*. La reactivación del estado latente ocurre por explante de tejido infectado en forma latente o por trasplante de órganos infectados en forma latente (Matsuse et al., 1992).

También se sabe que el Adenovirus puede establecer infecciones crónicas, ya que el virus se ha aislado de individuos después de dos años de la infección primaria (Hayashi, 2002).

El Adenovirus puede evadir el sistema inmune del hospedero ya que la proteína E3 19K puede unirse a las moléculas del MHC I e inhibir la actividad citolítica del interferón (Bennett, Bennink, Yewdell, & Brodsky, 1999).

### Virus de la Hepatitis B (HBV)

El genoma del HBV está compuesto de DNA parcialmente doble, al entrar a la célula el genoma se convierte en doble cadena. El ciclo productivo de virus infeccioso se mantiene tanto en la fase aguda como en la fase crónica de la infección. La infección crónica permite la transmisión a otros individuos y en algunos casos el desarrollo de hepatocarcinoma (Hsia, Evarts, Nakatsukasa, Marsden, & Thorgeirsson, 1992).

Durante la infección por el HBV se establece una respuesta inmune humoral contra las proteínas de envoltura, la cual se considera un elemento crítico en la eliminación de la infección por este virus y en la prevención de reinfecciones. La respuesta inmune celular está dirigida contra múltiples epítopes, sin embargo es relativamente débil y oligoclonal.

Los factores que determinan por qué algunos individuos son capaces de generar una respuesta inmune efectiva y controlan la infección viral, mientras que otros generan respuestas débiles y no son capaces de eliminar al virus, no están bien entendidos. En estudios recientes se ha reportado la presencia de variantes virales que escapan al reconocimiento por las células T citotóxicas, es posible que tales variantes desempeñen una función importante en la infección persistente *in vivo* (Bertoletti & Gehring, 2007).

## Virus de Sarampión (MV).

El humano es el único hospedero natural del virus del sarampión, la mayor información que se tiene sobre la patogénesis se deriva de estudios de aislados de pacientes. Muchos animales de laboratorio, incluyendo monos y ratones también pueden infectarse y han sido usados para el estudio de la infección por este virus (Kerdiles, Sellin, Druelle, & Horvat, 2006).

El virus de sarampión inicia la infección en el epitelio del tracto respiratorio, oro o nasofaringe o conjuntiva. Después de la replicación en la mucosa, el virus es transportado hacia los nódulos linfáticos, posiblemente dentro de los macrófagos. El virus se replica en los nódulos y entonces entra al torrente sanguíneo en leucocitos, esta viremia primaria permite la diseminación del virus hacia el tejido linfoide en donde se lleva a cabo otro ciclo de replicación provocando una hiperplasia linfoide. La viremia secundaria permite la diseminación del virus hacia múltiples tejidos, tracto intestinal, tracto respiratorio y conjuntiva. Durante la viremia secundaria es probable que el virus infecte al sistema nervioso central (Moench, Griffin, Obriecht, Vaisberg, & Johnson, 1988).

En un individuo normal, la respuesta inmune es efectiva para controlar la infección aguda, sin embargo algunas células infectadas pueden escapar al sistema inmune, de esta forma se establece la infección persistente. Se ha demostrado que el virus del sarampión es capaz de suprimir la expresión de las moléculas del MHC I e IFN- $\gamma$  (Fang, Song, & Dhib-Jalbut, 2001). El establecimiento y mantenimiento de la infección persistente por este virus tiene un componente virológico, debido a que en células en cultivo es posible el establecimiento de una infección persistente en ausencia de efectores inmunes. Las infecciones con este virus, difieren con la definición clásica de infección crónica, debido a que el virus se replica lentamente en cultivo con una baja o nula producción de virus extracelular. La expresión restringida del genoma viral puede estar regulada por la disminución de uno o más componentes estructurales o por la selección de virus defectuosos.

En los pacientes que presentan la encefalitis esclerosante subaguda (SSPE) se ha observado que las nucleocápsides se encuentran en el interior de la célula y la cantidad de antígenos asociados a la membrana es reducida

(Woyciechowska, Madden, & Sever, 1977). La restricción en la expresión de los genes virales y la infección de un sitio privilegiado (neurona), probablemente participan en el desarrollo de la infección persistente en algunos individuos infectados con este virus.

La mutación de algunos genes que codifican para proteínas virales es un mecanismo que se ha sugerido en el establecimiento de la infección persistente por el virus de sarampión, puesto que en cerebro de pacientes con SSPE se han observado alteraciones en la síntesis y expresión de la proteína M (proteína de matriz). En estos pacientes la proteína M permanece en el citosol y no es capaz de unirse a las nucleocápsides virales. Se han detectado cambios en la secuencia del RNA positivo en estos aislados, comparados con la secuencia de los aislados de infección aguda. En los pacientes con SSPE el proceso de gemación no se completa por cambios en la proteína M, pero el genoma viral se amplifica y algunos virus defectuosos se diseminan por interacción directa célula-célula.

En algunos aislados de pacientes con SSPE se ha detectado otra alteración genética. En estos aislados la proteína de fusión (F) presenta cambios en la secuencia de aminoácidos en la región correspondiente al dominio citoplásmico. También se han encontrado cambios en la hemaglutinina y cepas resistentes al efecto del interferón.

Una hipótesis para explicar la génesis de la infección persistente en pacientes con SSPE propone que el mecanismo de defensa del hospedero promueve el establecimiento de la infección persistente a través de la modulación de la transcripción y expresión de las proteínas del virus del Sarampión, previniendo la eliminación de las células infectadas (Zinnheimer-Dreikorn & Koschel, 1990). Durante ciclos subsecuentes de replicación el genoma viral puede acumular diferentes mutaciones en múltiples genes virales que podrían alterar el ensamble del virón, en este caso se establecería la infección persistente sin producción de virus extracelular.

## Virus de la inmunodeficiencia Humana.

El HIV infecta inicialmente a células de Langerhans o a otras células del sistema fagocítico y se disemina hacia nódulos linfáticos (P.L. Collins & Crowe Jr., 2007).

El virus se disemina hacia el torrente sanguíneo en donde es secuestrado en macrófagos o en células dendríticas en el bazo y en otros órganos linfoides.

Después de la infección aguda se establece una infección persistente en monocitos y células CD4<sup>+</sup>, en los órganos linfoides (Finzi et al., 1999). La infección de las células CD4<sup>+</sup> involucra la transcripción reversa del genoma viral y la integración en el cromosoma del DNA viral como provirus. La activación por antígenos específicos de las células CD4<sup>+</sup> puede ser el factor determinante para permitir la transcripción del RNA viral del provirus.

Durante el periodo de latencia clínica se ha detectado respuesta humoral y celular contra el virus, y también se han detectado variantes virales que escapan al reconocimiento de las células T citotóxicas (Iannello, et al., 2006).

Por otro lado, el tejido linfoide asociado a intestino constituye el 70% del sistema inmune y puede ser el principal sitio en donde este virus tiene actividad. Esta región anatómica es un reservorio en la cual el virus persiste y se replica por más tiempo, con respecto a si lo hiciera en las células infectadas. (Coiras, Lopez-Huertas, Perez-Olmeda, & Alcamí, 2009). Para una terapia antirretroviral altamente efectiva, la persistencia del HIV en reservorios debe de ser considerada.

## IX. DISCUSIÓN

Los cambios en nuestros conceptos del VSR y de las infecciones virales en su conjunto, en la EPOC y el asma no habrían sido posibles sin avances en las técnicas de diagnóstico. Tradicionalmente, la detección del VSR se había basado en el aislamiento del virus en cultivos celulares. Esto es difícil con cualquier tipo de virus respiratorio ya que las muestras deben contener virus infecciosos y se debe contar en los laboratorios de diagnóstico con líneas celulares susceptibles a la infección. Sin embargo, en el caso del VSR esto es particularmente difícil debido a su alta sensibilidad a cambios de temperatura que puede sufrir desde la toma de muestra hasta su inoculación en cultivos celulares. También se ha contado con técnicas inmunoquímicas para la detección de virus, como la inmunofluorescencia directa y ensayos inmunoenzimáticos de captura de antígeno, los cuales son más rápidos que el aislamiento en cultivo pero la sensibilidad y la especificidad son menores. Otra limitante que presentan es la detección de antígeno viral en los adultos, en los cuales se encuentran cargas virales más bajas. Las técnicas serológicas con las que se cuenta actualmente son limitadas ya que se basan en la respuesta inmune del hospedero, pero no se considera la posibilidad de que la infección puede ser atípica o persistente.

Los estudios que evalúan el uso de la transcripción reversa y de amplificación de ácido nucleico viral por PCR han demostrado que tener una sensibilidad y especificidad superior en comparación con el aislamiento en cultivos celulares o la detección de antígenos específicos, una serie de diferentes técnicas de RT-PCR, convencional o anidada, se han utilizado para la detección del RNA del VSR. Recientemente se han desarrollado sondas para la detección del VSR por RT-PCR en tiempo real, cuyos resultados han mostrado una gran sensibilidad, sin embargo, los diferentes reportes de PCR no son uniformemente sensibles, por lo que muchos autores han sugerido que esto explica la disparidad en resultados de prevalencia del VSR en poblaciones muy similares. Por supuesto, una técnica sensible sólo es útil si la toma de muestra es adecuada. En el caso de infección por el VSR, parece que el esputo es más sensible que muestras nasales y el manejo y transporte de la misma.

Las diferencias geográficas también pueden ser responsables de la variación en algunos reportes, ya que se ha demostrado que la dinámica de las epidemias de VSR parecen ser locales no nacionales o globales. Algunos estudios han mostrado que los virus del grupo A, son más virulentos que los del grupo B, ya que se replican más eficientemente en el tracto respiratorio. Falsey et al. reportó una mayor prevalencia del grupo B en pacientes con enfermedad pulmonar obstructiva crónica (Falsey et al., 2006). Cabe destacar que la principal diferencia estructural en el virión entre los grupos es A y B, radica en la glicoproteína G, por su capacidad inmunomoduladora, la cual se propone ser la proteína viral más importante en la inducción de persistencia.

En el presente trabajo estudiamos los posibles mecanismos por medio de los cuales el VSR puede persistir en un organismo, entre los cuales destacan:

***Con relación a la evasión de sistema inmune:***

Una de las posibles estrategias del VSR para el establecimiento de la persistencia es la capacidad para modular la respuesta inmune. Como ya se revisó, el VSR entra en su célula hospedera a través de la fusión de la envoltura del virus con la membrana plasmática, una vez que inicia la replicación comienza una respuesta inflamatoria, que es modulada por el propio virus. Los linfocitos CD4+ Th1 coordinan la respuesta inmune celular que incluye la hipersensibilidad tipo IV y la activación de linfocitos T CD8+; así como la producción de anticuerpos IgG que promueven la opsonización a través de su unión a receptores Fc gamma ( $\gamma$ FcR) presentes en los fagocitos y activan la vía clásica del complemento. La hipersensibilidad provoca inflamación excesiva y daño tisular. El perfil de citocinas de linfocitos Th1 induce una respuesta inmune celular apropiada para atacar patógenos intracelulares como los virus. Los linfocitos CD4+ Th2 estimulan la activación de eosinófilos; provee de citocinas para la proliferación y diferenciación de linfocitos B, adicionalmente promueve el cambio de clase de IgM a IgE, la producción de altos títulos de IgM, IgE e isotipos de IgG que no fijan complemento. La respuesta TH1 dirigida contra virus se lleva a cabo a través de las citocinas como el interferón ( $IFN\alpha$ ) y el factor de necrosis tumoral, mientras que las células TH2 producen citocinas como la IL-4, IL-5 e IL13, las

cuales dirigen la síntesis hacia la inmunoglobulina Ig E e IgA (Kindt, Goldsby, & Osborne, 2007), como se ha reportado en niños que presentan respiración sibilante después de la bronquiolitis por VRS donde los altos niveles de IgE específica contra el VSR. La inducción preferencial de TH2 frente a las respuestas TH1 podría, en teoría favorecer la persistencia y no la eliminación del virus.

En el modelo de persistencia viral por el VSR en conejillo de Indias (Mejias et al., 2008). Se ha demostrado que el virus dirige la respuesta hacia una respuesta de tipo TH2 (Roman et al., 1997). En primer lugar, la glicoproteína G tiene la capacidad de inducir directamente una respuesta de tipo TH2 y en segundo lugar la replicación viral induce la producción de TARC en las vías respiratorias, TARC está involucrado en el reclutamiento de células TH2.

La importancia de las respuestas TH1/TH2 en la eliminación del VSR se ha demostrado de modo directo en los estudios de bronquiolitis por este virus, donde se demostró una mayor proporción de citocinas TH2 sobre TH1 (Por ejemplo, IL-10: IL-12 e IL-4: IFN- $\alpha$ ) y se asociaron con discapacidad para eliminar al virus de tal forma que la inducción de una respuesta de tipo TH2, podría contribuir a la evasión y la persistencia viral.

***Con relación a las posibles proteínas del virus asociadas a persistencia:***

Se han descrito proteínas del VSR que modulan la apoptosis: la apoptosis es un proceso controlado genéticamente, caracterizado por condensación de cromatina, fragmentación de DNA, encogimiento celular, y formación de cuerpos apoptóticos; participa en la regulación de homeostasis, desarrollo de tejidos y el sistema inmune o para eliminar células que ya no son útiles, también funciona eliminando células con daño en el DNA, y es una respuesta común de las células, a infecciones virales (Hay & Kannourakis, 2002).

En algunas situaciones la apoptosis puede contribuir a la patogénesis debido a que el contenido celular y los viriones son confinados en cuerpos apoptóticos que son tomados por células circundantes permitiendo que la infección se propague, pero en general es un mecanismo para reducir la replicación viral. Muchos virus han desarrollado mecanismos para inhibirla o evadirla. La inhibición de apoptosis es probable que esté involucrada en la supervivencia y

la proliferación, maximizando la producción de la progenie viral durante la infección lítica o facilitando una infección persistente (Hood et al., 2006).

No es claro como el VSR puede inducir o inhibir la apoptosis durante una infección, recientemente se ha relacionado con la expresión de proteínas virales. Durante etapas tempranas de la infección se expresan las proteínas NS1 y NS2 induciendo la activación de NF- $\kappa$ B inhibiéndose la apoptosis (Bitko et al., 2007; Groskreutz et al., 2007).

En las etapas tardías de la infección (8 hrs post-infección) se ha observado el aumento de fragmentación de DNA, esto correlacionado con la disminución de la expresión de las proteínas NS1 y NS2 y a su vez con el aumento de la expresión de la proteína F. Además se ha descrito que la expresión de la proteína F en células epiteliales induce la activación de p53 y de Bax, lo que favorecería la inducción de apoptosis (Bitko, et al., 2007; Eckardt-Michel et al., 2008).

Otra proteína que se ha relacionado a apoptosis es la SH tanto del VSR como de otros paramixovirus, se ha observado que esta proteína inhibe la ruta de señalización de TNF- $\alpha$ , el mecanismo por el cual esta proteína inhibe a TNF- $\alpha$  no es claro, pero la sola expresión de esta proteína inhibe apoptosis inducida por la vía extrínseca (Fuentes, Tran, Luthra, Teng, & He, 2007; Wilson, et al., 2006).

### ***Con relación a la infección de sitios privilegiados:***

La persistencia por el VSR en humanos no está demostrada, sin embargo existen evidencias experimentales que la sugieren; Schwarze et al. proponen que el sitio de persistencia para el VSR pudieran ser en los nervios bronquiales (Schwarze, O'Donnell, Rohwedder, & Openshaw, 2004), y de esta manera el virus permanecer estimulando constantemente al sistema inmune provocando inflamación crónica en pulmones, y los diferentes patrones de respuesta de INF, citocinas y quimiocinas observadas en niños con hiperreactividad respiratoria recurrente (AHR), sin embargo, el sitio exacto de persistencia no ha sido determinado. En este mismo modelo se ha sugerido que el establecimiento de la persistencia, probablemente no requiere de mutantes virales que escapen a la vigilancia inmunológica ya que las respuestas de las células T citotóxicas y de neutralización por anticuerpos de memoria se

encontraron intactas en ratones con infecciones latentes por el VRS, y el genoma viral latente mantuvo un epitopo citotóxico no mutado. Por lo que se sugiere que el estado latente de VSR depende del sitio de persistencia más que de una mutación viral (Schwarze, et al., 2004).

***Con relación a las mutantes virales:***

Existen muchos ejemplos de virus de RNA y DNA que han co-evolucionado con su hospedero para el establecimiento de una infección persistente. Un ejemplo de persistencia en la familia de paramixovirus, es el Virus de Sarampión (MV), lo cual se ha demostrado tanto *in vitro* como *in vivo*; la infección persistente por este virus en neuronas y células de la glía causan enfermedades neurológicas como panencefalitis esclerosante subaguda. Se ha postulado que la persistencia de MV está relacionada con la producción de partículas defectivas interferentes (DI) y mutantes virales las cuales presentan alteraciones en la expresión de proteínas (Ludlow et al., 2005).

Recientemente se ha descrito la presencia de cuasiespecies virales para el VSRB (Deplanche et al., 2007), el cual ya se mencionó anteriormente está muy relacionado con el VSR y esto puede ser una evidencia de que las variantes virales participan en la persistencia, dado que se ha encontrado que el VSRB persiste en su hospedero.

***Con relación a los factores del hospedero:***

- Muchos pacientes con enfermedad obstructiva crónica son frecuentemente inmunosuprimidos con el uso prologado de corticoides orales o inhalados, lo que lo hace particularmente susceptibles a las exacerbaciones y en los cuales se ha aislado el VSR .
- Anomalías en el pulmón facilitan la infección persistente del tracto respiratorio inferior.
- El humo del tabaco causa una reducción significativa en la liberación de mediadores inmunes IFN- $\alpha$ , IFN- $\beta$ , y óxido nítrico, lo que puede contribuir a la reactivación del VSR.

- Los contaminantes ambientales pueden también favorecer la persistencia viral. Por ejemplo, el humo negro, ayuda a inclinar la respuesta inmune de TH1 a TH2 en el modelo murino.
- También hay pruebas de que los polimorfismos en las citocinas IL-4 e IL-10, y en los componentes del sistema inmune innato, como la proteína surfactante A-1 son más frecuentes en niños hospitalizados con VRS, sin embargo no hay datos similares en la enfermedad pulmonar obstructiva crónica, pero es posible que los polimorfismos estén relacionados en la susceptibilidad del hospedero a la persistencia por el VSR.

La importancia del presente trabajo radica en la revisión exhaustiva de los datos experimentales y evidencias en pacientes que se tiene hasta el momento que sugieren la persistencia del VSR, enfatizando en los posibles mecanismos involucrados, con la finalidad de facilitar el estudio de la patogenia a los responsables en salud. El contar con una herramienta de esta naturaleza, facilitará tanto a estudiantes y profesionales de la salud, realizar estudios posteriores sobre la naturaleza de las infecciones virales persistentes.

## **XII. PERSPECTIVAS**

El mercado farmacéutico actual para el tratamiento del VSR tiene solo un solo grupo de pacientes definido: infantes nacidos prematuramente con alto riesgo o infección, los cuales pueden ser tratados con anticuerpos inmunoprolácticos (Storey, 2010).

En la siguiente década, la investigación se puede extender a pacientes adultos en alto riesgo o con infección, o niños que sufren infecciones agudas, probablemente a través de la disponibilidad de elementos siRNA.

El desarrollo de vacunas de RSV presenta retos específicos, y su uso clínico es actualmente un prospecto distante.

En cambio el uso de anticuerpos dirigidos contra las proteínas F y G del VSR, es un tratamiento que activamente no ha tenido éxito.

Palivizumab (Synagis; MedImmune/Abbott) es un anticuerpo monoclonal murino dirigido en contra de la proteína de fusión del VSR que previene el esparcimiento del virus en el tracto respiratorio inferior. Fue aprobado por la FDA en 1998 y autorizado como un agente profiláctico para bebés nacidos prematuramente a 35 semanas o menos, y/o con enfermedad de corazón o pulmón congénitas. Palivizumab alcanzó el estado de medicamento estrella (con ventas sobre \$1.2 billones USD en 2008) y MedImmune pretende dominar este mercado por la siguiente década con anticuerpos de segunda y tercera generación, progresando a través de estudios clínicos.

Motavizumab es una variante de afinidad madura, el cual proporciona protección adicional en el tracto respiratorio superior. En noviembre de 2008, MedImmune recibió un comunicado por parte de la FDA para su Solicitud de Licencia Biológica, y está contemplado re-enviarlo antes del año 2009 (TABLA 2). La potencia adicional y los avances en la biodisponibilidad en pulmón al parecer se han alcanzado a través de evolución molecular, creando el prototipo MEDI-557, que está ahora en evaluación en Fase I (Dall'Acqua, Kiener, & Wu, 2006).

Por otro lado, la aprobación de la primera vacuna eficiente de VSR no se espera antes del año 2020. Las vacunas de VSR requieren una evaluación de la seguridad extendida por los fabricantes y las agencias reguladoras, debido al riesgo incrementado de la enfermedad. En la mitad de 1960, una vacuna de

formalina inactivada, causó la muerte de dos infantes que estaban enlistados en un estudio clínico (Fulginiti et al., 1969).

Para un aceptable costo-beneficio y ganancia del reembolso, las vacunas de VSR probablemente necesitan ser administradas antes del segundo mes de vida, debido a que la población con mayor riesgo son bebés menores de 6 meses de edad.

Las vacunas además no deben reducir la seguridad o eficacia de las ocho vacunas que actualmente conforman el esquema de inmunización de rutina en infantes.

MedImmune tiene los candidatos de vacuna más avanzados: dos formulaciones que se encuentran actualmente en estudios de Fase I-IIa. MEDI-559 es una vacuna atenuada de RSV pasada en frío evaluada en 320 niños de 1 a menos de 24 meses. MEDI-534 es una construcción humano-bovina de virus de parainfluenza quimérica expresando la proteína de fusión del VSR. Ambos candidatos muestran perfiles de seguridad alentadores en la Fase I de evaluación se espera que demuestren datos de eficacia en 2012 (Schickli, Dubovsky, & Tang, 2009).

La disponibilidad de kits para la detección rápida (15 min) de VSR ha abierto una gran oportunidad de mercado para fármacos antivirales VSR-específicos, los cuales pueden ser prescritos o administrados en la práctica general y en situaciones de emergencia al tratar infecciones agudas de VSR.

La población total de pacientes (hospitalizados o cuadros leves) que está enferma de VSR es considerablemente más grande que el grupo que tiene acceso actualmente a Palivizumab.

Resulta importante para el desarrollo de nuevos fármacos y vacunas, considerar la persistencia del VSR, dado que las evidencias muestran que el virus que inicia el proceso infeccioso, se modifica.

Por otro lado, el desarrollo de nuevas técnicas de diagnóstico tendrá que contemplar las variantes virales que se generan en la persistencia, así como la reducida expresión antigénica.

Es relevante estudiar la importancia evolutiva de la adaptación del virus a su hospedero, en una relación que no produce infecciones mortales para el hospedero, su selección y perpetuación con el paso de las generaciones.

TABLA 2. Programas de desarrollo de vacunas y antivirales seleccionada para VSR.

<b>Producto</b>	<b>Responsable</b>	<b>Clase</b>	<b>Población</b>	<b>Fase de estudio</b>
Motavizumab (MEDI-524)	MedImmune	Abm humanizado		Fase III y SLB
ALN-RSV01	Alnylam/Cubist	siRNA	Adultos inmunocomprometidos	Fase II
RSV604	Arrow/Novartis	Inhibidor de nucleoproteína	Adultos inmunocomprometidos	Fase II
MEDI-559	MedImmune	Vacuna	Infantes y niños	Fase I-IIa
MEDI-534	MedImmune	Vacuna (PIV3)	Infantes	Fase I-IIa
MEDI-557	MedImmune	Abm humanizado	Infantes	Fase I

SLB: Solicitud de Licencia Biológica; ABm: Anticuerpo monoclonal; PIV3: parainfluenza virus 3.

## **XI. CONCLUSIONES**

Los virus han desarrollado diferentes estrategias para el establecimiento de infecciones persistentes, entre las cuales se encuentran: restricción del efecto viral citolítico, infección de células no permisivas, generación de variantes virales, mecanismos para mantener al genoma viral dentro de la célula y evasión del sistema inmune.

Las evidencias *in vitro* e *in vivo* han llevado a numerosos investigadores a sugerir que el VSR establece infecciones persistentes. Los posibles mecanismos que el VSR emplea para persistir en un organismo son: evasión del sistema inmune, presencia de proteínas virales asociadas a la persistencia, infección de sitios privilegiados, presencia de cuasiespecies virales y factores del hospedero.

Para evadir la vigilancia del sistema inmune se ha descrito que el VSR: tiene una expresión restringida de genes virales, infecta sitios inmunológicamente privilegiados como el Sistema Nervioso Central y riñón; escapa al reconocimiento de anticuerpos y de células T, presenta supresión de moléculas de la superficie de la célula requeridas para el reconocimiento de células T, tiene interferencia con la función de citocinas y participa en la tolerancia inmunológica.

Es importante considerar la persistencia del VSR para implementar técnicas de diagnóstico, que permitan identificar los agentes etiológicos relacionados con las patologías asociadas, posiblemente a la presencia del virus: EPOC y asma. Se deben implementar en la práctica clínica tratamientos adecuados al virus y efectivos considerando esta persistencia y para el desarrollo de nuevos antivirales, es necesario que lleguen al sitio de persistencia del VSR.

En el caso de las vacunas efectivas, se deben tomar en cuenta las cuasiespecies del virus, y de acuerdo a los estudios, las posibles proteínas diana para el desarrollo de antivirales podrían ser las no estructurales NS1 y NS2, por sus funciones inmunomoduladoras. Para las infecciones agudas desarrollar vacunas basadas en VLP, y dirigidas hacia la proteína M.

## BIBLIOGRAFÍA

- Ahmed, R., Kauffman, R. S., & Fields, B. N. (1983). Genetic variation during persistent reovirus infection: isolation of cold-sensitive and temperature-sensitive mutants from persistently infected L cells. *Virology*, *131*(1), 71-78.
- Ahmed, R., Morrison, L. A., & Knipe, D. M. (1997). Viral persistence. In: *Viral pathogenesis*. . 1, 181-205.
- Ahn, K., Meyer, T. H., Uebel, S., Sempe, P., Djaballah, H., Yang, Y., et al. (1996). Molecular mechanism and species specificity of TAP inhibition by herpes simplex virus ICP47. *EMBO J*, *15*(13), 3247-3255.
- Alcami, A., & Koszinowski, U. H. (2000a). Viral mechanisms of immune evasion. *Trends Microbiol*, *8*(9), 410-418.
- Alcami, A., & Koszinowski, U. H. (2000b). Viral mechanisms of immune evasion. *Immunol Today*, *21*(9), 447-455.
- Arduino, P. G., & Porter, S. R. (2008). Herpes Simplex Virus Type 1 infection: overview on relevant clinico-pathological features. *J Oral Pathol Med*, *37*(2), 107-121.
- Arslanagic, E., Matsumoto, M., Suzuki, K., Nerome, K., Tsutsumi, H., & Hung, T. (1996). Maturation of respiratory syncytial virus within HEp-2 cell cytoplasm. *Acta Virol*, *40*(4), 209-214.
- Baldrige, P., & Senterfit, L. B. (1976). Persistent infection of cells in culture by respiratory syncytial virus. *Proc Soc Exp Biol Med*, *151*(4), 684-688.
- Bangham, C. R., & McMichael, A. J. (1986). Specific human cytotoxic T cells recognize B-cell lines persistently infected with respiratory syncytial virus. *Proc Natl Acad Sci U S A*, *83*(23), 9183-9187.
- Batchelor, A. H., & O'Hare, P. (1990). Regulation and cell-type-specific activity of a promoter located upstream of the latency-associated transcript of herpes simplex virus type 1. *J Virol*, *64*(7), 3269-3279.
- Bennett, E. M., Bennink, J. R., Yewdell, J. W., & Brodsky, F. M. (1999). Cutting edge: adenovirus E19 has two mechanisms for affecting class I MHC expression. *J Immunol*, *162*(9), 5049-5052.
- Bertoletti, A., & Gehring, A. (2007). Immune response and tolerance during chronic hepatitis B virus infection. *Hepatology Res*, *37 Suppl 3*, S331-338.
- Bitko, V., Shulyayeva, O., Mazumder, B., Musiyenko, A., Ramaswamy, M., Look, D. C., et al. (2007). Nonstructural proteins of respiratory syncytial virus suppress premature apoptosis by an NF-kappaB-dependent, interferon-independent mechanism and facilitate virus growth. *J Virol*, *81*(4), 1786-1795.
- Boeck, K. D. (1996). Respiratory syncytial virus bronchiolitis: clinical aspects and epidemiology. *Monaldi Arch Chest Dis*, *51*(3), 210-213.
- Bossert, B., & Conzelmann, K. K. (2002). Respiratory syncytial virus (RSV) nonstructural (NS) proteins as host range determinants: a chimeric bovine RSV with NS genes from human RSV is attenuated in interferon-competent bovine cells. *J Virol*, *76*(9), 4287-4293.
- Bourgeois, C., Bour, J. B., Lidholt, K., Gauthray, C., & Pothier, P. (1998). Heparin-like structures on respiratory syncytial virus are involved in its infectivity in vitro. *J Virol*, *72*(9), 7221-7227.

- Brown, G., Aitken, J., Rixon, H. W., & Sugrue, R. J. (2002). Caveolin-1 is incorporated into mature respiratory syncytial virus particles during virus assembly on the surface of virus-infected cells. *J Gen Virol*, 83(Pt 3), 611-621.
- Coiras, M., Lopez-Huertas, M. R., Perez-Olmeda, M., & Alcamí, J. (2009). Understanding HIV-1 latency provides clues for the eradication of long-term reservoirs. *Nat Rev Microbiol*, 7(11), 798-812.
- Collins, P. L., & Crowe Jr., J. E. (2007). *Respiratory Syncytial Virus and Metapneumovirus: Fields Virology* (Fifth ed. Vol. 1). New York.
- Collins, P. L., & Graham, B. S. (2008). Viral and host factors in human respiratory syncytial virus pathogenesis. *J Virol*, 82(5), 2040-2055.
- Corey, L., & Spear, P. G. (1986). Infections with herpes simplex viruses (1). *N Engl J Med*, 314(11), 686-691.
- Cubie, H. A., Duncan, L. A., Marshall, L. A., & Smith, N. M. (1997). Detection of respiratory syncytial virus nucleic acid in archival postmortem tissue from infants. *Pediatr Pathol Lab Med*, 17(6), 927-938.
- Chu, Y., Sperber, K., Mayer, L., & Hsu, M. T. (1992). Persistent infection of human adenovirus type 5 in human monocyte cell lines. *Virology*, 188(2), 793-800.
- Dakhama, A., Vitalis, T. Z., & Hegele, R. G. (1997). Persistence of respiratory syncytial virus (RSV) infection and development of RSV-specific IgG1 response in a guinea-pig model of acute bronchiolitis. *Eur Respir J*, 10(1), 20-26.
- Dall'Acqua, W. F., Kiener, P. A., & Wu, H. (2006). Properties of human IgG1s engineered for enhanced binding to the neonatal Fc receptor (FcRn). *J Biol Chem*, 281(33), 23514-23524.
- de la Torre, J. C., Borrow, P., & Oldstone, M. B. (1991). Viral persistence and disease: cytopathology in the absence of cytolysis. *Br Med Bull*, 47(4), 838-851.
- Deplanche, M., Lemaire, M., Mirandette, C., Bonnet, M., Schelcher, F., & Meyer, G. (2007). In vivo evidence for quasispecies distributions in the bovine respiratory syncytial virus genome. *J Gen Virol*, 88(Pt 4), 1260-1265.
- Dickens, L. E., Collins, P. L., & Wertz, G. W. (1984). Transcriptional mapping of human respiratory syncytial virus. *J Virol*, 52(2), 364-369.
- Domurat, F., Roberts, N. J., Jr., Walsh, E. E., & Dagan, R. (1985). Respiratory syncytial virus infection of human mononuclear leukocytes in vitro and in vivo. *J Infect Dis*, 152(5), 895-902.
- Eckardt-Michel, J., Lorek, M., Baxmann, D., Grunwald, T., Keil, G. M., & Zimmer, G. (2008). The fusion protein of respiratory syncytial virus triggers p53-dependent apoptosis. *J Virol*, 82(7), 3236-3249.
- Falsey, A. R., Formica, M. A., Hennessey, P. A., Criddle, M. M., Sullender, W. M., & Walsh, E. E. (2006). Detection of respiratory syncytial virus in adults with chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med*, 173(6), 639-643.
- Fang, Y. Y., Song, Z. M., & Dhib-Jalbut, S. (2001). Mechanism of measles virus failure to activate NF-kappaB in neuronal cells. *J Neurovirol*, 7(1), 25-34.
- Fatahzadeh, M., & Schwartz, R. A. (2007). Human herpes simplex virus infections: epidemiology, pathogenesis, symptomatology, diagnosis, and management. *J Am Acad Dermatol*, 57(5), 737-763; quiz 764-736.

- Fearns, R., & Collins, P. L. (1999). Model for polymerase access to the overlapped L gene of respiratory syncytial virus. *J Virol*, 73(1), 388-397.
- Feldman, S. A., Hendry, R. M., & Beeler, J. A. (1999). Identification of a linear heparin binding domain for human respiratory syncytial virus attachment glycoprotein G. *J Virol*, 73(8), 6610-6617.
- Fernie, B. F., Ford, E. C., & Gerin, J. L. (1981). The development of Balb/c cells persistently infected with respiratory syncytial virus: presence of ribonucleoprotein on the cell surface. *Proc Soc Exp Biol Med*, 167(1), 83-86.
- Finzi, D., Blankson, J., Siliciano, J. D., Margolick, J. B., Chadwick, K., Pierson, T., et al. (1999). Latent infection of CD4+ T cells provides a mechanism for lifelong persistence of HIV-1, even in patients on effective combination therapy. *Nat Med*, 5(5), 512-517.
- Fuentes, S., Tran, K. C., Luthra, P., Teng, M. N., & He, B. (2007). Function of the respiratory syncytial virus small hydrophobic protein. *J Virol*, 81(15), 8361-8366.
- Fulginiti, V. A., Eller, J. J., Sieber, O. F., Joyner, J. W., Minamitani, M., & Meiklejohn, G. (1969). Respiratory virus immunization. I. A field trial of two inactivated respiratory virus vaccines; an aqueous trivalent parainfluenza virus vaccine and an alum-precipitated respiratory syncytial virus vaccine. *Am J Epidemiol*, 89(4), 435-448.
- Groskreutz, D. J., Monick, M. M., Yarovinsky, T. O., Powers, L. S., Quelle, D. E., Varga, S. M., et al. (2007). Respiratory syncytial virus decreases p53 protein to prolong survival of airway epithelial cells. *J Immunol*, 179(5), 2741-2747.
- Hall, C. B. (2001). Respiratory syncytial virus and parainfluenza virus. *N Engl J Med*, 344(25), 1917-1928.
- Harmon, S. B., Megaw, A. G., & Wertz, G. W. (2001). RNA sequences involved in transcriptional termination of respiratory syncytial virus. *J Virol*, 75(1), 36-44.
- Hay, S., & Kannourakis, G. (2002). A time to kill: viral manipulation of the cell death program. *J Gen Virol*, 83(Pt 7), 1547-1564.
- Hayashi, S. (2002). Latent adenovirus infection in COPD. *Chest*, 121(5 Suppl), 183S-187S.
- Hegele, R. G., Hayashi, S., Bramley, A. M., & Hogg, J. C. (1994). Persistence of respiratory syncytial virus genome and protein after acute bronchiolitis in guinea pigs. *Chest*, 105(6), 1848-1854.
- Hierholzer, J. C., & Tannock, G. A. (1986). Respiratory syncytial virus: a review of the virus, its epidemiology, immune response and laboratory diagnosis. *Aust Paediatr J*, 22(2), 77-82.
- Hong, G. K., Gulley, M. L., Feng, W. H., Delecluse, H. J., Holley-Guthrie, E., & Kenney, S. C. (2005). Epstein-Barr virus lytic infection contributes to lymphoproliferative disease in a SCID mouse model. *J Virol*, 79(22), 13993-14003.
- Hood, C., Cunningham, A. L., Slobedman, B., Arvin, A. M., Sommer, M. H., Kinchington, P. R., et al. (2006). Varicella-zoster virus ORF63 inhibits apoptosis of primary human neurons. *J Virol*, 80(2), 1025-1031.
- Hsia, C. C., Evarts, R. P., Nakatsukasa, H., Marsden, E. R., & Thorgeirsson, S. S. (1992). Occurrence of oval-type cells in hepatitis B virus-associated human hepatocarcinogenesis. *Hepatology*, 16(6), 1327-1333.

- Hsu, D. H., de Waal Malefyt, R., Fiorentino, D. F., Dang, M. N., Vieira, P., de Vries, J., et al. (1990). Expression of interleukin-10 activity by Epstein-Barr virus protein BCRF1. *Science*, 250(4982), 830-832.
- Huang, Y. T., Collins, P. L., & Wertz, G. W. (1985). Characterization of the 10 proteins of human respiratory syncytial virus: identification of a fourth envelope-associated protein. *Virus Res*, 2(2), 157-173.
- Humme, S., Reisbach, G., Feederle, R., Delecluse, H. J., Bousset, K., Hammerschmidt, W., et al. (2003). The EBV nuclear antigen 1 (EBNA1) enhances B cell immortalization several thousandfold. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 100(19), 10989-10994.
- Hussain, K. A., Issel, C. J., Schnorr, K. L., Rwambo, P. M., & Montelaro, R. C. (1987). Antigenic analysis of equine infectious anemia virus (EIAV) variants by using monoclonal antibodies: epitopes of glycoprotein gp90 of EIAV stimulate neutralizing antibodies. *J Virol*, 61(10), 2956-2961.
- Iankevich, O. D., & Dreizin, R. S. (1977). [Chronic infection of HeLa cells with respiratory syncytial virus]. *Vopr Virusol*(2), 142-147.
- Iannello, A., Debbeche, O., Martin, E., Attalah, L. H., Samarani, S., & Ahmad, A. (2006). Viral strategies for evading antiviral cellular immune responses of the host. *J Leukoc Biol*, 79(1), 16-35.
- Isaia, G., Teodosiu, O., Popescu, G., Athanasiu, P., Sternberg, I., & Dumitriu, Z. (1985). Persistence of viruses in the nasopharynx of apparently healthy children aged 0-5 years. Results of investigations performed in 1982-83. *Virologie*, 36(3), 175-179.
- Kaplan, G., & Racaniello, V. R. (1991). Down regulation of poliovirus receptor RNA in HeLa cells resistant to poliovirus infection. *J Virol*, 65(4), 1829-1835.
- Karron, R. A., Buonagurio, D. A., Georgiu, A. F., Whitehead, S. S., Adamus, J. E., Clements-Mann, M. L., et al. (1997). Respiratory syncytial virus (RSV) SH and G proteins are not essential for viral replication in vitro: clinical evaluation and molecular characterization of a cold-passaged, attenuated RSV subgroup B mutant. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 94(25), 13961-13966.
- Kennedy, P. G. (2002). Key issues in varicella-zoster virus latency. *J Neurovirol*, 8 Suppl 2, 80-84.
- Kerdiles, Y. M., Sellin, C. I., Druelle, J., & Horvat, B. (2006). Immunosuppression caused by measles virus: role of viral proteins. *Rev Med Virol*, 16(1), 49-63.
- Khanna, K. M., Lepisto, A. J., Decman, V., & Hendricks, R. L. (2004). Immune control of herpes simplex virus during latency. *Curr Opin Immunol*, 16(4), 463-469.
- Kindt, T. J., Goldsby, R. A., & Osborne, B. A. (2007). *Inmunología de Kuby*. Sexta Edición.
- Knipe, D. M., & Cliffe, A. (2008). Chromatin control of herpes simplex virus lytic and latent infection. *Nat Rev Microbiol*, 6(3), 211-221.
- Kramer, M. F., & Coen, D. M. (1995). Quantification of transcripts from the ICP4 and thymidine kinase genes in mouse ganglia latently infected with herpes simplex virus. *J Virol*, 69(3), 1389-1399.
- Krempl, C., Murphy, B. R., & Collins, P. L. (2002). Recombinant respiratory syncytial virus with the G and F genes shifted to the promoter-proximal positions. *J Virol*, 76(23), 11931-11942.

- Krivitskaia, V. Z., & Iakovleva, N. V. (1992). [The characteristics of the humoral response to respiratory syncytial viral infection in adult patients with different forms of bronchitis]. *Vopr Virusol*, 37(3), 146-149.
- Krivitskaia, V. Z., Iakovleva, N. V., & Aleksandrova, N. I. (1996). [Characteristics of anti-respiratory syncytial humoral immunity during persistence of respiratory syncytial virus antigens in adult patients with chronic obstructive bronchitis]. *Vopr Virusol*, 41(5), 234-237.
- Krusat, T., & Streckert, H. J. (1997). Heparin-dependent attachment of respiratory syncytial virus (RSV) to host cells. *Arch Virol*, 142(6), 1247-1254.
- Kuo, L., Grosfeld, H., Cristina, J., Hill, M. G., & Collins, P. L. (1996). Effects of mutations in the gene-start and gene-end sequence motifs on transcription of monocistronic and dicistronic minigenomes of respiratory syncytial virus. *J Virol*, 70(10), 6892-6901.
- Levine, B., Hardwick, J. M., & Griffin, D. E. (1994). Persistence of alphaviruses in vertebrate hosts. *Trends Microbiol*, 2(1), 25-28.
- Levine S, H. R. (1969). Kinetics of the respiratory syncytial virus growth cycle in HeLa cells. *Arch. Gesamte Virusforsch.*(28), 122-132.
- Levine S, K.-F. R., Paradiso PR. (1987). Demonstration that glycoprotein G is the attachment protein of respiratory syncytial virus. *J Gen Virol*(68), 2521-2524.
- Ludlow, M., McQuaid, S., Cosby, S. L., Cattaneo, R., Rima, B. K., & Duprex, W. P. (2005). Measles virus superinfection immunity and receptor redistribution in persistently infected NT2 cells. *J Gen Virol*, 86(Pt 8), 2291-2303.
- Madigan, M. T., Martinko J. M., Parker Jack. (2004). *Brock. Biología de los microorganismos* (10a ed.). España.
- Matsuse, T., Hayashi, S., Kuwano, K., Keunecke, H., Jefferies, W. A., & Hogg, J. C. (1992). Latent adenoviral infection in the pathogenesis of chronic airways obstruction. *Am Rev Respir Dis*, 146(1), 177-184.
- Mejias, A., Chavez-Bueno, S., Gomez, A. M., Somers, C., Estripeaut, D., Torres, J. P., et al. (2008). Respiratory syncytial virus persistence: evidence in the mouse model. *Pediatr Infect Dis J*, 27(10 Suppl), S60-62.
- Meyerhans, A., Dadaglio, G., Vartanian, J. P., Langlade-Demoyen, P., Frank, R., Asjo, B., et al. (1991). In vivo persistence of a HIV-1-encoded HLA-B27-restricted cytotoxic T lymphocyte epitope despite specific in vitro reactivity. *Eur J Immunol*, 21(10), 2637-2640.
- Mikhailchenkova, N. N., Kniazeva, L. D., & Slepshkin, A. N. (1987). [Respiratory syncytial virus infection in chronic bronchitis patients]. *Ter Arkh*, 59(7), 50-52.
- Mills, B. G., & Singer, F. R. (1987). Critical evaluation of viral antigen data in Paget's disease of bone. *Clin Orthop Relat Res*(217), 16-25.
- Mills, B. G., Singer, F. R., Weiner, L. P., & Holst, P. A. (1981). Immunohistological demonstration of respiratory syncytial virus antigens in Paget disease of bone. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 78(2), 1209-1213.
- Mills, B. G., Singer, F. R., Weiner, L. P., Suffin, S. C., Stabile, E., & Holst, P. (1984). Evidence for both respiratory syncytial virus and measles virus antigens in the osteoclasts of patients with Paget's disease of bone. *Clin Orthop Relat Res*(183), 303-311.

- Moench, T. R., Griffin, D. E., Obriecht, C. R., Vaisberg, A. J., & Johnson, R. T. (1988). Acute measles in patients with and without neurological involvement: distribution of measles virus antigen and RNA. *J Infect Dis*, *158*(2), 433-442.
- Murata, Y. (2008). Respiratory syncytial virus infection in adults. *Curr Opin Pulm Med*, *14*(3), 235-240.
- Nelson, J. E., & Kay, M. A. (1997). Persistence of recombinant adenovirus in vivo is not dependent on vector DNA replication. *J Virol*, *71*(11), 8902-8907.
- Nieto, K., Gissmann, L., & Schadlich, L. (2010). Human papillomavirus-specific immune therapy: failure and hope. *Antivir Ther*, *15*(7), 951-957.
- Openshaw, P. J. (1995). Immunopathological mechanisms in respiratory syncytial virus disease. *Springer Semin Immunopathol*, *17*(2-3), 187-201.
- P'Ringle C, R., Shirodaria, P. V., Cash, P., Chiswell, D. J., & Malloy, P. (1978). Initiation and maintenance of persistent infection by respiratory syncytial virus. *J Virol*, *28*(1), 199-211.
- Palefsky, J. (2006). Biology of HPV in HIV infection. *Adv Dent Res*, *19*(1), 99-105.
- Peng, R., Moses, S. C., Tan, J., Kremmer, E., & Ling, P. D. (2005). The Epstein-Barr virus EBNA-LP protein preferentially coactivates EBNA2-mediated stimulation of latent membrane proteins expressed from the viral divergent promoter. *J Virol*, *79*(7), 4492-4505.
- Piedimonte, G. (2002). The association between respiratory syncytial virus infection and reactive airway disease. *Respir Med*, *96 Suppl B*, S25-29.
- Ramakrishna, C., Stohlman, S. A., Atkinson, R. D., Shlomchik, M. J., & Bergmann, C. C. (2002). Mechanisms of central nervous system viral persistence: the critical role of antibody and B cells. *J Immunol*, *168*(3), 1204-1211.
- Ridpath, J. (2010). The contribution of infections with bovine viral diarrhoea viruses to bovine respiratory disease. *Vet Clin North Am Food Anim Pract*, *26*(2), 335-348.
- Roman, M., Calhoun, W. J., Hinton, K. L., Avendano, L. F., Simon, V., Escobar, A. M., et al. (1997). Respiratory syncytial virus infection in infants is associated with predominant Th-2-like response. *Am J Respir Crit Care Med*, *156*(1), 190-195.
- Routledge, E. G., Willcocks, M. M., Morgan, L., Samson, A. C., Scott, R., & Toms, G. L. (1987). Expression of the respiratory syncytial virus 22K protein on the surface of infected HeLa cells. *J Gen Virol*, *68* ( Pt 4), 1217-1222.
- Rueda, P., Garcia-Barreno, B., & Melero, J. A. (1994). Loss of conserved cysteine residues in the attachment (G) glycoprotein of two human respiratory syncytial virus escape mutants that contain multiple A-G substitutions (hypermutations). *Virology*, *198*(2), 653-662.
- Sarmiento, R. E., Arias, C. F., Mendez, E., & Gomez, B. (2009). Characterization of a persistent respiratory syncytial virus showing a low-fusogenic activity associated to an impaired F protein. *Virus Res*, *139*(1), 39-47.
- Sarmiento, R. E., Tirado, R., & Gomez, B. (2002). Characteristics of a respiratory syncytial virus persistently infected macrophage-like culture. *Virus Res*, *84*(1-2), 45-58.

- Satoh, T., & Arase, H. (2006). [Mechanisms in evasion of host immune response by HCMV]. *Nippon Rinsho*, 64 Suppl 3, 421-426.
- Schickli, J. H., Dubovsky, F., & Tang, R. S. (2009). Challenges in developing a pediatric RSV vaccine. *Hum Vaccin*, 5(9), 582-591.
- Schwarze, J., O'Donnell, D. R., Rohwedder, A., & Openshaw, P. J. (2004). Latency and persistence of respiratory syncytial virus despite T cell immunity. *Am J Respir Crit Care Med*, 169(7), 801-805.
- Simmons, P. (2000). Immunopathogenesis of HIV infection: concepts and questions. *Res Initiat Treat Action*, 6(2), 16-18.
- SSA. (2009). Sistema Nacional de Información en Salud. México [www.sinais.salud.gob](http://www.sinais.salud.gob).
- Stanley, J., Bhaduri, L. M., Narayan, O., & Clements, J. E. (1987). Topographical rearrangements of visna virus envelope glycoprotein during antigenic drift. *J Virol*, 61(4), 1019-1028.
- Storey, S. (2010). Respiratory syncytial virus market. *Nat Rev Drug Discov*, 9(1), 15-16.
- Streckert, H. J., Philippou, S., & Riedel, F. (1996). Detection of respiratory syncytial virus (RSV) antigen in the lungs of guinea pigs 6 weeks after experimental infection and despite of the production of neutralizing antibodies. *Arch Virol*, 141(3-4), 401-410.
- Techaarpornkul, S., Collins, P. L., & Peeples, M. E. (2002). Respiratory syncytial virus with the fusion protein as its only viral glycoprotein is less dependent on cellular glycosaminoglycans for attachment than complete virus. *Virology*, 294(2), 296-304.
- Teng, M. N., Whitehead, S. S., & Collins, P. L. (2001). Contribution of the respiratory syncytial virus G glycoprotein and its secreted and membrane-bound forms to virus replication in vitro and in vivo. *Virology*, 289(2), 283-296.
- Thornberry, N. A., & Lazebnik, Y. (1998). Caspases: enemies within. *Science*, 281(5381), 1312-1316.
- Tirado, R., Ortega, A., Sarmiento, R. E., & Gomez, B. (2005). Interleukin-8 mRNA synthesis and protein secretion are continuously up-regulated by respiratory syncytial virus persistently infected cells. *Cell Immunol*, 233(1), 61-71.
- Tripp, R. A. (2004). Pathogenesis of respiratory syncytial virus infection. *Viral Immunol*, 17(2), 165-181.
- Tripp, R. A., Moore, D., Jones, L., Sullender, W., Winter, J., & Anderson, L. J. (1999). Respiratory syncytial virus G and/or SH protein alters Th1 cytokines, natural killer cells, and neutrophils responding to pulmonary infection in BALB/c mice. *J Virol*, 73(9), 7099-7107.
- Valarcher, J. F., Bourhy, H., Lavenu, A., Bourges-Abella, N., Roth, M., Andreoletti, O., et al. (2001). Persistent infection of B lymphocytes by bovine respiratory syncytial virus. *Virology*, 291(1), 55-67.
- Welsh, R. M., & Seedhom, M. O. (2008). Lymphocytic choriomeningitis virus (LCMV): propagation, quantitation, and storage. *Curr Protoc Microbiol*, Chapter 15, Unit 15A 11.
- Wilson, R. L., Fuentes, S. M., Wang, P., Taddeo, E. C., Klatt, A., Henderson, A. J., et al. (2006). Function of small hydrophobic proteins of paramyxovirus. *J Virol*, 80(4), 1700-1709.

- Woyciechowska, J. L., Madden, D. L., & Sever, J. L. (1977). Absence of measles-virus antigen in jejunum of multiple-sclerosis patients. *Lancet*, 2(8047), 1046-1049.
- Wyde, P. R. (1998). Respiratory syncytial virus (RSV) disease and prospects for its control. *Antiviral Res*, 39(2), 63-79.
- Zinnheimer-Dreikorn, J., & Koschel, K. P. (1990). Antigenic modulation of measles subacute sclerosing panencephalitis virus in a persistently infected rat glioma cell line by monoclonal anti-haemagglutinin antibodies. *J Gen Virol*, 71 ( Pt 6), 1391-1394.
- Zwaagstra, J. C., Ghiasi, H., Slanina, S. M., Nesburn, A. B., Wheatley, S. C., Lillycrop, K., et al. (1990). Activity of herpes simplex virus type 1 latency-associated transcript (LAT) promoter in neuron-derived cells: evidence for neuron specificity and for a large LAT transcript. *J Virol*, 64(10), 5019-5028.