



FACULTAD DE
CIENCIAS

Microbiología clínica

Grado en Bioquímica

Departamento de Biología Molecular

JMRR-UAM © 2023

UAM

Universidad Autónoma
de Madrid

TEMA 3. INTRODUCCIÓN A LA VIROLOGÍA CLÍNICA

Carla Dávila Yagüe

Elena Castellví Martínez

Irene González-Ortega Villena

Rodrigo de la Llave Castro

Lucía Márquez Ansede

Tema 3. INTRODUCCIÓN A LA VIROLOGÍA CLÍNICA.

Índice

1. Introducción	3
2. Diagnóstico de infecciones virales.....	6
2.1. Aislamiento de virus en cultivo de células.....	7
2.2. Detección de virus directamente en las muestras clínicas.....	9
2.2.1. <i>Microscopía electrónica (ME)</i>	9
2.2.2. <i>Inmunofluorescencia y tinción inmunoquímica</i>	9
2.2.3. <i>Inmunoensayos en fase sólida</i>	10
2.2.4. <i>Hibridación de ácidos nucleicos</i>	11
2.3. Serodiagnóstico de infecciones víricas	15
3. Interacción virus-hospedador	18
4. Respuesta inmunitaria frente a virus	24
4.1. Elementos inmunitarios específicos y no específicos	24
4.2. Estrategias desarrolladas por los virus para evadir la respuesta inmunitaria	28
5. Reconocimiento inmunitario innato de las infecciones virales	29
5.1. Reconocimiento de la infección viral en el exterior celular o en la vía endocítica.....	31
5.2. Sensores citoplasmáticos de la infección viral.....	33
6. Otros factores celulares que restringen la replicación viral: co-evolución virus- hospedador	39
6.1. Proteína APOBEC3G	39
6.2. Proteína TRIM5 α	41
7. Vacunas.....	42
Referencias	44

Tema 3. INTRODUCCIÓN A LA VIROLOGIA CLINICA.

1. Introducción.

Los virus son las formas de vida más abundantes sobre la tierra, están presentes en todos los ecosistemas e infectan a animales, plantas y bacterias. Probablemente, todos los seres vivos se encuentran infectados por algún tipo de virus. Y, en su conjunto, se estima que existen unos 10^{31} virus sobre la tierra. Además, a lo largo de la evolución han surgido numerosas especies de virus y su clasificación taxonómica es un campo muy activo de investigación, como se muestran en la figura 1.

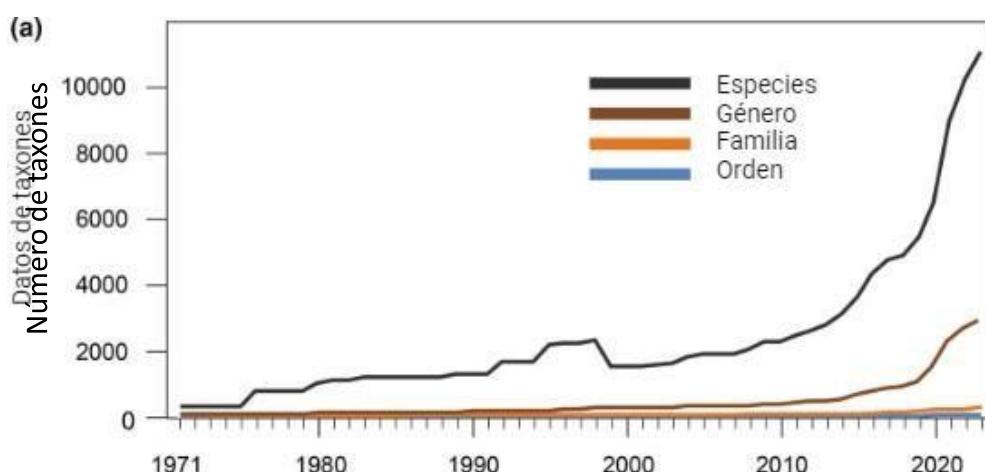


Figura 1. Número de taxones a nivel de especie, género, familia y orden, 1971-2023.
(Modificado de Siddell et al, 2023).

La enorme variedad de los virus ha sido una dificultad a la hora de establecer su clasificación, que se ha hecho siguiendo diversos criterios. Históricamente, las clasificaciones reflejaban la información disponible a partir de la biología descriptiva. Los virus fueron así clasificados de acuerdo al hospedador (p. ej. plantas, insectos, etc.), por el órgano blanco de la enfermedad (respiratorios, hepatitis, entéricos, etc.), y otros. Estas clasificaciones han resultado, a menudo, ser solapantes e inconsistentes.

La biología molecular ha permitido clasificar de acuerdo con la estructura genómica y biofísica, que tiene sentido cuantitativo y evolutivo.

El primer intento de clasificar los virus desde una aproximación molecular lo realizó David Baltimore, quien en 1971 propuso una clasificación basada en la forma en la que los virus llevan a cabo la expresión génica y cómo la información biológica es transferida. En la figura 2 se muestran las siete categorías de virus reconocidas en la llamada clasificación de Baltimore.

Grupo	Ejemplo	Procesamiento del material genético
Grupo 1 dsDNA	Viruela	
Grupo 2 +ssDNA	Parvovirus	
Grupo 3 dsRNA	Rotavirus	
Grupo 4 +ssRNA	Coronavirus	
Grupo 5 -ssRNA	Sarampión	
Grupo 6 +ssRNA-RT	HIV	
Grupo 7 dsDNA-RT	Hepatitis B	

Figura 2. Clasificación de Baltimore. Creado con *Biorender*.

Sin embargo, la clasificación de Baltimore no implica necesariamente una relación evolutiva entre las diferentes categorías o clases. Cuando se analiza la distribución de las clases de virus de la clasificación de Baltimore en los distintos grupos de organismos (Fig. 3), por su abundancia en bacterias y arquebacterias, la conclusión más inmediata podría ser que los virus de DNA de cadena doble son los más antiguos, pues estos son especialmente abundantes en estos reinos, aparecidos de forma más temprana en la evolución de la vida. En cambio, los virus de RNA son mucho más frecuentes en los distintos grupos de eucariotas.

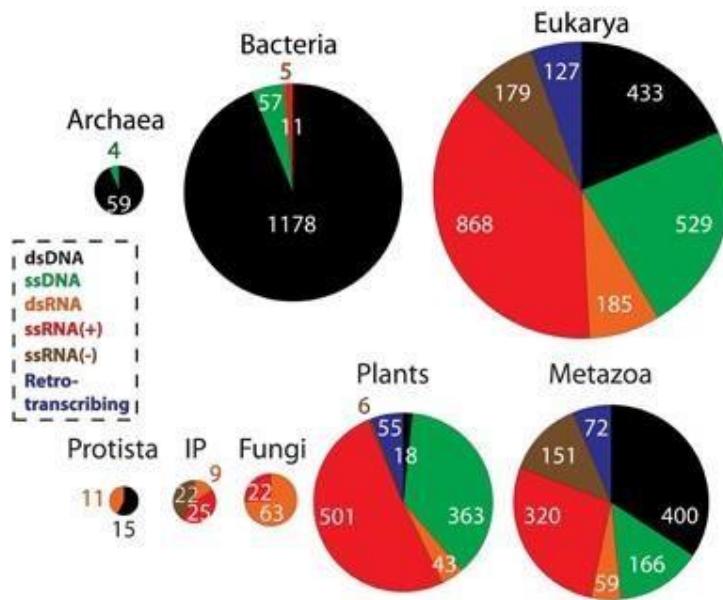


Figura 3. Abundancia y diversidad de linajes virales en los diferentes dominios de la vida. Categorías: Archaea, Bacteria, Protista, Invertebrados y plantas (IP); Hongos; Plantas y Metazoos. (Nasir et al, 2014).

Determinar las relaciones evolutivas entre los virus no es una tarea fácil, pues no existe un marcador molecular común a todos, como sí ocurre en el resto de organismos, que poseen moléculas universales tales como los genes rRNA. Además, muchos virus dependen de la maquinaria de replicación o transcripción de la célula hospedadora para multiplicarse y, por tanto, carecen de polimerasas propias. No obstante, a través del análisis de proteínas más comunes entre los diferentes tipos de virus, como son las encargadas de la replicación o de la formación del virión, se han podido establecer la existencia de seis supergrupos o reinos de virus (Fig. 4).

Cuando se comparan los grupos de la clasificación de Baltimore con los reinos de virus establecidos de acuerdo con las características de proteínas comunes, resulta llamativo el hecho de que todos los virus con genoma RNA se agrupan en el reino Riboviria. Esto ha llevado a plantear que los virus podrían tener un origen común (monofilético) y haber aparecido en la época evolutiva en la que el RNA desempeñó un papel primordial en el origen de la vida. Y la aparición de los virus pudo haber ocurrido al surgir moléculas (proteínas) capaces de replicar a los RNAs que las codificaban.

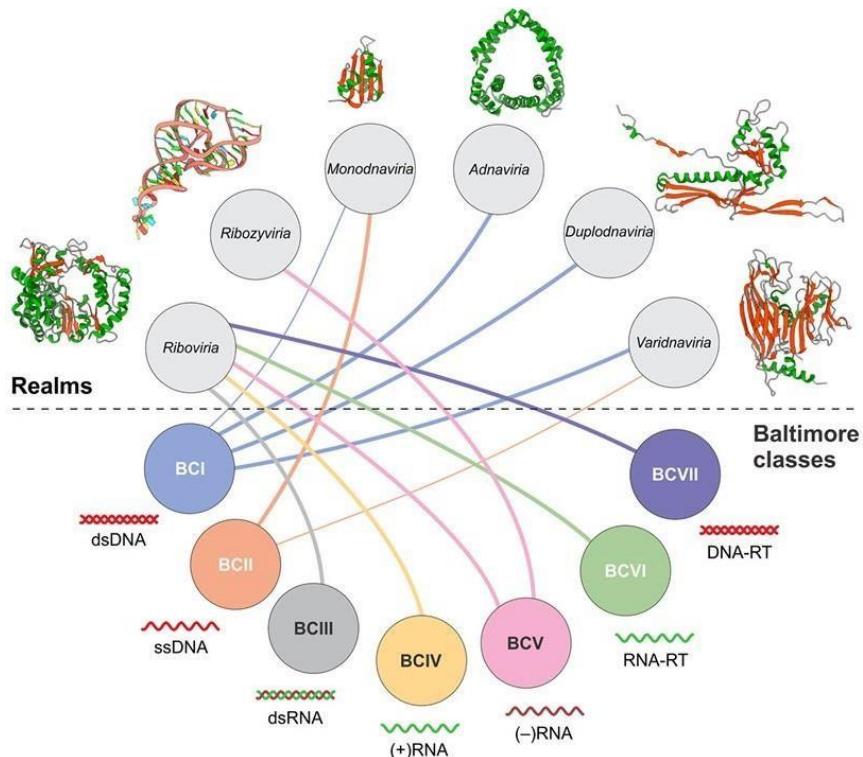


Figura 4. Clases de Baltimore y los reinos monofiléticos de los virus. Las líneas indican las asociaciones. Para cada reino de virus, se muestra una estructura proteica distintiva. Las estructuras están coloreadas por la estructura secundaria: hélices alfa, verde; láminas beta, rojo. (Koonin et al, 2021).

2. Diagnóstico de infecciones virales.

La demanda de métodos de diagnóstico, rápidos y seguros, de enfermedades víricas ha aumentado drásticamente en los últimos años. La expansión de los métodos de diagnóstico, y de laboratorios encargados de llevarlos a cabo, se debe al aumento en la conciencia de la importancia de las infecciones víricas, con el SIDA siendo el principal ejemplo.

Hay un principio que es fundamental y que debe ser tenido en cuenta a la hora de interpretar los datos de diagnóstico: ningún método de diagnóstico es infalible. Por lo tanto, es muy peligroso basar el diagnóstico de una enfermedad en un único resultado. Los especialistas en clínica deben tener en cuenta que todos los ensayos pueden dar resultados falso-negativos y falso-positivos.

Prácticamente, todas las técnicas de diagnóstico se basan en tres características de los virus y las infecciones que producen:

- 1) Alta tasa de multiplicación. Los virus son máquinas biológicas dedicadas a la generación de virus progenie. Por tanto, las técnicas de crecimiento y aislamiento de virus *in vitro* siguen siendo las más ampliamente utilizadas y probablemente los mejores métodos de diagnóstico disponibles. Así, el aislamiento e identificación de virus

a partir de las muestras clínicas es uno de los métodos de diagnóstico más seguros. Sin embargo, el mantenimiento de cultivos de tejidos es un procedimiento caro y que requiere de una labor intensiva que no está disponible en todos los laboratorios de diagnóstico.

- 2) El segundo principio es que los virus están compuestos por dos componentes, ácidos nucleicos y proteínas. La detección de los componentes específicos de virus en muestras clínicas es la base para las técnicas diagnósticas que examinan las muestras para la búsqueda de virus sin necesidad de aislarlos en cultivos celulares.
- 3) El tercer principio está basado en la respuesta inmunitaria del hospedador. Las infecciones víricas promueven respuestas inmunitarias específicas frente al virus que pueden ser detectadas en el suero de pacientes o en el fluido cerebroespinal (CSF).

2.1. Aislamiento de virus en cultivo de células.

Además de tratarse de un método de diagnóstico eficaz, esta técnica presenta otra serie de ventajas adicionales:

- 1) El aislamiento de los virus permite realizar otros ensayos adicionales, que pueden ayudar al especialista a tratar con mayor éxito al paciente. Así, por ejemplo, una vez que se ha aislado un virus se puede llevar a cabo un análisis sobre susceptibilidad a diferentes fármacos, dado que se podrían poner de manifiesto la existencia de virus resistentes e indicar al médico la necesidad de emplear una terapia alternativa.
- 2) El aislamiento de los virus tiene un valor epidemiológico importante. Por ejemplo, el serotipaje y subtipaje de los virus de la gripe es crítico para la selección de la cepa vacunal.

A pesar de estas ventajas, también hay factores que limitan su empleo. Así, la mayoría de los laboratorios de diagnóstico poseen sólo dos o tres líneas celulares que sólo permiten el crecimiento de algunos tipos concretos de virus. Sin embargo, otros patógenos virales requieren de sistemas de cultivo de células muy especializadas que tiene un costo muy elevado, prohibitivo para laboratorios de clínica. Por ejemplo, el HIV y otros virus linfotrópicos sólo se pueden crecer en células mononucleares de sangre periférica humana.

La identificación presuntiva de los aislados virales se acompaña normalmente con el examen visual del cultivo del tejido infectado por un virólogo experimentado. Esta identificación presuntiva se basa en la historia clínica, la fuente de la muestra, el tiempo y la aparición del efecto citopático (CPE), y el rango de hospedador del virus in vitro. En la Tabla 1 se muestran líneas celulares sensibles para virus muy comunes y una estimación del tiempo requerido para el desarrollo de CPE. En la Fig. 5 se muestra el efecto citopático del RSV sobre un cultivo de células.

TABLA 1. Líneas celulares sensibles a algunos virus comunes.

Virus	Línea celular	Porcentaje de CPE		
		Día 3	Día 7	Mas de 10 días
Herpes simplex (HSV)	Riñón de conejo (cultivo primario)	>90	>98	<2
Varicella-zoster (VZV)	Fibroblastos humanos	<2	80	10
Citomegalovirus (CMV)	Fibroblastos humanos	10	60	20
Enterovirus	Riñón de mono (cultivo primario)	60	95	<2
Rhinovirus	Fibroblastos humanos	40	80	10

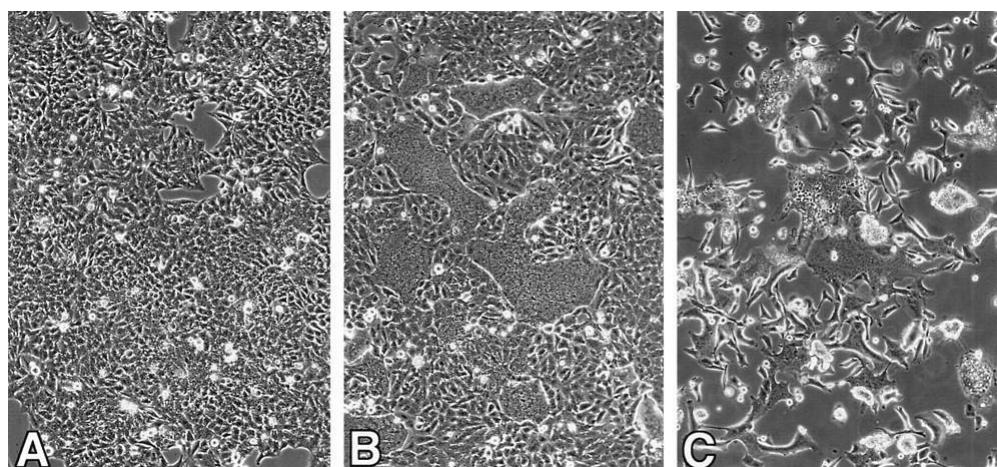


Figura 5. Células epiteliales respiratorias (HEp-2, línea celular de carcinoma de laringe) el día 1 (A), el día 3 (B) y el día 5 (C) después de la infección con virus del sarcoma de Rous (RSV). Ampliación, $\times 400$. (Domachowske et al, 1999).

Por ejemplo, aproximadamente el 90% de los aislados clínicos de HSV (Herpes simplex virus) producen CPE dentro de 3 días de la inoculación en células primarias de riñón de conejo (PRK). Casi todos los aislados de HSV son positivos dentro de la primera semana de cultivo. Muchos laboratorios de diagnóstico usan líneas celulares tales como Vero o BSC-1, derivadas de riñón de mono, para el aislamiento de HSV. Estas células son menos sensibles que las PRK; sin embargo, la mayoría de los aislados son capaces de producir efecto citopático sobre estas células. Los otros dos miembros de la familia *Herpesviridae*,

VZV (Varicella-zoster virus) y CMV (Cytomegalovirus), se inoculan normalmente en fibroblastos humanos, y el tiempo que se requiere para el desarrollo de CPE es más largo.

2.2. Detección de virus directamente en las muestras clínicas.

2.2.1. **Microscopía electrónica (ME).**

La detección directa de agentes víricos mediante la microscopía electrónica es una técnica útil, particularmente para aquellos virus que no pueden ser cultivados con células normales. Las mayores limitaciones de la ME son la carestía del instrumental y la relativamente alta concentración de virus que deben estar presentes en la muestra, que debe ser alrededor de 10^6 partículas/ml. Se han desarrollado varios métodos para aumentar la sensibilidad de la ME mediante la concentración de partículas virales. Entre éstos está la ultracentrifugación para sedimentar las partículas, el empleo de agarosa para absorber los fluidos de la muestra y aumentar así la concentración de partículas. La microscopía inmunoelectrónica emplea antisueros específicos para agregar las partículas víricas antes de la tinción.

2.2.2. **Inmunofluorescencia y tinción inmunoquímica.**

La tinción de antígenos virales directamente en muestras clínicas es una técnica ampliamente utilizada para el diagnóstico de infecciones virales. Como se muestra en la Fig. 6, existen dos metodologías básicas.

El método directo emplea un único anticuerpo, que es específico para el virus, y que se encuentra directamente marcado con un indicador, tal como la fluoresceína o la fosfatasa alcalina. El segundo método es indirecto, dado que emplea dos anticuerpos, uno específico frente al virus, que se une al antígeno, y el segundo es un anticuerpo anti-especie, que está marcado con el indicador.

La alta especificidad de estas técnicas depende de la calidad del anticuerpo primario. Dado que los anticuerpos monoclonales son específicos de un epítopo del virus, las reacciones cruzadas con células no infectadas o contaminantes de la muestra son muy infrecuentes. Sin embargo, la alta especificidad de los anticuerpos monoclonales puede ser una desventaja. Para ser útil como una herramienta diagnóstica, el epítopo reconocido por un monoclonal debe estar presente en todos o la mayoría de las diferentes cepas del

virus. En algunos casos se emplean mezclas de anticuerpos monoclonales para aumentar la sensibilidad del ensayo.

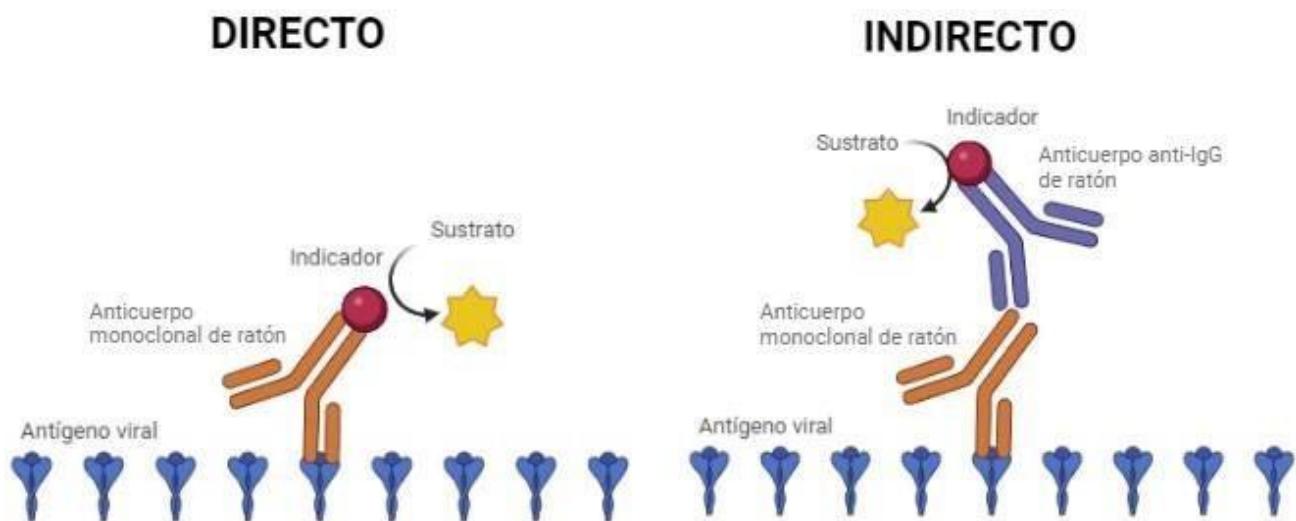


Figura 6. Detección directa e indirecta de antígenos. Creado con *Biorender*.

2.2.3. Inmunoensayos en fase sólida.

Este método también permite detectar específicamente antígeno vírico. Algunos ensayos emplean la filtración de la muestra a una membrana que une antígeno inespecíficamente. Este tipo de ensayo utiliza un enzima indicador y un sustrato que al ser procesado por el enzima genera un producto que precipita y resulta visible.

Un segundo tipo de ensayo en fase sólida es el que se ilustra en la figura 3. Estos ensayos se basan en la unión de un anticuerpo de captura a una placa de plástico microtiter o de bolas de poliestireno. Cuando existe antígeno vírico en la muestra, se une o es capturado por el anticuerpo inmovilizado. Este antígeno capturado es entonces detectado con un segundo anticuerpo marcado con un enzima. Los ELISAs utilizan un anticuerpo detector que está marcado con un enzima que produce un cambio de color cuando se añade el sustrato. Las enzimas son unas etiquetas muy eficaces pues una sola molécula puede catalizar muchas reacciones químicas sin ser consumida en la reacción; así, estas etiquetas son efectivas al amplificar las señales del ensayo. Los resultados son leídos en un espectrofotómetro o lector de placas.

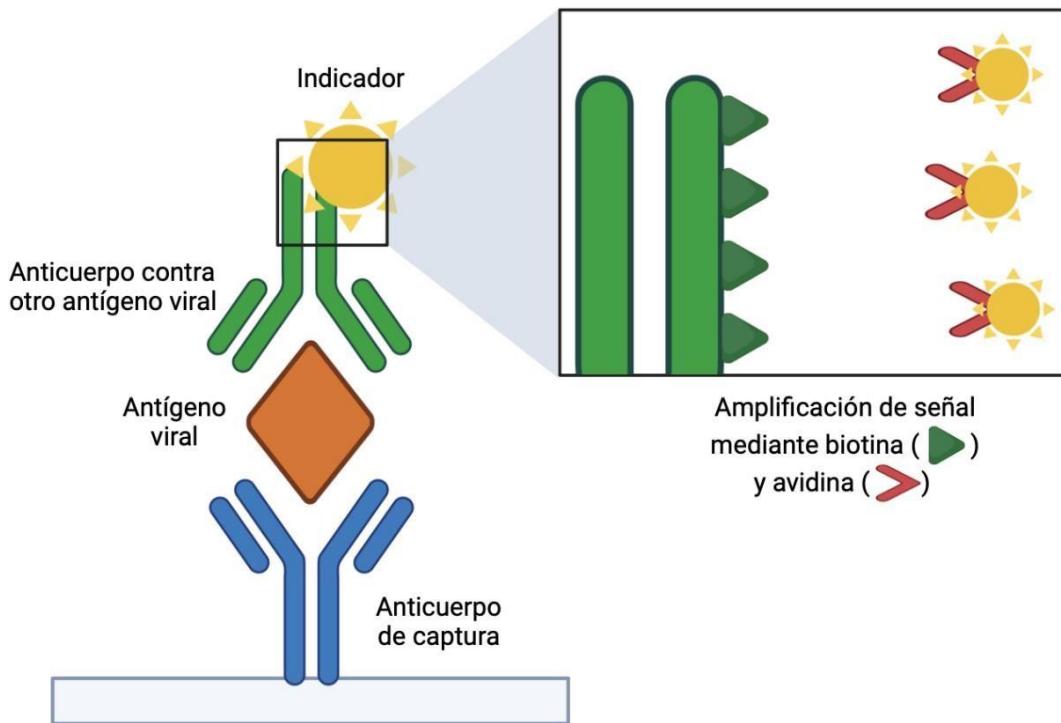


Figura 7. Ensayo ELISA para la detección de antígenos virales. Creado con *Biorender*.

El aumento de la señal se puede conseguir a través del aumento del número de indicadores presentes en el ensayo. Uno de estos métodos implica a la biotina, una pequeña molécula de vitamina que tiene una muy elevada afinidad de unión a la avidina. La avidina, una glicoproteína presente en la clara de huevo, se utilizó en algunos sistemas de ensayo; sin embargo, produce grandes valores de fondo por unión inespecífica a otras proteínas distintas que la biotina. La señal del fondo es disminuida mediante el empleo de estreptavidina obtenida de *Streptomyces avidinii*. El aumento de la señal se obtiene por biotinilación del anticuerpo detector, lo que genera muchos sitios de unión por avidina, que a su vez porta el indicador. Esto permite la unión de más indicador a un único anticuerpo detector, amplificando así la señal (Fig 7).

Los radioinmunoensayos (RIA) utilizan el anticuerpo detector marcado con radioactividad y los resultados se determinan en contadores beta o gamma. Inicialmente el RIA era más sensible que el ELISA; sin embargo, la distancia se ha acortado con los métodos mejorados de marcaje con enzimas y el empleo de sustratos fluorogénicos o quimioluminiscentes.

2.2.4. Hibridación de ácidos nucleicos.

El gran avance de la Biología Molecular ha permitido el desarrollo de las técnicas de hibridación de ácidos nucleicos en el diagnóstico de enfermedades víricas. Las sondas se pueden obtener mediante técnicas de DNA recombinante o incluso sintetizadas y

utilizadas para detectar una secuencia de DNA presente sólo en el genoma del virus de interés. Aunque los métodos inmunológicos son de gran utilidad y se emplean con gran frecuencia, los métodos basados en la detección de ácidos nucleicos son adecuados para la identificación de patógenos nuevos.

Hay tres formatos empleados comúnmente en laboratorios de virología para la detección de virus mediante hibridación: en fase sólida, *in situ* y por intensificación de la señal.

La fase sólida es conceptualmente similar a los inmunoensayos de fase sólida utilizados para detectar antígeno en que el blanco vírico es inmovilizado y detectado con una sonda de ácido nucleico marcada. Este método, igual que el RIA, inicialmente utilizaba radioactividad para marcar las sondas; sin embargo, actualmente la mayoría de las sondas se marcan con biotina o digoxigenina. Los mejores ejemplos de métodos de hibridación en fase sólida son el "dot-blot" y el "slot-blot". El principio del dot-blot se ilustra en la figura 8. Los ácidos nucleicos procedentes de muestras clínicas se extraen, se desnaturalizan y se fijan a una membrana. Las sondas específicas para el virus, marcadas con biotina o digoxigenina, se incuban con la membrana bajo condiciones que permiten el apareamiento sólo entre la sonda y las secuencias virales. Después de lavar la sonda no unida, la sonda unida específicamente a la membrana es detectada con un anticuerpo conjugado a un enzima que es específico para biotina o digoxigenina. La detección final de la señal de hibridación se consigue mediante la adición de un sustrato que precipita sobre el filtro. Los sustratos quimioluminiscentes que emiten luz en la presencia del enzima han aumentado la sensibilidad de detección dado que la señal es acumulativa y puede ser medida después de largos períodos mediante la exposición de la membrana a emulsiones fotográficas o leída en un luminómetro.

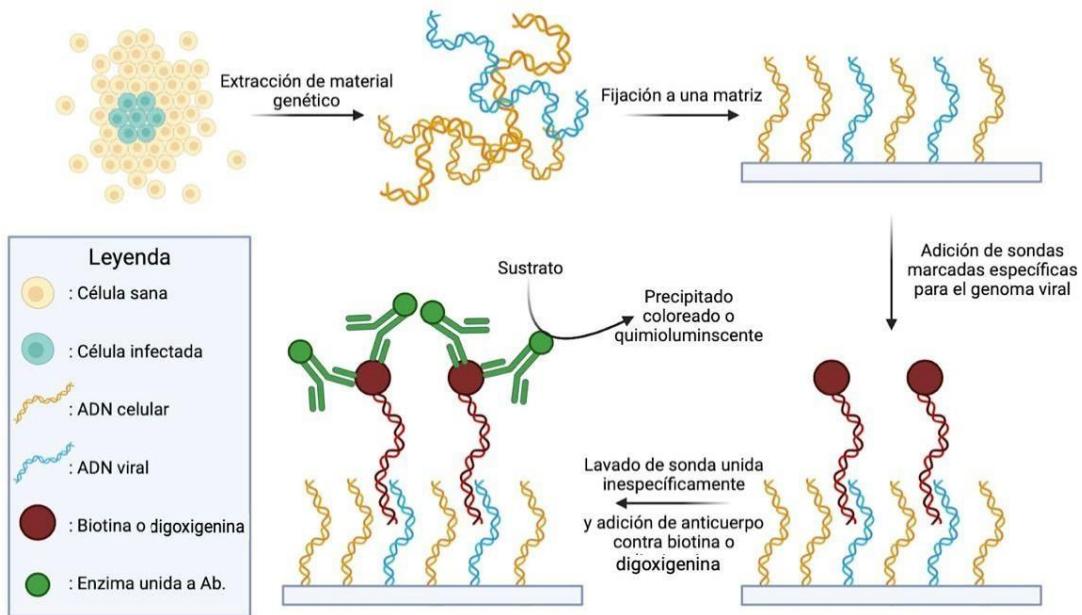


Figura 8. Hibridación de DNA en fase sólida. Creado con Biorender.

Dot o slot-blot son también utilizados para virus RNA, pero la aplicación de este método al diagnóstico es complicada debido a la naturaleza lábil del RNA y lo laborioso de los procesos de extracción. El Southern blot es una técnica conceptualmente similar al dot-blot, pero que permite una mejor definición de las secuencias víricas presentes en las muestras clínicas.

La hibridación *in situ* se realiza mediante la hibridación de una sonda marcada a tejidos fijados y embebidos en parafina y tiene la ventaja de que mantiene la morfología celular, lo que le permite al investigador el determinar la distribución y la abundancia del DNA viral. Para permitir la hibridación de la sonda marcada, será necesario permeabilizar la membrana de las células de la muestra, someterlas a una temperatura que induzca desnaturalización de su material genético y, cuando se haya añadido la sonda, cambiar la temperatura a una que favorezca la renaturalización. Los resultados se analizarán mediante microscopía, como se puede observar en la figura 9.

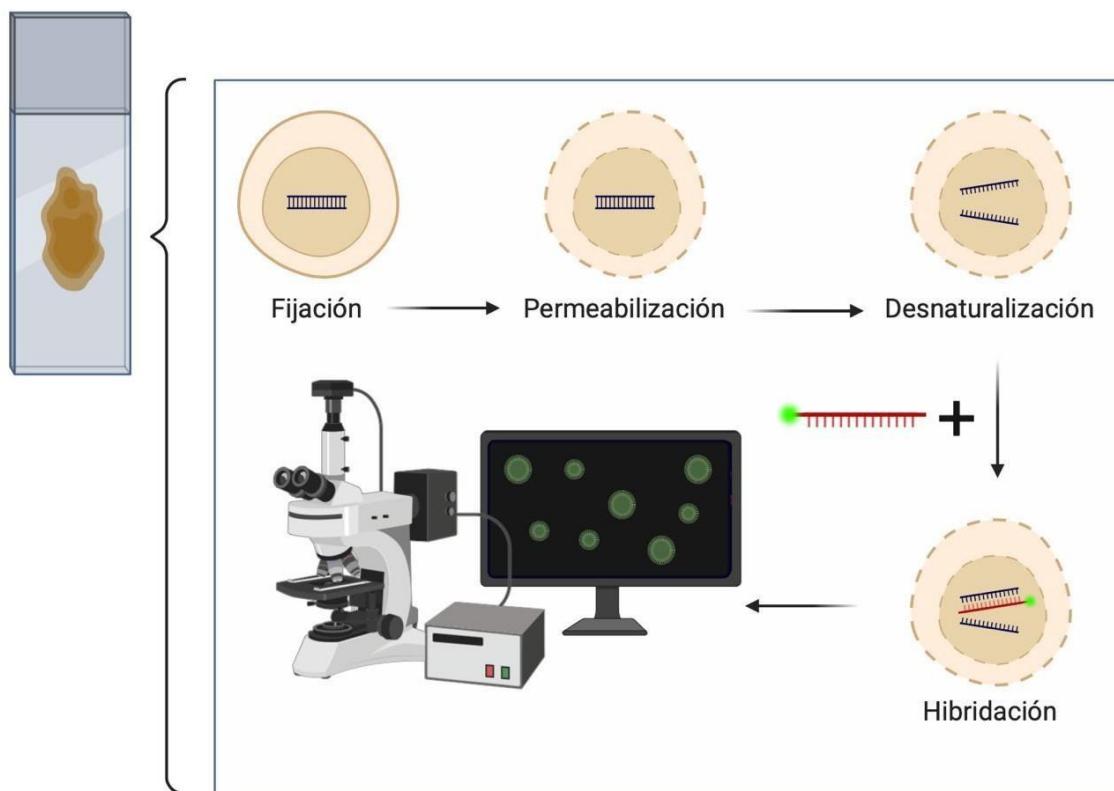


Figura 9. Etapas en el procedimiento de la hibridación *in-situ*. Creado con Biorender.

Un ejemplo de técnica de hibridación con amplificación de señal con sondas de DNA ramificado, es la desarrollada por Chiron Corporation, para la detección y cuantificación de HIV y HCV (hepatitis C virus). Este ensayo no amplifica el ácido nucleico vírico, sino que emplea sondas múltiples y señales múltiples, como se ilustra en la figura 10. Los virus obtenidos de las muestras clínicas son lisados y los ácidos nucleicos mezclados con las sondas ramificadas. Este complejo se hibrida a una sonda de captura y, después del lavado, el DNA ramificado se hibrida con sondas indicadoras marcadas con fosfatasa alcalina. La cantidad de sonda indicadora unida es cuantificada por la adición de un sustrato quimioluminiscente, dioxetano, y la luz emitida es medida en un luminómetro. Los multímeros de DNA ramificado pueden unir miles de sondas indicadoras a un único genoma viral.

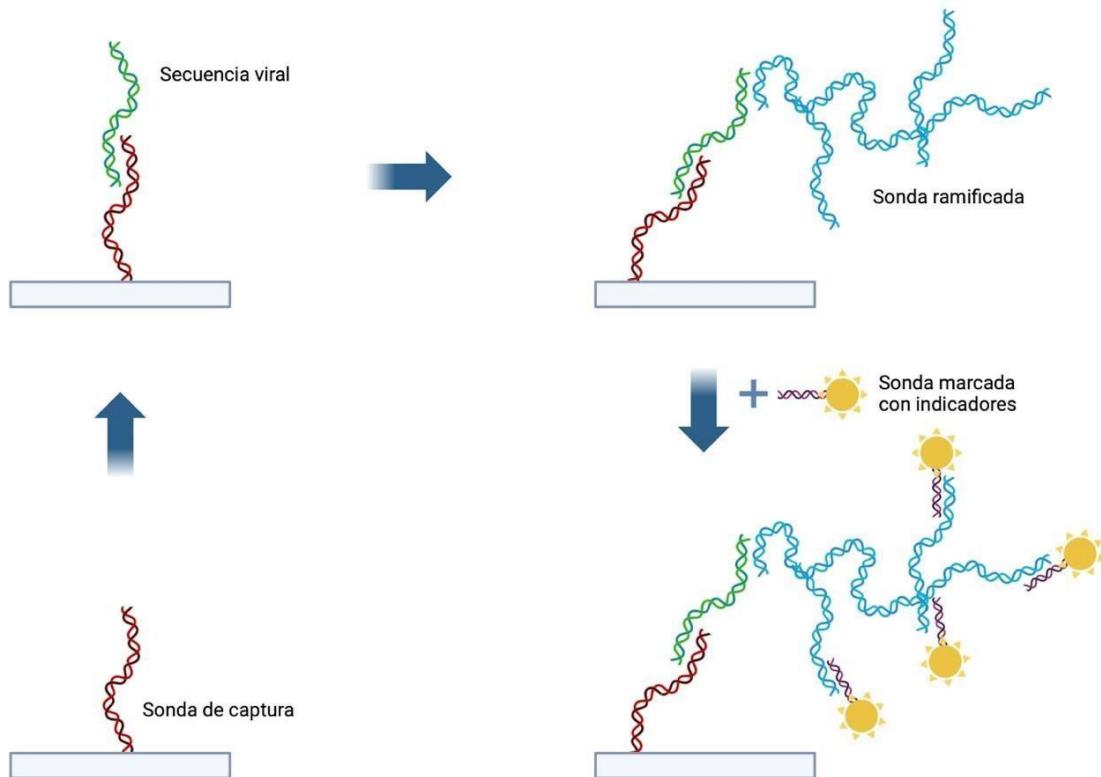


Figura 10. Hibridación de DNA mediante sondas ramificadas. Creado con Biorender.

Por supuesto, otro método de diagnóstico es la amplificación de secuencias por PCR, cuyo fundamento es bien conocido, por lo que no es necesario explicarla aquí.

2.3. Serodiagnóstico de infecciones víricas.

La detección de anticuerpos específicos frente a virus en el suero es útil para analizar la infección por patógenos persistentes como HIV, arbovirus y virus de la hepatitis.

La detección de anticuerpos en el suero también sirve para conocer el estado inmune de pacientes de alto riesgo para adquirir las infecciones víricas o que requieren de vacunación. Las mujeres preñadas con frecuencia se analizan para determinar si son inmunes a CMV, rubeola, paperas y VZV (varicella zoster virus). Los donantes de trasplantes y donantes de sangre son analizados también por anticuerpos frente a CMV, HIV y otros.

Hay dos tipos principales de ensayos de anticuerpos que se basan en la inhibición de las funciones biológicas de los virus: neutralización de la infectividad e inhibición de la hemaglutinación.

En el ensayo de neutralización se analiza la imposibilidad del virus para crecer en el cultivo de células después de la exposición al suero a testar; así, el tiempo requerido puede ser bastante largo dependiendo de la velocidad de replicación viral in vitro. La

mayor ventaja del método es que el anticuerpo neutralizante es frecuentemente indicativo de protección inmunitaria.

El test de inhibición de hemaglutinación es dependiente de la habilidad de ciertos virus para aglutinar eritrocitos de algunas especies animales. Así, como ocurría con el ensayo de neutralización de infectividad, se analiza la imposibilidad del virus unido al anticuerpo para hemaglutinar.

Ambos ensayos tienen el problema potencial de inhibición inespecífica por otros factores séricos distintos a los anticuerpos. No obstante, son métodos empleados con mucha frecuencia para determinados virus.

El método de ELISA para la detección de anticuerpos IgG emplea antígeno viral inmovilizado sobre una superficie sólida. El anticuerpo específico en el suero a testar se une al antígeno. Después de lavar el anticuerpo no unido, el anticuerpo específico unido al antígeno viral se detecta con un anticuerpo anti-IgG humana que tiene un indicador, seguido por un sustrato (ver Fig. 11). Esta es la base de la mayoría de los sistemas de diagnóstico existentes en el mercado. El método ELISA tiene la ventaja de ser sensible, versátil y automatizable.

El método básico para la detección de IgM se muestra también en la Fig. 11 y se diferencia del anterior en que el anticuerpo secundario es específico para la IgM humana.

Como se muestra en la Fig. 11, la detección directa de IgM puede tener un problema. Los factores reumátoides (RF) son autoanticuerpos con especificidad frente a las regiones constantes de las inmunoglobulinas IgG [Se encuentran en pacientes de varios tipos de enfermedades inmunopatológicas, aunque el mecanismo por el que se producen no es muy conocido; los factores reumátoides pueden ser del tipo IgM, IgG e IgA]. Cuando ambos, el factor reumático y la IgG antiviral, están presentes en el suero de un paciente, el factor reumático puede unirse a la IgG y producir un resultado falso-positivo cuando se le haga reaccionar con el indicador anti-IgM.

Otro problema adicional con los ensayos IgM es que la IgG específica del virus puede estar presente en grandes cantidades en el suero y competir con la IgM, dando lugar a falsos negativos para IgM.

Se han descrito varios métodos para retirar el factor reumático y competir la IgG del suero antes de realizar el ensayo IgM. La pre-absorción del suero del paciente con proteína A se ha visto que es capaz de remover eficientemente el factor reumático y reducir, aunque no retirar, todas las subclases de IgG.

La competición de IgG y el factor reumático puede ser evitada mediante el empleo de un ensayo de captura IgM como se muestra en la Fig. 11. Este sistema utiliza

un anticuerpo anti-IgM para capturar la IgM en el suero del paciente, eliminando así la IgG en los lavados. La IgM capturada se incuba con el antígeno viral que puede estar directamente marcado; sin embargo, en la mayoría de los ensayos se emplea un anticuerpo secundario específico del antígeno vírico. Aunque el factor reumatoide puede ser también capturado en este ensayo, no va a unirse al antígeno viral específico con lo que no interferirá con el ensayo.

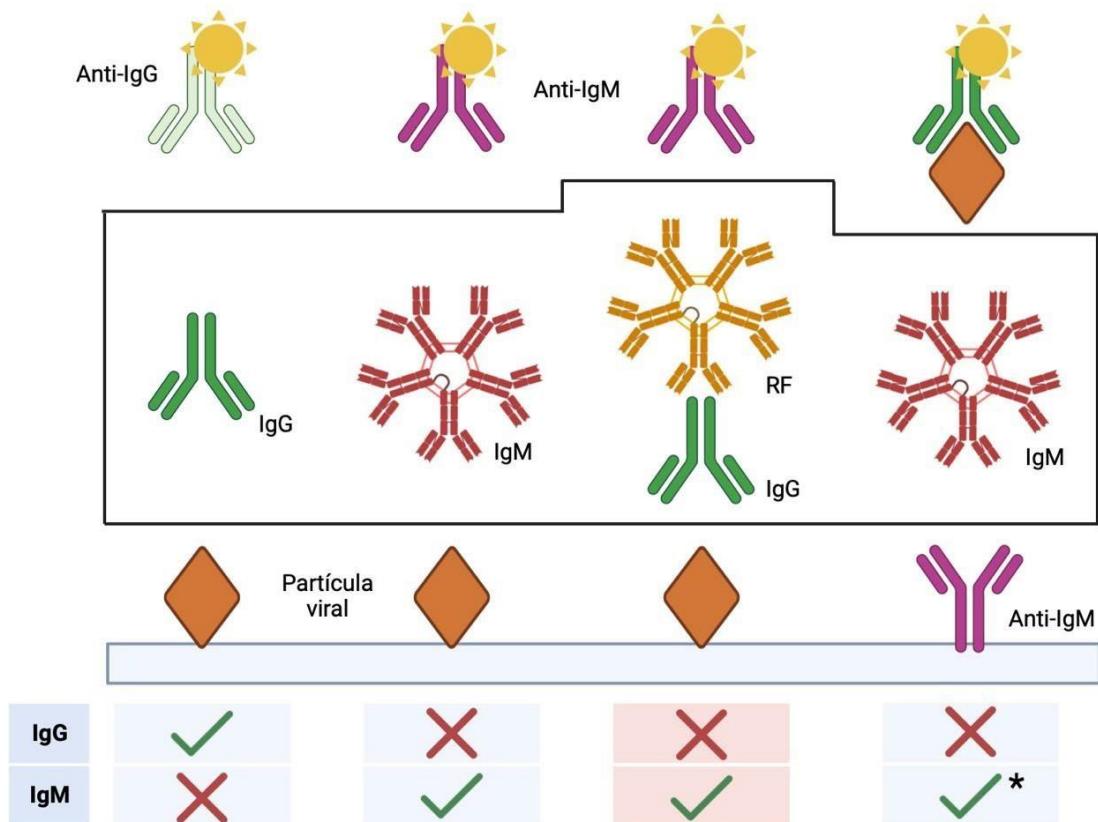


Figura 11. ELISA para la detección de anticuerpos de diversos tipos. Creado con *Biorender*.

Aunque los ensayos IgM se siguen realizando y sus resultados tienen significación en algunas infecciones virales, la premisa básica de que los anticuerpos IgM son una indicación de una infección primaria se viene cuestionando, al menos para algunas enfermedades.

Existe un aumento en el empleo de la técnica Western-blot en los laboratorios de diagnóstico. Este ensayo está siendo utilizado como confirmatorio para la serología de HIV y virus de la hepatitis. Todas las técnicas de transferencia comparten un principio común en el que las grandes macromoléculas de proteínas o ácidos nucleicos se separan de acuerdo a su tamaño por electroforesis. Estos componentes son entonces transferidos a una membrana. Los componentes individuales pueden ser entonces identificados mediante la unión específica de una sonda a la membrana.

El Western blot requiere de la purificación del virus y la electroforesis en gel, lo que dificulta que esta técnica pueda ser empleada rutinariamente en los laboratorios de diagnóstico; sin embargo, existen “immunoblot” que están disponibles comercialmente para HIV y hepatitis. Estas membranas contienen antígenos virales separados bien por transferencia de un gel de proteínas o por la adición de antígenos virales definidos a áreas específicas de la membrana.

3. Interacción virus-hospedador.

Los virus que causan infecciones crónicas, que probablemente son más de los que conocemos, forman parte de nuestro metagenoma (nuestro viroma). Nuestro metagenoma incluye todos los organismos que viven sobre o dentro de nosotros. Las bacterias comensales son conocidas por su importancia en regular nuestra fisiología en general y la respuesta inmunitaria de forma particular. Menos reconocida es la contribución a nuestro metagenoma de los virus que establecen infecciones crónicas y los elementos retrovirales que infestan nuestros cromosomas. En la tabla 2 y figura 12 se muestran las estimaciones sobre infecciones víricas crónicas, estimadas de acuerdo con las tasas de seropositividad en la población.

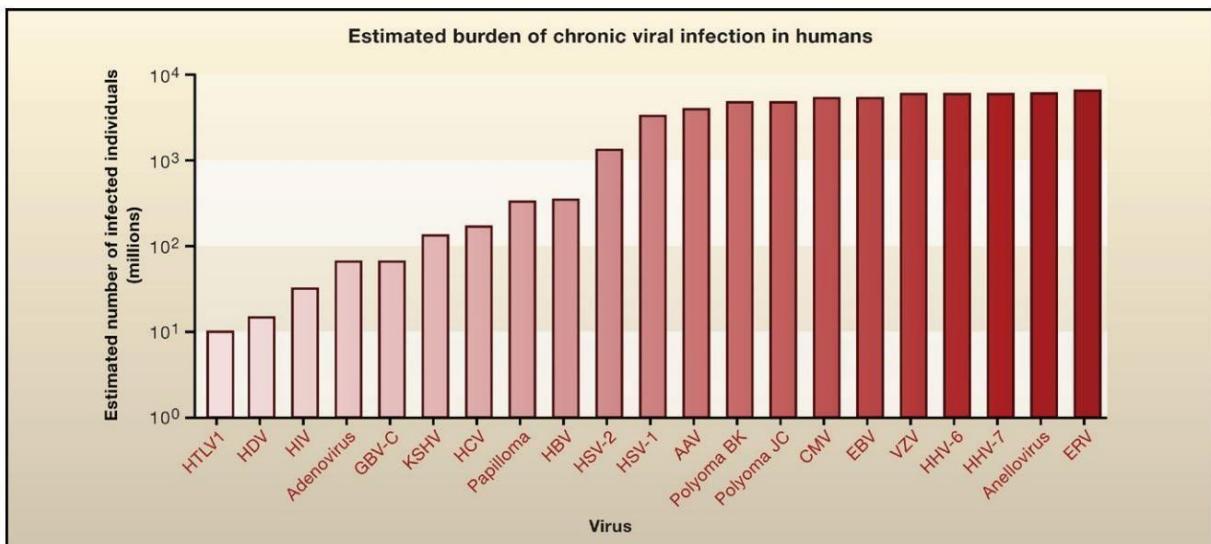


Figura 12. Tasas de seropositividad de infección viral crónica estimadas en la población.

(Virgin et al., 2009).

Algunos virus son tan comunes que resulta difícil encontrar personas no infectadas. El hecho de que la mayoría de las personas no muestren signos de infección, hace considerar a estos virus como parte de nuestro metagenoma. De hecho, muchos de los virus que se establecen de forma crónica no producen ningún tipo de enfermedad (como por ejemplo los anellovirus, muy prevalentes en humanos y otros animales), y sí causan enfermedad lo hacen en individuos inmunocomprometidos (Fig. 12; Tabla 2).

Table 1. Chronic Virus Infections in Humans

Virus, Primary Nucleic Acid, Estimated Percent of Humans Infected	Major Site of Persistence (Organ or Cell)	Acute Infection Examples	Disease during Chronic Infection	
			Within Normal Hosts	Within Immunocompromised Hosts
Endogenous retroviruses (ERV), DNA, 100%	All	Not applicable	Unknown	Unknown
Anellovirus/Circovirus, DNA, 90%–100%	Many tissues	Unknown	Unknown	Unknown
Human herpesvirus 6 (HHV-6), DNA, >90%	Lymphocytes?	Roseola	Unknown	Meningoencephalitis, secondary infections, immuno-modulatory?
Human herpesvirus 7 (HHV-7), DNA, >90%	Lymphocytes?	Roseola	Unknown	Unknown
Varicella zoster virus (VZV), DNA, >90%	Sensory ganglia neurons and/or satellite cells, lymphocytes	Chicken pox	Herpes zoster	Disseminated disease, hepatitis, pneumonitis
Cytomegalovirus (CMV), DNA, 80%–90%	Myelomonocytic cells	Mononucleosis	Rare	Disseminated disease, vasculitis, pneumonitis, retinitis, hepatitis, gastroenteritis, meningoencephalitis
Epstein-Barr virus (EBV), DNA, 80%–90%	Pharyngeal epithelial cells, B cells	Mononucleosis	Burkitt's lymphoma, nasopharyngeal carcinoma, non-Hodgkin's lymphoma	CNS lymphomas, oral hairy leukoplakia, lymphoproliferative disease
Polyomavirus BK, DNA, 72%–98%	Kidney	Unknown	Unknown	Hemorrhagic cystitis (post bone marrow transplantation), nephropathy (post kidney transplantation)
Polyomavirus JC, DNA, 72%–98%	Kidney, CNS	Unknown	Unknown	Progressive multifocal leuko-encephalopathy
Adeno-associated virus (AAV), DNA, 60%–90%	Many tissues	Unknown	Unknown	Unknown
Herpes simplex type 1 (HSV-1), DNA, 50%–70%	Sensory ganglia neurons	Pharyngitis, encephalitis, keratitis,	Cold sores, encephalitis, keratitis	Increased severity of same diseases, pneumonitis, hepatitis
Adenovirus, DNA, up to 80%	Adenoids, tonsils, lymphocytes	Upper respiratory infection, gastroenteritis	Unknown	Enteritis, hemorrhagic cystitis, pneumonitis, hepatitis, others
Herpes simplex type 2 (HSV-2), DNA, 20%–50%	Sensory ganglia neurons	Genital herpes	Genital herpes, encephalitis	Increased severity of same diseases
Kaposi's sarcoma herpesvirus (KSHV) or human herpesvirus 8, DNA, 2%–60%	Endothelial cells, B cells	Unknown	Castleman's disease, Kaposi's sarcoma	Kaposi's sarcoma, primary effusion lymphoma
Hepatitis B virus (HBV), DNA, 350 million, ~5%	Hepatocytes	Hepatitis	Cirrhosis, hepatocellular carcinoma	Same diseases
GB virus C, RNA, 1%–4%	Lymphocytes	Unknown	Unknown	Unknown
Papilloma virus, DNA, <5%	Epithelial skin cells	Unknown	Papilloma, cervical and other mucosal carcinomas	Increased severity and incidence of same diseases

(continued on following page)

Table 1. Continued

Virus, Primary Nucleic Acid, Estimated Percent of Humans Infected	Major Site of Persistence (Organ or Cell)	Acute Infection Examples	Disease during Chronic Infection	
			Within Normal Hosts	Within Immunocompromised Hosts
Hepatitis C virus (HCV), RNA, 170 million, ~2.5%	Hepatocytes	Hepatitis	Cirrhosis, hepatocellular carcinoma	Same diseases
Human immunodeficiency virus (HIV-1 and HIV-2), RNA, 33 million, ~0.5%	CD4+ T cells, monocyte/macrophages	Acute febrile illness	AIDS	AIDS
Hepatitis D virus (HDV), RNA, 15 million, ~0.2%	Hepatocytes	Unknown	Exacerbation of chronic HBV infection	Unknown
Human T cell leukemia virus type 1 (HTLV1), RNA, 10–20 million, ~0.2%	T cells	Unknown	Adult T cell leukemia (2%–6% of carriers), tropical spastic paraparesis, myelopathy, uveitis, dermatitis	Unknown
Xenotropic murine leukemia virus-related virus (XMLV), RNA, unknown	Prostate	Unknown	Prostate Cancer?	Unknown
HTLV II, III, IV, RNA, unknown	T cells	Unknown	Unknown	Unknown
Polyomavirus MC, DNA, unknown	Merkel cell carcinoma	Unknown	Merkel cell carcinoma?	Unknown
Polyomavirus KI, DNA, unknown	Lung	Unknown	Unknown	Unknown
Polyomavirus WU, DNA, unknown	Lung	Unknown	Unknown	Unknown
Rubella virus, German measles, RNA, rare	CNS	Rubella, arthritis	Progressive rubella panencephalitis	Unknown
Parvovirus B19, DNA, rare	Bone marrow erythroid progenitors	Fifth disease, arthritis	Aplastic crisis in hemolytic anemia, hydrops fetalis, chronic bone marrow deficiency	Red cell aplasia
Measles virus, RNA, rare	Neurons and supporting cells in CNS	Measles	Subacute sclerosing panencephalitis, measles inclusion body encephalitis	Unknown
Coxsackie, RNA, rare	Myocardial cells	Hand foot and mouth disease, herpangina	Myocarditis	Unknown

Shown in the first column are the viruses known to chronically infect humans, their primary nucleic acid type, and an estimate of the prevalence of infection in humans. Additional columns list known sites of persistent infection and the diseases associated with infection. When incidence numbers are not clearly available worldwide, estimates from the United States are substituted. For many viruses, the specific sites of persistence are incompletely defined. The associated clinical syndromes presented are not an exhaustive list. CNS, central nervous system.

Tabla 2. Infecciones virales crónicas en humanos. (Virgin et al., Cell, 2009).

Existen tres tipos principales de infecciones crónicas:

1) Replicación continua productiva. Muchos virus son capaces de replicarse de una forma continuada a pesar de la inducción de una respuesta inmunitaria específica. Ejemplos son HIV, HBV y HCV.

2) Latencia y reactivación. Algunos virus son capaces de establecer, tras una infección primaria, un estado metabólicamente silencioso, denominado latencia. Estos virus, en respuesta a determinados estímulos son capaces de reactivarse y replicarse de nuevo. El ejemplo más conocido es el del herpesvirus.

3) Infecciones crónicas en la línea germinal. Los genomas de mamíferos están “infestados” por un número enorme de elementos retrovirales, que se transmiten verticalmente desde padres a hijos al estar integrados de forma parcial o completa en los cromosomas del hospedador.

En el genoma humano, existen unos 30 linajes de ERVs (“Endogenous Retroviral Elements”) que constituyen el 8-9% del genoma humano. Los ERVs se transcriben en diversos tejidos y pueden proliferar dentro del genoma mediante producción de virus que infectan el genoma o mediante retrotransposición. Si bien, se piensa que la inmensa mayoría de ERVs son defectivos en cuanto a la expresión de genes virales, debido a la acumulación de mutaciones ocurridas en los millones de años que llevan insertados en los genomas de los vertebrados. Además, cabe indicar, que en la mayoría de los casos los retrovirus exógenos originarios ya se han extinguido, por lo que estos ERVs son descritos a menudo como “fósiles moleculares”.

Desde su descubrimiento, los virus son frecuentemente visualizados como patógenos. Sin embargo, hay muchos casos de mutualismo entre virus y sus hospedadores. Un ejemplo ilustrativo es el que ocurre en un grupo de “avispas parasitoides” (Fig. 13). Estas avispas han establecido una relación de simbiosis con un tipo de “polydnaviruses” (su nombre deriva de “poly-DNA” y hace referencia a que el genoma de este virus contiene muchos segmentos de DNA). Como consecuencia de esta simbiosis, ya larga en el tiempo, muchos de los genes implicados en la replicación viral y su empaquetamiento se encuentran integrados en el genoma de la avispa. Además, la expresión de estos genes, y por ende la producción del virus, sólo se produce durante la etapa de deposición de los huevos.

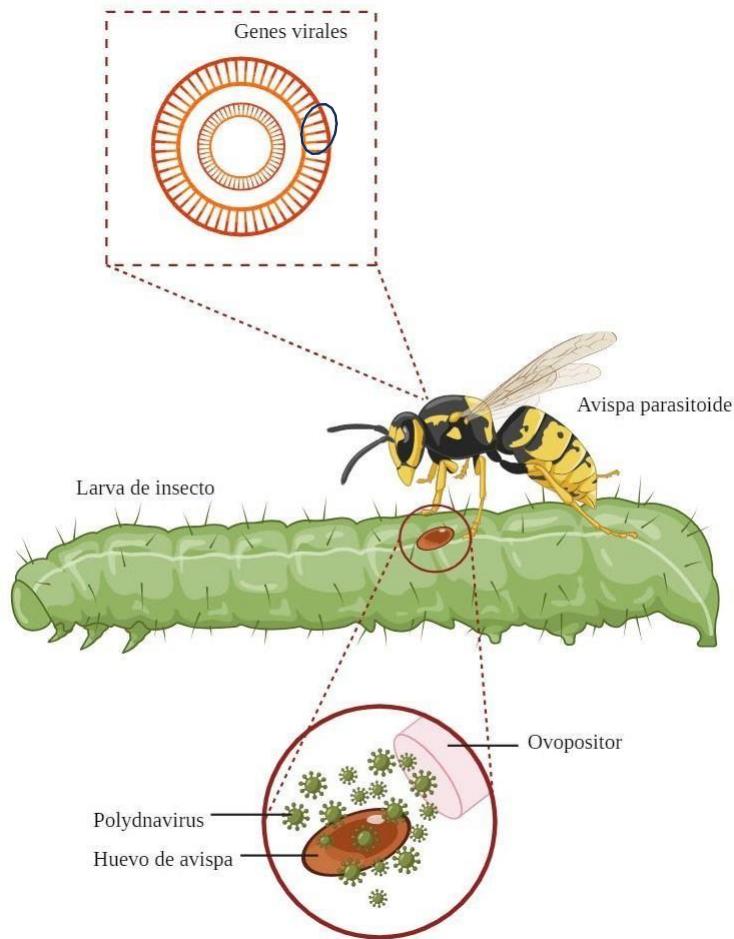


Figura 13. Relación entre polydnavirus, avispas y orugas. Creado con *Biorender*.

Estas avispas parasitoides depositan los huevos en larvas vivas de insectos. El sistema inmunitario innato de la larva normalmente procedería a la encapsulación de los huevos, lo que impediría su desarrollo. Sin embargo, al tiempo que la avispa deposita los huevos en la oruga también deposita los viriones del polidnavirus que transporta genes de la avispa. Así, mientras el virus se multiplica, la expresión de estos genes de la avispa en la oruga inhibe la deposición de melanina, un componente importante de la estructura de encapsulación.

De forma análoga a la asociación entre el polidnavirus y la avispa, se postula que la importante endogenización de retrovirus ocurrida en vertebrados y mamíferos (como se indicó arriba, estos suponen el 8% del DNA del genoma humano) podría ser una manifestación de un beneficio mutuo, retrovirus y hospedador. Por ejemplo, se ha planteado que la expresión de proteínas derivadas de estos retrovirus podría activar al sistema inmunitario para generar inmunidad frente a una posible infección por virus relacionados, pero más patogénicos.

Pero hay algunos ejemplos en el reino animal que demuestran la importancia que los retrovirus han tenido en la evolución de los mamíferos. Así, existen evidencias sólidas

de que el desarrollo de la placenta en los mamíferos surgió en la evolución como consecuencia de la endogenización de retrovirus. Las proteínas Env (proteínas de cubierta) promueven la fusión de membranas celulares, un proceso que no solo sirve para la invasión del virus (Fig. 14). Las sincitinas son las moléculas responsables de la fusión de células desarrollo del sincitio placentario, una barrera que impide que antígenos y anticuerpos de la madre y el feto entren en contacto. Pues bien, las sincitinas han evolucionado a partir de proteínas Env de retrovirus, manteniendo la capacidad fisiogénica de estas últimas. Así, la importancia de esta proteína para el desarrollo de la placenta se ha demostrado de forma experimental en ovejas. La proteína Env del retrovirus JRSV (“Jaagsiekte sheep retrovirus”) se expresa a elevados niveles en el tracto genital de las ovejas, y cuando la expresión del virus es suprimida con RNA antisentido las ovejas preñadas abortan.

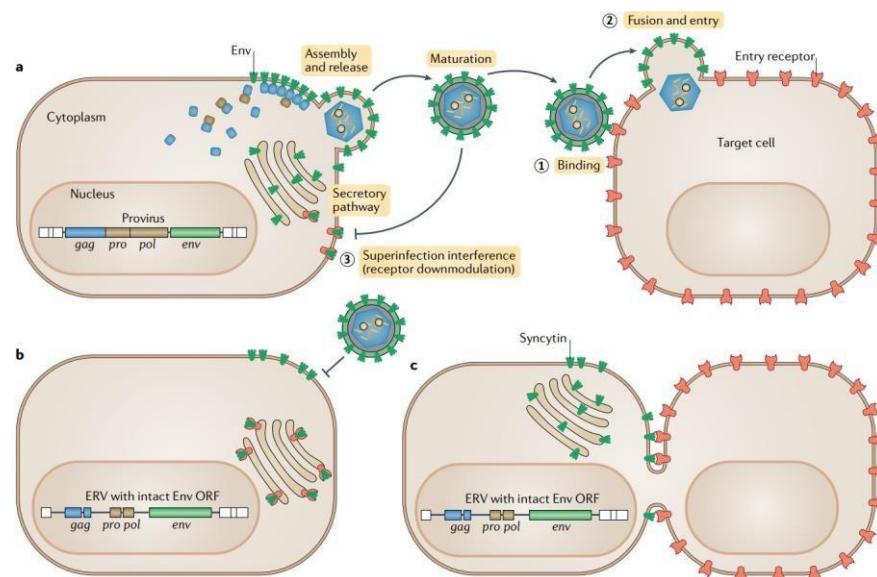


Figura 14. Formación de sincitios por la proteína Env y fusión de membranas. (Johnson, 2019).

Otra función de la proteína Env que ha sido explotada por los mamíferos es la capacidad que tiene para bloquear la entrada de nuevos retrovirus en las células ya infectadas. Así, como se muestra en la figura 8, una vez que una célula es infectada por un retrovirus, la proteína Env que se sintetiza, va a interaccionar con el receptor y va a hacer que la célula ya no sea infectada por nuevos virus, un fenómeno conocido como “interferencia a la superinfección”. Como resultado de la endogenización de retrovirus, se ha mantenido la expresión de varias proteínas Env como mecanismo de defensa de las células para la infección por retrovirus particulares. En estos casos, las propiedades fisiogénicas se han perdido en la evolución molecular de estas proteínas.

Existen también algunos ejemplos, aunque menos, de adaptación de proteínas gag y pol de retrovirus endogenizados a funciones celulares. En cambio, sí que existen numerosos ejemplos (y seguramente muchos más por conocer) en los que las secuencias LTR (*Long-terminal repeats*), que flanquean los genomas de muchos retrovirus, han sido integradas en los genomas de los vertebrados para aprovechar las secuencias promotoras y de unión a factores transcripcionales que poseen. También se han descrito ya varios ejemplos de RNAs largos no codificantes, con función reguladora, que derivan de los ERVs.

Una vez hecha esta consideración sobre la existencia de un viroma que en cierta forma parte de nuestra dotación genómica, no podemos ignorar que los virus son una amenaza constante para los sistemas vivos. Sólo es preciso echar una mirada a un libro de virología clínica y observar la asombrosa variedad de virus conocidos como patógenos de humanos. Estos, de hecho, constituyen una pequeña fracción de todas las especies víricas.

Mientras la gran mayoría de especies víricas son inocuas, debido a su incapacidad para infectar o dañar células humanas, este defecto puede superarse en algunos casos con unas pocas rondas de replicación vírica. Dos características de los virus aceleran de una forma grande su evolución con respecto a la de los organismos superiores. Primero, los virus producen progenia con gran rapidez (cada célula infectada produce de 100 a 1000 viriones, normalmente en menos de un día, y en algunos casos en unas pocas horas), y, segundo, ellos tienen una tasa extremadamente alta de mutación intrínseca.

En respuesta a la amenaza que suponen los virus, el sistema inmunitario de los vertebrados ha evolucionado. La importancia del sistema inmunitario en la protección frente a las infecciones víricas letales se evidencia en inmunodeficiencias innatas o adquiridas, donde la depresión de uno o más elementos del sistema inmunitario produce la muerte por infecciones víricas, controlables en condiciones normales.

4. Respuesta inmunitaria frente a virus

4.1. Elementos inmunitarios específicos y no específicos.

El sistema inmunitario puede dividirse de una forma grosera (y a veces arbitraria) en componentes específicos y no específicos, con el térmico específico referido al grado en el que la respuesta inmunitaria se dirige a un agente dado. Así, los mismos elementos no específicos entran en juego frente a todos los virus, mientras que los componentes específicos generalmente muestran una reactividad limitada frente a un único virus.

Un aspecto crítico de la inmunidad no específica es su falta de memoria. Entre los elementos no específicos se encuentran:

- a) Células fagocíticas (macrófagos, neutrófilos) que se tragan y destruyen los virus.
- b) Células (macrófagos, neutrófilos, mastocitos, basófilos) que liberan citoquinas con actividades antivirales o inmunorreguladoras.
- c) Las células asesinas naturales (NK) que reconocen células infectadas por virus, al reconocer alteraciones producidas por la infección y comunes a muchos virus, y bien las destruyen o liberan citoquinas, que van a activar a otras células del S.I. para la destrucción de las células infectadas.
- d) Componentes de los fluidos corporales como pueden ser elementos del complemento que neutralizan la infectividad vírica independientemente, o en conjunción, con los anticuerpos.

Los componentes específicos del sistema inmunitario son las células B y T. Ambos tipos de células expresan, en una manera restringida clonalmente, receptores sobre su superficie que interaccionan de forma altamente específica con una serie limitada de sustancias relacionadas. Las sustancias capaces de interaccionar con estos receptores se denominan antígenos. La mayoría de los antígenos son también inmunógenos (es decir, son capaces de inducir una respuesta en una serie de células B y/ o T). Los elementos específicos de antígeno, células T y B, presentan memoria inmunológica.

Los elementos específicos del sistema inmunitario pueden ser vistos como una respuesta evolutiva de los vertebrados a la mutabilidad formidable de los virus y otros patógenos, permitiendo al hospedador mutar sus moléculas de defensa a una velocidad suficiente para poder responder a nuevos antígenos no encontrados previamente en la evolución.

El receptor específico de antígeno presente sobre la superficie de células B es la inmunoglobulina (Ig). Las células B secretan grandes cantidades de Ig a los fluidos corporales. La Ig interacciona con los virus extracelulares y bloquea la infectividad viral. La inducción de tales anticuerpos "neutralizantes" es la meta de muchas estrategias de vacunación.

Las células T expresan en su superficie un receptor de antígeno (TCR o receptor de célula T) estructural y genéticamente relacionado con la Ig. El TCR permite a las

células T reconocer a células que tienen fragmentos de proteínas virales sobre sus superficies (llamadas células presentadoras de antígeno, APC).

Los péptidos antigenicos son expuestos en la superficie de las APC a través de su interacción con glicoproteínas integrales de membrana codificadas en el complejo mayor de histocompatibilidad (MHC). La presentación de péptidos en el contexto de moléculas MHC-II va a servir para activar linfocitos T CD4+ y la presentación de péptidos en el contexto de moléculas MHC-I va a activar a linfocitos T CD8+ (también llamados citotóxicos o CTL).

Dependiendo del tipo de célula T que resulte estimulada y del tipo de APC, el resultado puede ser la destrucción de las células infectadas por virus o el aumento de la habilidad de las células B para producir anticuerpos antivirus. Así, dependiendo del tipo de citoquinas producidas, los linfocitos T CD4+ se van a diferenciar en linfocitos ayudadores tipo 1 (Th1) o Th2. La secreción de IFN γ mediada por los linfocitos Th1 estimula la activación de linfocitos CTL y la producción de anticuerpos IgG2a por linfocitos B. La producción de citoquinas mediada por linfocitos Th2 va a activar la producción de anticuerpos IgG1 al tiempo que inhibe la respuesta Th1 (Fig. 15). Los anticuerpos específicos frente al virus van a actuar inhibiendo la reinfección del virus. La secreción de IFN α (interferón tipo I) por las células dendríticas va a tener un efecto activador de las células NK para la destrucción de las células infectadas mediante la liberación de sustancias citolíticas (principalmente, perforina y granzima). Además, los interferones tipo I ejercen un efecto antiviral tanto en las células infectadas (autocrino) como sobre las que están en las proximidades (paracrino).

Las células dendríticas (DCs) son una familia especializada en la presentación de antígenos (APCs, *antigen-presenting cells*) y suponen el principal conector entre la inmunidad innata y la generación de respuestas inmunitarias adaptativas. Las DCs son producidas constantemente a partir de células madre hematopoyéticas presentes en la médula ósea, desde donde se dirigen a diferentes localizaciones del cuerpo (la piel, las mucosas y la sangre) para buscar posibles patógenos invasores en las etapas más tempranas de la infección.

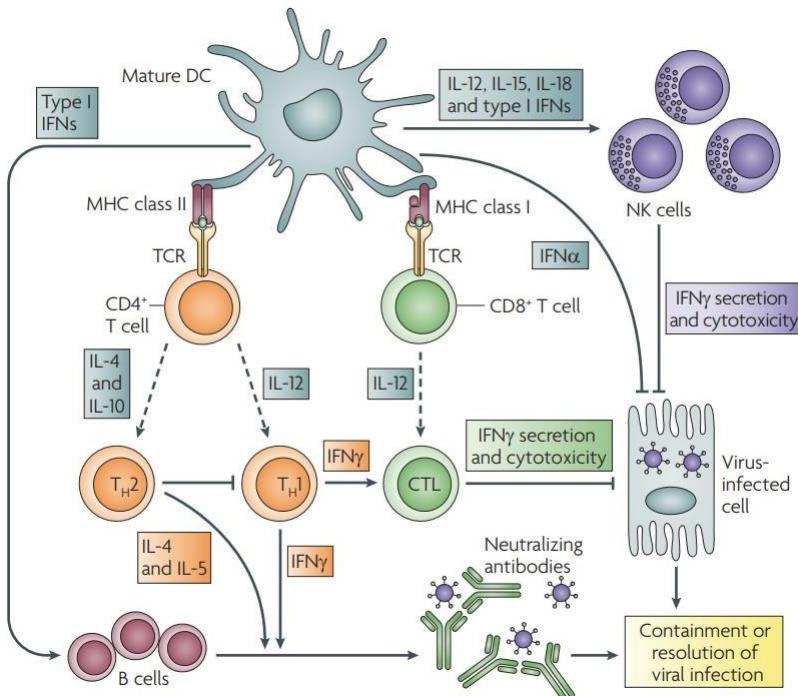


Figura 15. Función de las células dendríticas en la respuesta inmunitaria frente a virus. Tras la internalización del antígeno viral, las células dendríticas mieloides (DCMs) y las CD plasmocitoides (pDCs) migran al tejido linfoide para mediar la producción de células T CD4+ y TCD8+. Además, las CD activadas producen una gama de citoquinas, tales como IFN- α , IL-12 e IL-15. Estas activan a las NK e influyen en la supervivencia y diferenciación de las células T. Dependiendo de la señal de citoquinas, las células T CD4+ se diferencian en un perfil Th1 o Th2 (flechas discontinuas). La secreción de IFN- γ mediada por las células Th1 estimula la activación de linfocitos citotóxicos (CTLs) y a su vez, la producción de anticuerpos IgG2a por los linfocitos B. La producción de citoquinas por las células Th2 estimula la producción de inmunoglobulinas IgG1 al tiempo que inhibe la activación de las células Th1. Los anticuerpos específicos de virus pueden ser neutralizantes, previniendo la reinfección viral. Las células NK y los CTLs inhiben la replicación viral a través de la secreción de IFN- γ o median la lisis de las células infectadas a través de la liberación de moléculas citolíticas (perforinas y granzimas).

(Lambotin et al., 2010).

Las DCs constituyen una familia heterogénea (Tabla 3). Las células de Langerhans son un subtipo de DCs, de larga vida, que se localizan en la epidermis; las DCs intersticiales son aquellas situadas en tejidos periféricos, excluyendo a las células de Langerhans. En la sangre se encuentran dos tipos: DCs mieloides (mDCs) y plasmacitoides (pDCs). El término plasmacitoido hace referencia a que estas células dendríticas tienen una morfología que se asemeja a las células plasmáticas productoras de anticuerpos. Como veremos posteriormente, las DCs están equipadas con una serie de receptores diseñados para reconocer moléculas propias de los organismos patógenos. Una

vez que se encuentran con un patógeno, se van a activar y como consecuencia se van a dirigir a los nódulos linfáticos más próximos, donde van a proceder a activar a los linfocitos T que contengan receptores capaces de interaccionar con los péptidos antigenicos presentados en el contexto de moléculas MHC sobre la superficie de las células DCs.

	Myeloid subtypes				
	Plasmacytoid DCs	Myeloid DCs	Langerhans cells	Interstitial DCs	Monocyte-derived DCs
Morphology					
Localization	Blood	Blood	Epidermis	Dermis and other tissues	<i>In vitro</i>
Phenotype	CD11c ⁻ CD1a ⁺ CD1c ⁺ CD123 ^{high} CD304 ⁺	CD11c ⁺ CD1a ⁺ CD1c ⁺ CD123 ^{low} CD304 ⁻	CD11c ⁺ CD1a ⁺ CD207 ⁺	CD11c ⁺ CD1a ⁻ CD68 ⁺ and expresses coagulation factor XIII A chain	CD11c ⁺ CD1a ⁺ CD1c ⁺ CD123 ^{low}
TLR expression	TLR1, TLR6, TLR7, TLR9 and TLR10	TLR1, TLR2, TLR3, TLR4, TLR5, TLR6, TLR8 and TLR10	TLR1, TLR2, TLR3, TLR6, TLR7 and TLR8	TLR1, TLR2, TLR3, TLR4, TLR5, TLR6, TLR7 and TLR8,	TLR1, TLR2, TLR3, TLR4, TLR5, TLR6, TLR8 and TLR10
C-type lectin expression	BDCA2 and DCIR	DCIR, DC-SIGN and MR	CD207	DC-SIGN and MR	DCIR, DC-SIGN and MR
CD4⁺ T cell priming	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes
CD8⁺ T cell priming	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes
B cell activation	Yes	Yes	Yes (weak)	Yes	Yes
IFNα production	Yes (high)	Yes	Yes	Yes	Yes

BDCA2, blood DC antigen 2 (also known as CLEC4C); DC, dendritic cell; DC-SIGN, DC-specific ICAM3-grabbing non-integrin (also known as CD209); DCIR, DC immunoreceptor (also known as CLEC4A); IFN α , interferon- α ; MR, mannose receptor; TLR, Toll-like receptor.

Tabla 3. Tipos de células dendríticas. (Lambotin et al., 2010).

En la evolución de las DCs se ha producido cierta especialización de funciones. Así, tras la activación las mDCs producen IL-12 e IL-15, que a su vez van a estimular la producción de IFN γ por parte de las células NK y van a promover la diferenciación de los linfocitos T CD4⁺ en células Th1 y la activación de las células T CD8⁺ en linfocitos CTL. Por otro lado, las pDCs se han especializado en la producción de interferones tipo I que tiene un efecto antiviral directo, por lo que actúan como células efectores clave en la respuesta inmunitaria innata frente a los virus.

4.2. Estrategias desarrolladas por los virus para evadir la respuesta inmunitaria.

Como resultado de la co-evolución con sus hospedadores, los virus han desarrollado varias estrategias para evadir el sistema inmunitario del hospedador y para asegurarse su propia replicación y supervivencia. Las principales estrategias son:

a) Variabilidad antigenica. Esta estrategia es particularmente frecuente en virus RNA, debido a la baja fidelidad de sus polimerasas. Durante la replicación del virus se van a introducir muchos errores en su secuencia genómica lo que va a conducir a la rápida aparición de variantes antigenicas que no van a ser reconocidas por respuestas inmunitarias preexistentes frente al virus.

b) Latencia. Algunos virus son capaces de instalarse dentro de células donde van a permanecer en un estado de baja o nula actividad, por lo que van a pasar inadvertidos para el sistema inmunitario. En cierto momento, el virus experimentará una reactivación y multiplicación.

c) Bloqueo de la presentación antigenica. Los genomas de algunos virus codifican para proteínas capaces de interferir en distintos pasos del proceso de procesamiento y presentación de antígenos por las APCs. Por ejemplo, pueden impedir la fragmentación de antígenos en el proteasoma, el transporte de antígenos al retículo endoplasmático, interferir con la localización de las moléculas MHC o reprimir la expresión de moléculas coestimuladoras. Esto va a interferir en la maduración de las células efectoras y la subsiguiente inducción de inmunidad celular y humoral.

d) Inhibición de apoptosis. La apoptosis, o muerte celular programada, es un proceso no inflamatorio que conduce a la muerte de células infectadas por virus. Muchos virus codifican proteínas que van a interferir con este proceso apoptótico hasta que el ciclo replicativo del virus se haya completado y se haya formado la progenie viral.

5. Reconocimiento inmunitario innato de las infecciones virales.

Una vez que un microbio ha superado las barreras físicas y químicas del epitelio, va a ser reconocido por células del sistema inmunitario innato, tales como los macrófagos residentes en el tejido y las células dendríticas. Además, la mayoría de las células del organismo poseen mecanismos de defensa que detectan la replicación viral e inducen una respuesta inmunitaria innata. A su vez, los virus patogénicos han debido desarrollar estrategias para evadir estos mecanismos.

Las moléculas comunes en virus (u otros microorganismos) son denominadas como estructuras PAMPs (*pathogen-associated molecular patterns*), entre las que se incluyen ácidos nucleicos, proteínas y carbohidratos. Estas moléculas pueden ser reconocidos por receptores denominados PRR (*Pattern-recognition receptor*), que son expresados por células del sistema inmunitario innato como son las células dendríticas (DCs, *dendritic cells*) y macrófagos o están presentes en el citoplasma de la mayoría de células. Después del reconocimiento de los componentes virales, los PRR inducen una

respuesta antiviral, que incluye la producción de una gran variedad de citoquinas y la inducción tanto de respuestas inmunitarias inflamatorias como adaptativas (o específicas).

Hasta ahora, varias clases de PRRs se han implicado en el reconocimiento de componentes virales en células del sistema inmunitario innato, que son: TLRs (*Toll-like receptors*), RLRs (*Retinoic acid-inducible gene I (RIG-I)-like receptors*), NLRs (*nucleotide oligomerization domain (NOD)-like receptors*), y ALR (*AIM2-like receptor*).

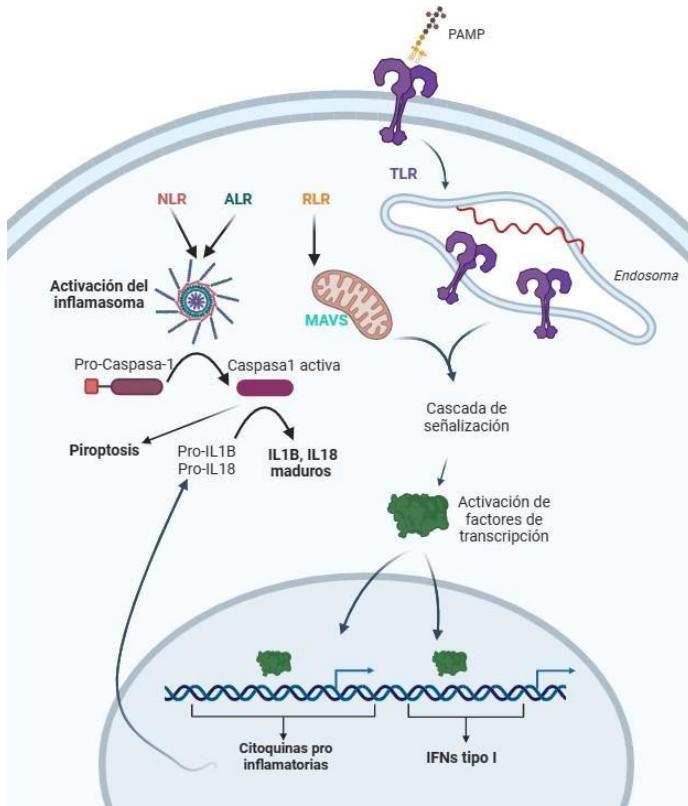


Figura 16. Resumen de los tipos de sensores innatos para el reconocimiento de componentes virales y sus respectivas cascadas de señalización. Creado con *Biorender*.

Como se muestra en la figura 16, estos sensores innatos para los virus inducen dos tipos de respuestas. Por un lado, la activación de los PRRs conduce a través de vías de señalización a la activación transcripcional de genes de citoquinas y de interferones (IFN) tipo I. La segunda respuesta producida tras la activación de los PRRs es la activación de la caspasa-1 a través de la formación de inflamasomas. Los inflamasomas son responsables de la activación proteolítica de la caspasa-1, que a su vez va a procesar varios sustratos entre los que se incluyen la pro-IL1 β y la pro-IL18. El procesamiento proteolítico de estas citoquinas se requiere para su liberación extracelular y su activación. Ambos tipos de respuestas también pueden estar asociadas a procesos de muerte celular programada a través de apoptosis y piroptosis, respectivamente, cuyo sentido es evitar la replicación y expansión del patógeno.

En 1971, David Baltimore propuso una clasificación para los virus basada en el mecanismo de producción de mRNAs. De acuerdo con esta clasificación, todos los virus se pueden agrupar en uno de los siete grupos, que se definen de acuerdo a una combinación de la naturaleza de sus genomas (DNA o RNA), número de cadenas (simple o doble), si son sentido o antisentido y por el modo de replicación (Fig. 17). Esta clasificación nos es útil aquí para mejor entender los distintos mecanismos celulares para detectar la infecciones virales a través de sensores que detectan las características de los genomas virales (o los productos intermedios de la replicación).

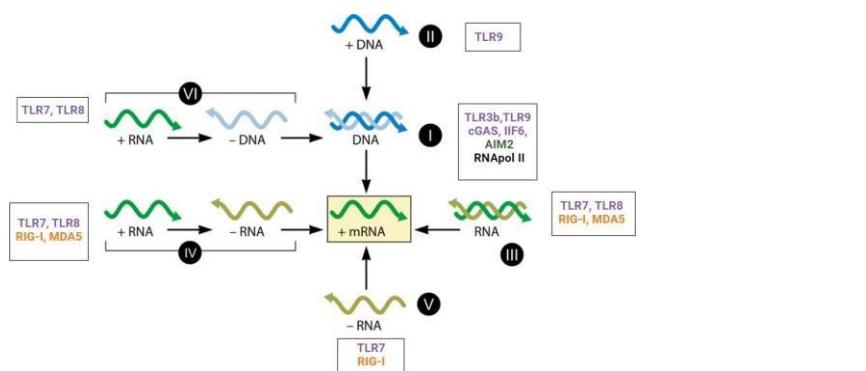


Figura 17. Clasificación de virus de Baltimore y sus respectivos sensores virales.

Creado con *Biorender*.

5.1. Reconocimiento de la infección viral en el exterior celular o en la vía endocítica

Los receptores TLR (*Toll-like receptors*) funcionan como PRRs que reconocen motivos moleculares conservados llamados PAMPs, que están presentes en una gran variedad de patógenos, incluyendo bacterias, hongos, protozoos y virus. Los TLRs son proteínas transmembrana diseñadas para detectar componentes PAMP situados fuera de las células o en vacuolas citoplasmáticas tras la fagocitosis o endocitosis. A continuación, se refiere aquellos TLRs especializados en el reconocimiento de componentes virales.

TLR2 y TLR4, localizados en la membrana plasmática, están implicados en el reconocimiento de componentes de la cubierta viral, aunque su función principal parece ser la del reconocimiento de componentes bacterianos, lipoproteínas y lipopolisacárido, respectivamente.

Los receptores TLR7, TLR8 y TLR9 son expresados por algunos tipos de DCs, y tienen en común que activan la cascada de señalización celular que se inicia con el reclutamiento del adaptador MyD88 (*Myeloid differentiation factor-88*). TLR7 reconoce secuencias de RNA ricas en guanosina o uridina y se ha visto que resulta activado por los genomas de virus tales como el HIV y el de la gripe. TLR8 es muy parecido a TLR7 y

también resulta activado por secuencias de ssRNA (*single-stranded RNA*), aunque muestra ciertas diferencias de especificidad con respecto a TLR7.

TLR9 reconoce motivos de DNA consistentes en secuencias CpG (citidina-fosfato-guanidina) no metiladas, que son muy abundantes en los genomas bacterianos y de virus DNA. Por ejemplo, se ha visto que virus como el citomegalovirus (CMV) y los virus herpes simplex (HSV) inducen la producción de IFN- α por parte de DCs a través de la interacción de partes de sus genomas con el receptor TLR9.

Una curiosidad es que los receptores TLR7-9 no son expresados en membrana sino que se localizan exclusivamente en endosomas. Así, se piensa que los ácidos nucleicos virales serían liberados en los endosomas tras la endocitosis de los virus, donde estos TLRs los reconocerían y dispararían sistemas de transducción de señales.

En la figura 18 se muestra el mecanismo de señalización inducidos por estos TLRs. Los TLRs contienen en el dominio N-terminal extracelular una serie de repeticiones ricas en leucina que son las responsables de la interacción con los PAMPs, que van seguidas de una región transmembrana y un dominio intracelular que es el responsable de la señalización. Como punto final de esta cascada de señalización se induce la expresión de interferones y de una serie de citoquinas importantes para la inducción de la respuesta inflamatoria y la respuesta inmunitaria específica.

Principalmente, van a ser los interferones de tipo I (IFN- α e IFN- β), producidos en respuesta a la infección vírica, los que van a promover el subsiguiente desarrollo de una inmunidad específica frente al virus. Los interferones de tipo I van a inducir la maduración de las DCs, lo que va a aumentar su capacidad para presentar antígenos virales en el contexto de moléculas MHC-I, favoreciendo la activación de linfocitos T CD8+. Por otro lado, los interferones van a inducir la producción de quimioquinas que van a reclutar, y estimular, a linfocitos y monocitos al sitio de infección.

dsRNA, que es producido durante la replicación de muchos virus, es un PAMP viral reconocido por el TLR3. La activación de este receptor parece producirse durante la fagocitosis de cuerpos apoptóticos, derivados de células infectadas por virus por algunos tipos de DCs. El reconocimiento del dsRNA por parte de TLR3 induce como respuesta la maduración de estas DCs, que en respuesta van a favorecer una respuesta inmunitaria específica frente al virus. En estas células, TLR3 también tiene localización endosomal. En la figura 18 se muestra la vía de señalización empleada por este receptor, que es mediada a través de la activación de TRIF.

En humanos, deficiencias genéticas en TLR3 o en su vía de señalización se han asociado con encefalitis causadas por el virus herpes simplex, lo que indicaría un papel importante de TLR3 en la protección del sistema nervioso central frente al virus HSV-1 (*herpes simplex virus 1*). En ratones, la deficiencia de TLR3 hace que los astrocitos sean más permisibles al HSV, lo que facilita el establecimiento de la infección en el sistema nervioso central.

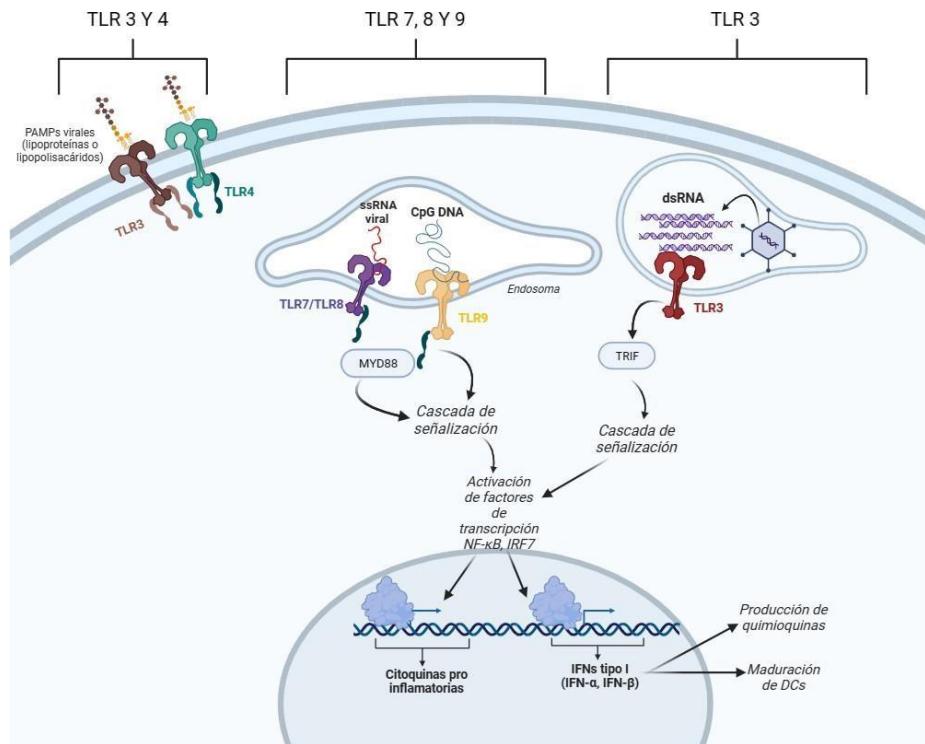


Figura 18. Tipos de TLRs y sus mecanismos de señalización. Creado con Biorender.

5.2. Sensores citoplasmáticos de la infección viral

Por otro lado, también existen varias clases de sensores citosólicos con capacidad para detectar la infección viral. De acuerdo con las características estructurales estos sensores se dividen en tres familias: RLRs, que son sensores de RNA; ALRs, que son sensores de DNA; y los NLRs, que son sensores de PAMPs virales y productos de estrés celular generados por la infección viral.

Los RLRs constituyen una familia de proteínas citoplasmáticas compuesta por tres miembros, que son expresados en la mayoría de las células de mamífero. Estos son: LPG2 (*Laboratory of Genetics and Physiology 2*) RIG-I (*Retinoic acid-Inducible Gene 1*) y MDA5 (*Melanoma Differentiation-Associated gene 5*). RIG-I y MDA5 constan de dos dominios CARD (*caspase-recruitment domain*), un dominio RNA helicasa y un dominio C-terminal (CTD) [Fig. 19]. LPG2 carece de dominio CARD y actúa como un regulador negativo o positivo de la señalización por RIG-I y MDA5, respectivamente.

Los RLRs reconocen RNAs virales en el citoplasma. La infección con virus RNA conlleva la generación de dsRNA y RNAs con 5'- trifosfato en las células infectadas. dsRNAs largos no se encuentran normalmente en las células, y los extremos 5' de los RNAs celulares poseen una estructura cap. MDA5 es preferentemente activado por dsRNAs largos, mientras que los dsRNA más cortos y aquellos que tienen 5'ppp activan más eficientemente a RIG-I (Fig. 20). También se ha visto que la activación resulta más eficaz cuando las moléculas de RNA de cadena sencilla o doble se encuentran formando estructuras en forma de red que cuando están aisladas. En las células sanas de mamíferos, la acumulación de estructuras complejas de RNAs es impedida por la enzima ADAR1.

En células donde el gen ADAR1 es silenciado se observa una producción descontrolada de IFN tipo I.

Los dominios helicasa y C-terminales (CTD) son importantes para el reconocimiento de estos RNAs, mientras que los dominios CARD son esenciales para disparar las cascadas intracelulares de señalización (Fig. 20).

En las células no infectadas, RIG-I y MDA5 se encuentran fosforilados de forma constitutiva en residuos específicos de 2020) serina y treonina en los dominios CARD y C-terminal, lo que los mantiene en un estado reprimido (Fig. 20). Tras la interacción con el RNA, RIG-I y MDA5 experimentan un cambio conformacional que es dependiente de su actividad ATPasa. Estos cambios conformacionales posibilitan su interacción con proteínas reguladoras; así, RIG-I y MDA5 reclutan a las fosfatases PP1 (PP1 α o a la isoforma PP1 γ), que van a desfosforilar a estas proteínas. Por su lado, RIG-I es activado adicionalmente mediante ubiquitinación del dominio CARD, que es mediado por la proteína TRIM25 (*tripartite motif protein 25*) y Riplet (también conocida como RNF135). La ubiquitinación conduce a la tetramerización de RIG-1, paso previo para su interacción con la proteína adaptadora MAVS (*mitochondrial antiviral signalling protein*, también conocida como IPS-1, VISA o Cardif) situada en la superficie de la mitocondria. En cuanto a MAD5, la interacción con dsRNAs largos promueve la formación de filamentos de MAD5, como paso previo a su interacción con MAVS.

En ambos casos, la interacción con MAVS conduce a la activación de vías de señalización que activan factores transcripcionales (NF- κ B, IRF3 e IRF7) que van a

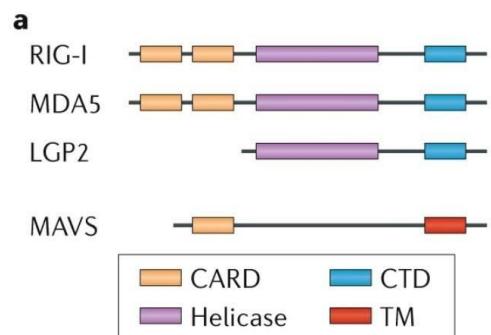


Figura 19. Estructura de los RLRs RIG-1, MDA5 y LGP2, comparada con la estructura del sensor mitocondrial MAVS. TM: región transmembrana.
(Rehwinkel et al. 2020)

inducir la expresión génica de interferones tipo I (IFN- α y - β), tipo III (IFN λ) y muchas citoquinas y quimioquinas proinflamatorias, que van a generar una alerta inmunitaria para combatir la infección viral. Estas citoquinas también van a favorecer el reclutamiento de células inmunitarias encargadas de iniciar la respuesta inmunitaria adaptativa.

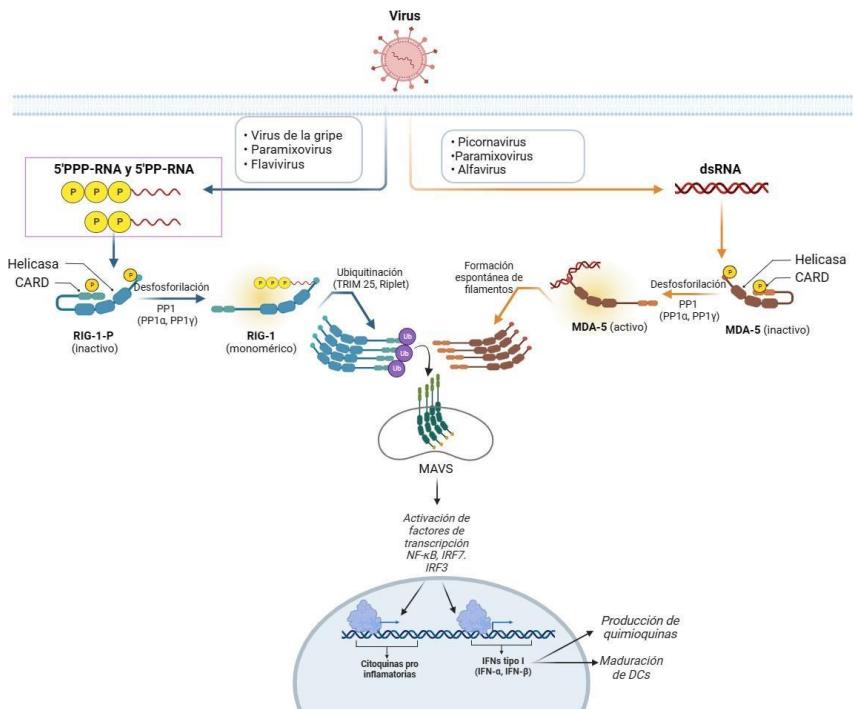


Figura 20. Mecanismo de señalización de los sensores citosólicos RIG-1 y MDA5.
Creado con Biorender.

AIM2 (*Absent in melanoma 2*) fue el primer sensor de DNA citoplasmático estudiado, encontrándose que la interacción con el DNA conduce a la activación de la vía del inflamasoma (Fig. 21). Tras la unión al DNA por su dominio C-terminal, AIM2 interacciona con la proteína adaptadora ASC (*apoptosis-associated specklike protein containing a CARD*). Esta interacción conduce al reclutamiento de la caspasa-1, el complejo recibe el nombre de inflamasoma. Una vez formado el complejo, la caspasa-1 se activa y produce la rotura proteolítica de los precursores y activación, en consecuencia, de las citoquinas pro-inflamatarias interleuquina (IL) 1 β e IL-18, que van a desencadenar una fuerte respuesta inflamatoria local.

Más recientemente se han descrito otros sensores intracelulares de DNA, y dos de ellos son cGAS (*Cyclic GMP–AMP synthase*) e IFI16. cGAS interacciona con el esqueleto de azúcar y fosfato del DNA de cadena doble, de una manera aparentemente independiente de secuencia. cGAS también es capaz de detectar el virus HIV-1 y otros retrovirus, a través de la detección del DNA producido por la retrotranscriptasa inversa. Tras la unión al DNA, cGAS produce el dinucleótido cíclico GMP-AMP (cGAMP). El

cGAMP actúa como mensajero secundario y se une a STING, lo que promueve su activación (Fig. 21). cGAMP también puede salir de la célula infectada y acceder a las células vecinas, activando también a STING e impidiendo su infección por el virus. Tras la interacción con cGAMP, STING dimeriza y experimenta ubiquitinación mediada por TRIM32 y TRIM56. A continuación, STING es translocada desde el retículo endoplasmático al aparato de Golgi y estructuras perinucleares, donde promueve la activación de los factores transcripcionales IRF3 y NF-κB.

Otro sensor citoplasmático de dsDNA viral es IFI16. Una vez que se produce la unión con el dsDNA (Fig. 21), IFI16 se ensambla formando filamentos que se unen a STING, y su activación conduce a la activación de la producción de interferones y otras citoquinas pro-inflamatorias a través de las vías IRF3 y NF-κB. También se ha visto que IFI16 es capaz de interaccionar con ASC y activar la formación del inflamasoma, que conduce a la formación de caspasa 1 activa y a la producción de IL-1 β de IL-18 (Fig. 21). Recientemente, se han encontrado evidencias de que IFI16 también podría activarse en el núcleo, lo que indicaría que esta molécula sería capaz de distinguir entre el DNA propio y el viral.

Otro sensor de DNA, que actúa a nivel del citoplasma, es la RNA polimerasa III (Pol III). PolIII transcribe DNA de cadena doble rico en secuencias AT (una característica común en algunos genomas de patógenos) generando dsRNA que contiene 5'ppp, y esta molécula va a ser reconocida por RIG-I (Fig. 20). Por tanto, esta es una vía en la que las señalizaciones por material genético de virus DNA y RNA estarían confluyendo.

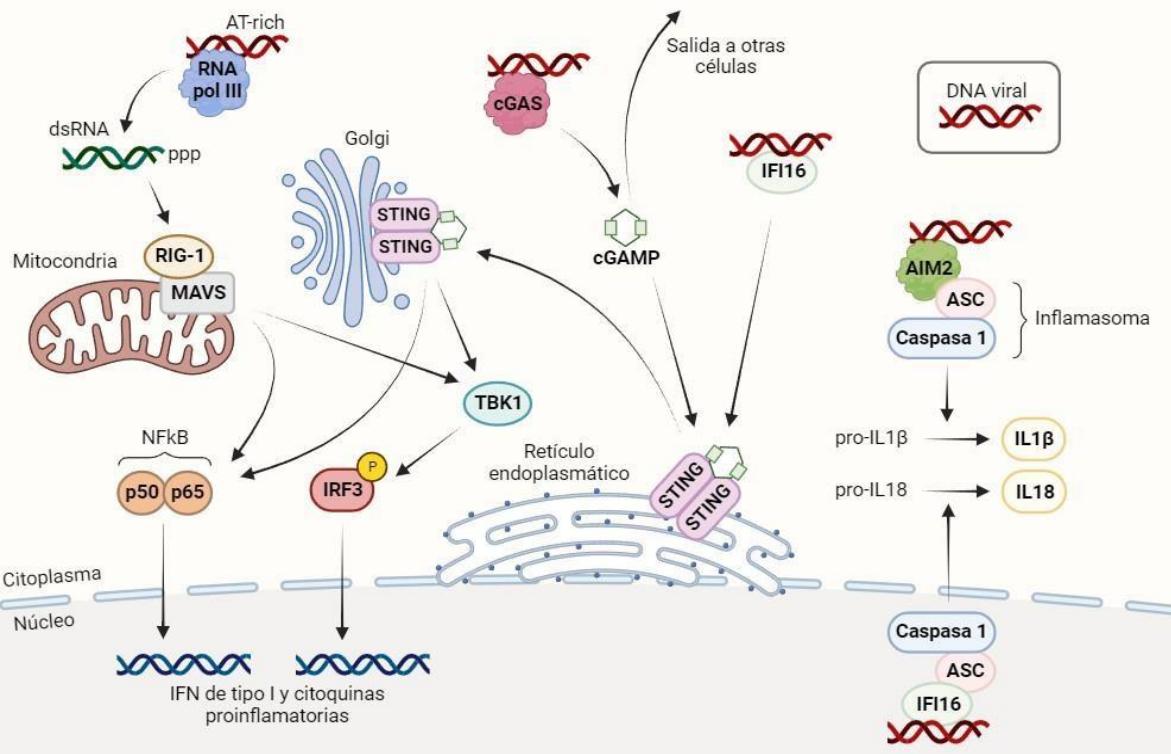


Figura 21. Sensores citoplasmáticos de DNA viral. Cascadas de señalización activadas por diversos sensores citoplasmáticos de DNA viral con el objetivo de producir interferón de tipo I, interleuquinas y citoquinas proinflamatorias. Creado con Biorender.

Lógicamente, los virus patogénicos han debido desarrollar estrategias para impedir que se active la producción de interferones y otras citoquinas proinflamatorias. Así, algunos virus, escapan a la vigilancia de los RLRs a través de inducir la formación de compartimentos específicos para la replicación, rodeados por membranas, o se replican en organelas como el retículo endoplasmático, el aparato de Golgi, la mitocondria o el núcleo. De esta manera se impide que los RLRs interactúen con el RNA viral. Así, por ejemplo, el virus de la gripe se replica en el núcleo. Además, el virus de la gripe evita el reconocimiento del RNA viral, durante los períodos de tránsito por el citoplasma tras la entrada en la célula, a través de su recubrimiento con nucleoproteínas y la presencia de la subunidad PB2 de la polimerasa viral, que evitan el reconocimiento por parte de RIG-I.

Como se ha indicado antes, la presencia de un grupo trifosfato en 5' es un hecho distintivo de los genomas virales y como tal es reconocido por los RLRs. Para evitar esta activación, muchos virus patogénicos producen modificaciones de los extremos 5'ppp (sus genomas codifican para fosfatases) o poseen proteínas que los enmascaran (Fig. 22).

Otro blanco frecuente de las estrategias virales es la vía de activación de MAVS por parte de los RLRs. Así, muchos virus interfieren en la ubiquitinación de RIG-I, al codificar sus genomas para enzimas de desubiquitinación (DUBs, *deubiquitylating*

enzymes). Asimismo, muchos virus bloquean la desfosforilación de RIG-I y MDA. Otros virus codifican para proteasas que son capaces de romper RIG-I, MDA5 o MAVS. También existen proteínas virales con la capacidad de interaccionar específicamente con el dominio ATPasa de MDA5, bloqueando su actividad (Fig. 22).

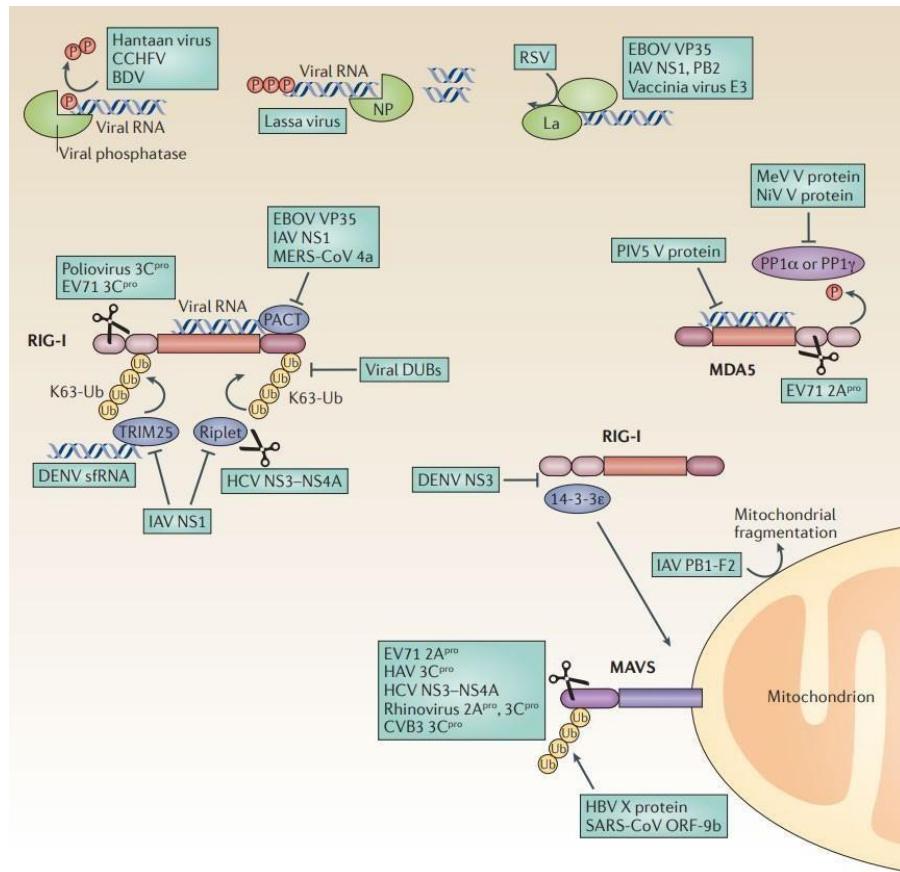


Figura 22. Evasión immune viral de la señalización por RLR-MAVS. Se ilustran diferentes estrategias de evasión utilizadas por el virus. Chan & Gack (2016).

En cuanto a los sensores de DNA, los virus también han desarrollado estrategias para evitar su activación. Por ejemplo, a partir del genoma ssRNA del HIV-1 se generan múltiples copias de dsDNA con la finalidad de su integración cromosomal. Pero este exceso de copias de dsDNA puede ser reconocido por los sensores citoplasmáticos. Se ha encontrado que HIV-1 se sirve de TREX1 (*host 3'-repair exonuclease 1*), la DNAsa 3'-5' más abundante en las células, para degradar el exceso de DNA HIV-1 citosólico (Fig. 23). Así, en células deficientes en TREX1 que son infectadas por HIV-1, se produce una acumulación de dsDNA y una activación de STING, que a través de la producción de interferones conduce a impedir la replicación y expansión del HIV-1.

También se ha visto que la polimerasa del virus de la hepatitis B es capaz de interaccionar con STING, evitando su ubiquitinación e inhibiendo la producción de IFNs.

El HSV-1, que se replica en el núcleo, es capaz de neutralizar al sensor IFI16 a través de inducir su degradación proteasomal en el núcleo.

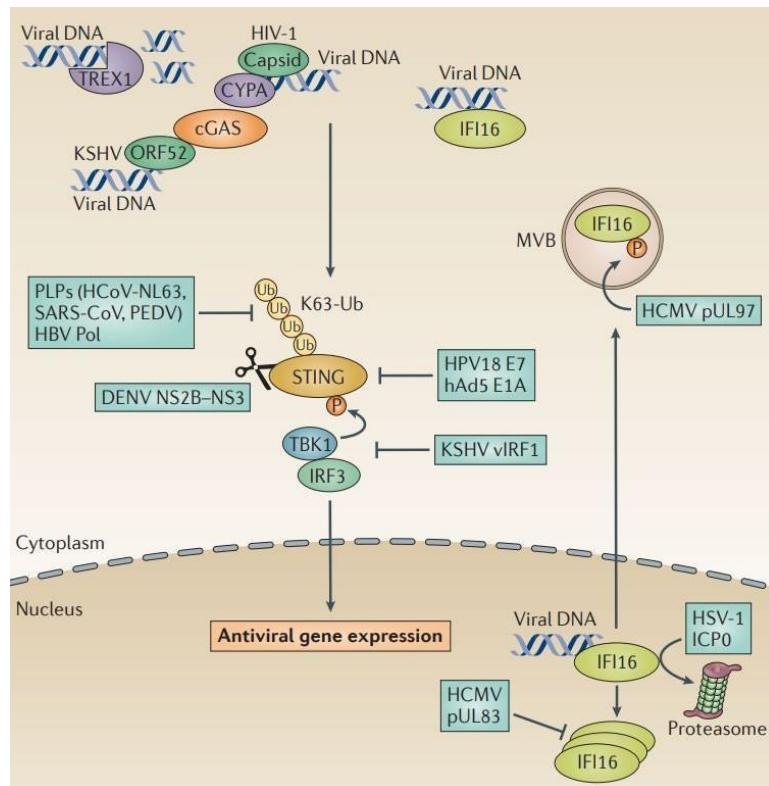


Figura 23. Evasión inmune viral de la señalización por cGAS, IFI16 y STING. Diferentes estrategias de evasión utilizadas por algunos virus. Chan & Gack (2016).

6. Otros factores celulares que restringen la replicación viral: co-evolución virus-hospedador.

La interacción de los virus (principalmente retrovirus) y elementos transponibles (retroelementos) con los genomas de las células hospedadoras a lo largo de millones de años ha llevado a la selección en las células de proteínas intracelulares con capacidad antiviral (factores de restricción). Estas proteínas van a bloquear de forma eficaz la multiplicación de virus susceptibles, una vez que han entrado en la célula. A continuación, se describen dos ejemplos.

6.1. Proteína APOBEC3G.

La APOBEC3G (*apolipoprotein B mRNA-editing enzyme catalytic polypeptide 3G*, abreviada como A3G) es un factor celular que impide la replicación del virus HIV-1, carentes del gen *Vif*, en células humanas. A3G es una citidina desaminasa que cataliza la conversión de las citidinas (C) en uridinas (U). A3G modifica las citidinas en el DNA de cadena sencilla, que es generado durante la transcripción en reverso del HIV-1. La edición de C en U conduce a la substitución de guanina (G) por adenina (A) en la cadena sentido

del DNA al completarse la conversión del RNA en DNA de cadena doble; estas mutaciones pueden producir importantes alteraciones en la secuencia de los productos génicos del HIV-1. A3G presenta afinidad por las proteínas de la núcleo- cápsida y se incorpora en las partículas víricas, que “geman” de las células infectadas. Tras la infección de las células blanco y durante la transcripción en reverso, APOBEC3G edita las C a U en el DNA HIV-1 de cadena sencilla, lo que resulta en cambios de G en A en el genoma HIV-1. Estas mutaciones G-A con frecuencia conducen a la aparición de codones de parada prematuros y, en consecuencia, van a disminuir la replicación del virus.

La proteína Vif, codificada por HIV-1, contrarresta a A3G a través de facilitar la ubiquitinación de ésta y su posterior degradación por el proteasoma. Este es un ejemplo de cómo la interacción virus-hospedador condiciona la evolución de ambas partes. Los factores de restricción de la célula imponen a los virus una presión selectiva para cambiar mediante mutación. A su vez, la infección patogénica impone una presión selectiva sobre el hospedador. Esto conduce a una contra-evolución entre los virus y los factores de restricción y ambos, el virus y el hospedador, se encuentran bajo una presión selectiva constante para intentar obtener alguna ventaja. Este proceso se conoce como el “efecto Reina Roja”, en alusión al cuento de Lewis Carroll, Alicia en el país de las maravillas, en el que la Reina roja le dice a Alicia: “corre todo lo que puedas para permanecer donde estás”. Este proceso de co-evolución se observa frecuentemente en las relaciones predador-presa.

Además de A3G, otros miembros de la familia APOBEC3 también son capaces de interferir sobre distintos virus y elementos transponibles.

El modo de acción de la proteína A3G se ilustra en la figura 24.

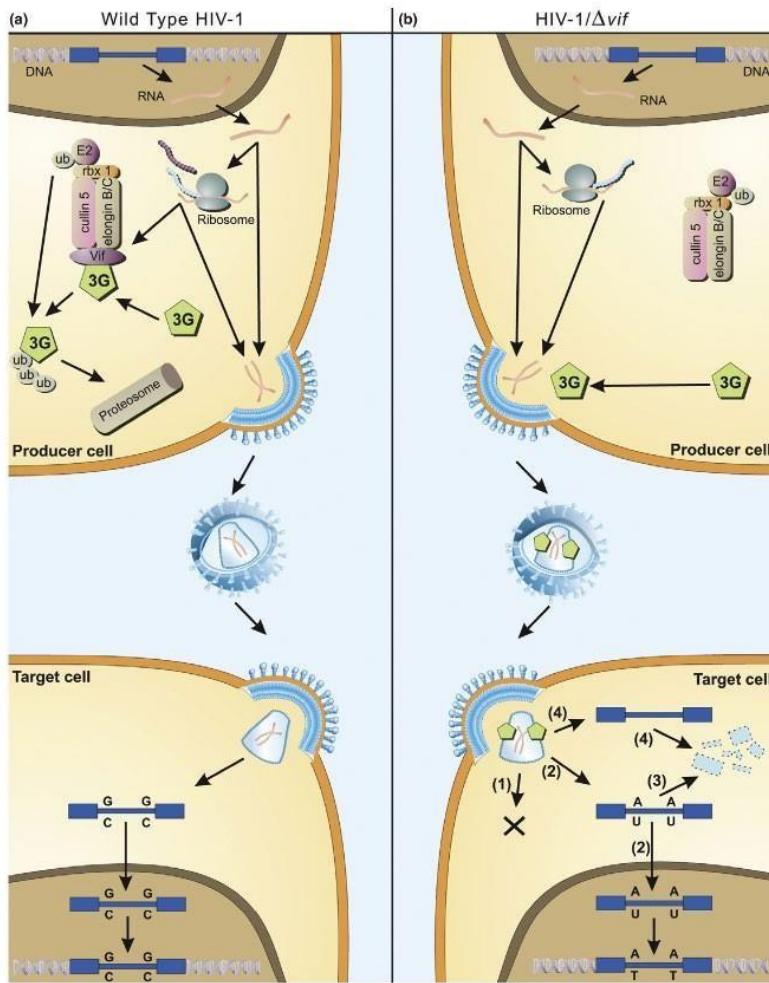


Figura 24. Mecanismo de acción de APOBEC3G. Efectos de la APOBEC3G como mecanismo antiviral celular y su inactivación por una proteína accesoria (Vif) del VIH-1. Huthoff & Towers (2008).

6.2. Proteína TRIM5 α .

TRIM5 α (*Tripartite motif protein 5 α*) fue identificado en 2004 como un inhibidor de la replicación del HIV-1 en células de monos Rhesus. Esta proteína, en su extremo C-terminal, posee un dominio, denominado PRY/SPRY, que interacciona de forma específica con la cápsida del virus, bloqueando la infectividad de la partícula. Desafortunadamente, la proteína homóloga de humanos carece de ese efecto inhibidor sobre la infectividad del HIV-1. Sin embargo, la proteína humana si es capaz de inhibir otros virus como son el virus de la anemia infecciosa equina y la variante N del virus de la leucemia de ratón (MLV-N).

Aunque faltan por determinar muchos de los detalles, en la figura 25 se muestran los mecanismos responsables de la inhibición de la infectividad viral por TRIM5 α . TRIM5 α , en la célula, se encuentra formando agrupaciones conocidas como “cuerpos citoplasmáticos”. Cuando se produce la entrada del virus, éste es reconocido por la

proteína TRIM5 α , y el complejo va a ser reconocido por el proteasoma, que lo va a destruir. Por otro lado, la inhibición del proteasoma (p.ej. con MG132), conduce a una acumulación de los complejos TRIM5 –virus en el citoplasma, pero que carecen de infectividad.

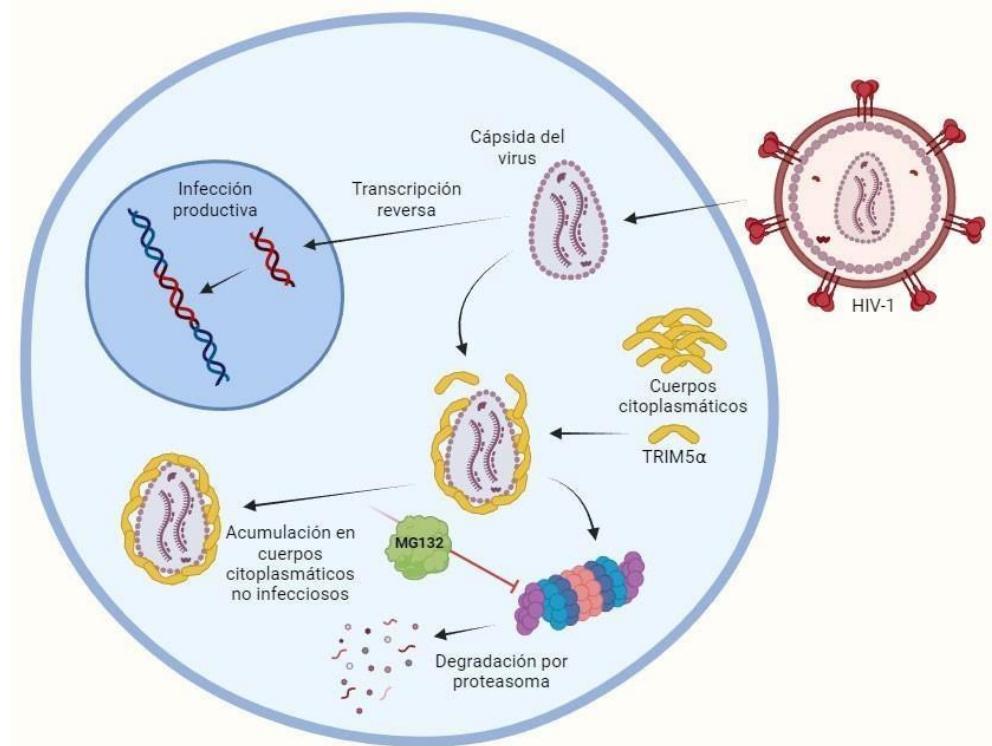


Figura 25. Mecanismo de acción de TRIM5 α sobre la infección de HIV-1. Efectos de TRIM5 α como mecanismo antiviral celular. Creado con Biorender.

7. Vacunas.

Algunas de las vacunas más efectivas han sido vacunas frente a enfermedades víricas. En 1996 se celebró el 200 aniversario de la invención de la primera y más exitosa vacuna antiviral, frente a la viruela (*smallpox*), que ha permitido erradicar esta enfermedad del mundo.

Las vacunas se han dividido tradicionalmente en vivas y muertas, y esta distinción sigue siendo empleada. Las vacunas frente a la polio, la viruela, la fiebre amarilla, sarampión, rubeola, varicela y adenovirus están compuestas de virus vivos atenuados.

Las vacunas muertas se dividen a su vez en: vacunas de virus completos inactivados; vacunas de subunidades y vacunas de proteínas recombinantes.

La vacuna con virus de la polio inactivado, la hepatitis B, la encefalitis japonesa y la rabia, son todas vacunas compuestas de virus enteros carentes de infectividad.

Las vacunas frente a la gripe normalmente consisten en subunidades desagregadas del virus, y, en el caso de la hepatitis B, una proteína de la superficie ha sido clonada en levaduras y expresada como proteína recombinante.

Se ilustran los diferentes tipos de vacunas explicados previamente en la figura 26.

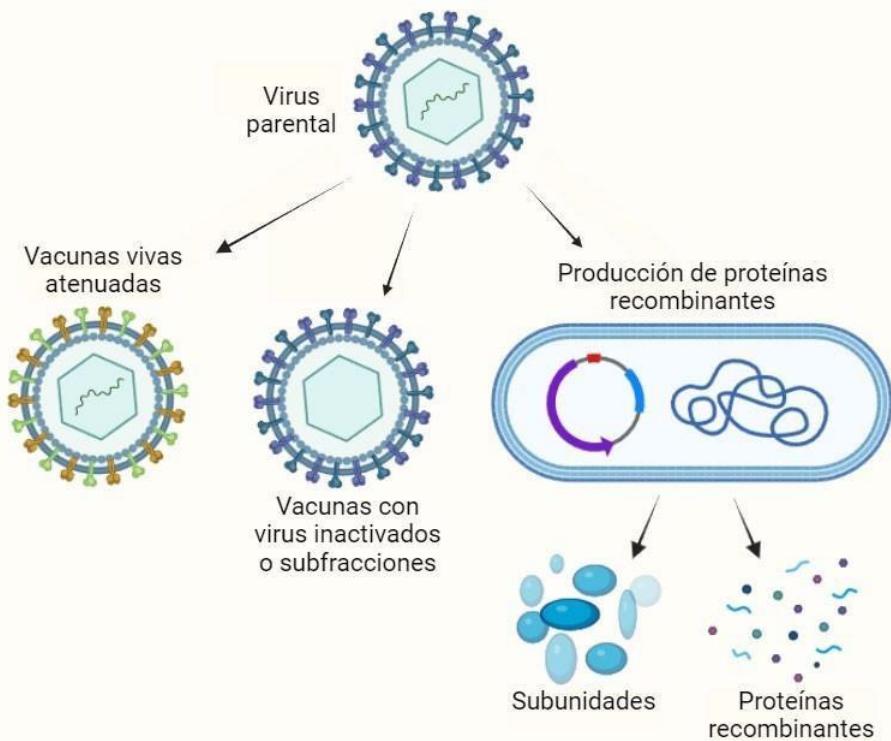


Figura 26. Principales estrategias seguidas para la obtención de vacunas virales. Creado con *Biorender*.

Referencias.

- Andreotti, P. E., Ludwig, G. V., Peruski, A. H., Tuite, J. J., Morse, S. S. and Peruski, L. F., Jr. (2003). Immunoassay of infectious agents. *Biotechniques* 35: 850- 859.
- Brander, C. and Walker, B.D. (2000) Modulation of host immune response by clinically relevant human DNA and RNA viruses. *Cur. Op. Microbiol.* 3: 379-386.
- Carrasco, L. y Almendral, J.M. (Eds). (2005) Virus patógenos. Editorial Hélice.
- Chan, Y.K. and Gack, M.U. (2016). Viral evasion of intracellular DNA and RNA sensing. *Nat. Rev. Microbiol.* 14: 360-373.
- Domachowske, J. B., & Rosenberg, H. F. (1999). Respiratory syncytial virus infection: immune response, immunopathogenesis, and treatment. *Clinical Microbiology Reviews*, 12(2), 298-309.
- Fletcher, M.A. and Plotkin, S.A. (1997) Vaccines. In: Clinical virology (D.D. Richman, R.J. Whitley y F.G. Hayden, eds). Churchill Livingstone Inc., New York.
- Gurtler, C. and Bowie, A.G. (2013). Innate immune detection of microbial nucleic acids. *Trends Microbiol.* 21: 413-420.
- Hammer, S.M. and Inouye, R.T. (1997). Antiviral agents. In: Clinical virology (D.D. Richman, R.J. Whitley y F.G. Hayden, eds). Churchill Livingstone Inc., New York.
- Huthoff, H. and Towers, G.J. (2008). Restriction of retroviral replication by APOBEC3G/F and TRIM5alpha. *Trends Microbiol.* 16:612-619.
- Iwasaki, A. (2012). A virological view of innate immune recognition. *Annu. Rev. Microbiol.* 66: 177-196.
- Johnson, W.E. (2019). Origins and evolutionary consequences of ancient endogenous retroviruses. *Nat Rev Microbiol* 17, 355-370.
- Kawai, T. and Akira, S. (2006) Innate immune recognition of viral infection. *Nat. Immunol.* 7: 131-137.
- Koonin, E. V., Krupovic, M. and Agol, V.I. (2021). The Baltimore Classification of Viruses 50 Years Later: How Does It Stand in the Light of Virus Evolution? *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 85: e0005321.
- Lakeman, F. (1997). Diagnosis of viral infections. In: Clinical virology (D.D. Richman, R.J. Whitley y F.G. Hayden, eds). Churchill Livingstone Inc., New York.
- Lambotin, M., Raguraman, S., Stoll-Keller, F., Baumert, T.F., and Barth, H. (2010). A look behind closed doors: interaction of persistent viruses with dendritic cells. *Nat. Rev. Microbiol.* 8: 350-360.
- Ma, Z., Ni, G., and Damania, B. (2018). Innate Sensing of DNA Virus Genomes. *Annu Rev Virol* 5, 341-362.
- Nasir, A., Forterre, P., Kim, K. M., & Caetano-Anollés, G. (2014). The distribution and impact of viral lineages in domains of life. *Frontiers in microbiology*, 5, 194.
- Rehwinkel, J., & Gack, M. U. (2020). RIG-I-like receptors: their regulation and roles in RNA sensing. Figure 2a. *Nature Reviews Immunology*, 20(9), 537-551.
- Richman, D.D., Whitley, R.J. and Hayden, F.G. (eds.) (1997) Clinical virology. Churchill Livingstone Inc., New York.
- Roossinck, M.J. (2011). The good viruses: viral mutualistic symbioses. *Nat. Rev. Microbiol.* 9: 99-108.
- Siddell SG, Smith DB, Adriaenssens E, Alfenas-Zerbini P, Dutilh BE, Garcia ML, Junglen S, Krupovic M, Kuhn JH, Lambert AJ, Lefkowitz EJ, Łobocka M, Mushegian AR, Oksanen HM, Robertson DL, Rubino L, Sabanadzovic S, Simmonds P, Suzuki N, Van Doorslaer K, Vandamme AM, Varsani A, Zerbini FM. (2023) Virus taxonomy and the role of the International Committee on Taxonomy of Viruses (ICTV). *J Gen Virol* 104(5):001840.
- Streicher, F. and Jouvenet, N. (2019). Stimulation of Innate Immunity by Host and Viral RNAs. *Trends Immunol.* 40: 1134–1148.
- Takeuchi, O. and Akira, S. (2009). Innate immunity to virus infection. *Immunol. Rev.* 227: 75-86.
- Virgin, H.W., Wherry, E.J. and Ahmed, R. (2009). Redefining chronic viral infection. *Cell* 138: 30-50.

- **Yewdell, J.W. and Bennink; J.R.** (1997). Immune responses to viruses. In: Clinical virology (D.D. Richman, R.J. Whitley y F.G. Hayden, eds). Churchill Livingstone Inc., New York.

En la red:

- <http://www.cbm.uam.es/sev/> Página WEB de la Sociedad Española de Virología, donde además de información sobre temas de actualidad, existe un juego didáctico para evaluar los conocimientos sobre virus.