

# Herpes virus humano tipo 6 y esclerosis múltiple

*Miguel Guerrero Fernández y José Gutiérrez Fernández.  
Servicio de Neurología. Departamento de Microbiología  
Hospital Clínico Universitario San Cecilio. Granada.*

Recientemente se han comunicado los resultados de diferentes estudios implicando a un virus de la familia del herpes, el virus del herpes humano tipo 6 (VHH-6), en la etiología y patogenia de la esclerosis múltiple. Los investigadores no han llegado todavía a conclusiones definitivas y existe una amplia controversia sobre la validez de los resultados, lo que nos ha motivado a revisar el estado actual del tema ya que puede tener importantes implicaciones terapéuticas en el futuro (p.e. tratamiento antivírico o vacuna) si se confirmara dicha asociación.

## VIRUS

El término virus procede de una palabra latina que significa veneno. Se definen como moléculas de ácidos nucleicos (ADN o ARN) rodeados por una o más proteínas que constituyen la cápside. (Figura 1) Esta estructura tiene tres funciones: 1) proteger los ácidos nucleicos de la digestión por ciertas enzimas denominadas nucleasas; 2) englobar zonas que reconocen y fijan al virus a las moléculas receptoras de membrana de la célula que va a ser infectada; y 3) formar parte de un componente especializado que permite a algunos virus romper la membrana celular e inyectar su ácido nucleico en el interior. (Figura 2)

Algunos virus presentan además una cubierta externa que consiste en una doble capa lipídica que proviene de la membrana celular de la célula a la que infectan, por donde protruyen las proteínas de la cápside lo que les confiere una apariencia espinosa. Estas proteínas o capsómeros que se exteriorizan a través de la cubierta externa frecuentemente están glicosiladas y tienen una importancia capital, ya que representan los determinantes antigénicos predominantes para desarrollar la respuesta inmune defensiva del organismo huésped frente al virus.

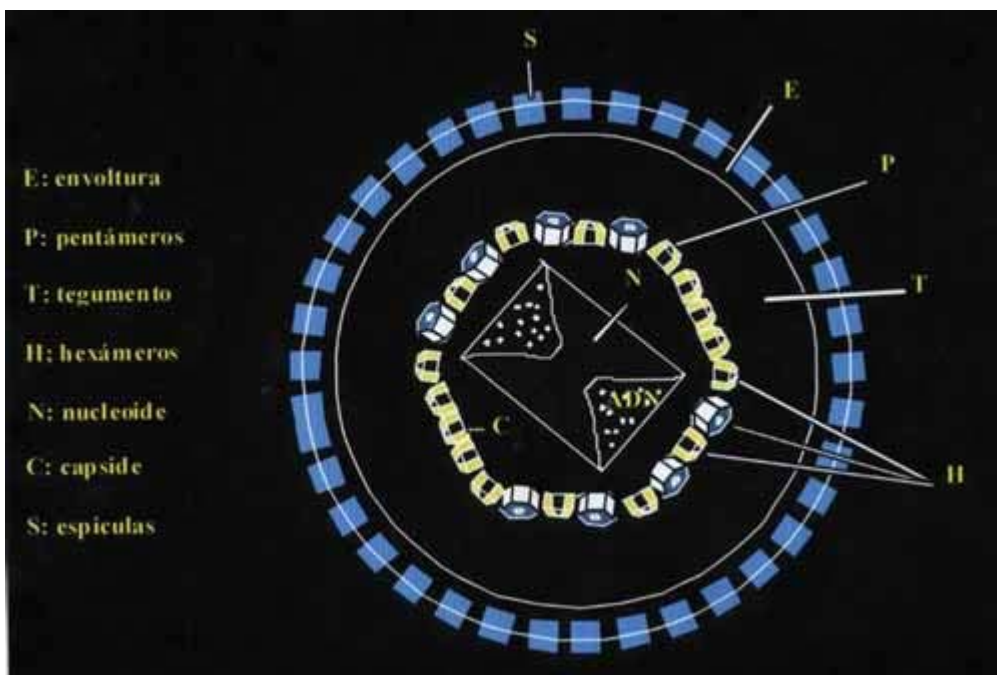


Figura 1. Estructura de un virus.

Los virus ocupan una posición especial dentro de la biología: no son plantas, no son animales, tampoco son bacterias u hongos. De hecho, no deberían ser considerados como organismos en sentido estricto ya que son incapaces de vivir de forma independiente: no pueden sintetizar proteínas, no pueden generar o almacenar energía y no pueden reproducirse sin infectar una célula huésped y parasitar sus organelas en provecho propio.

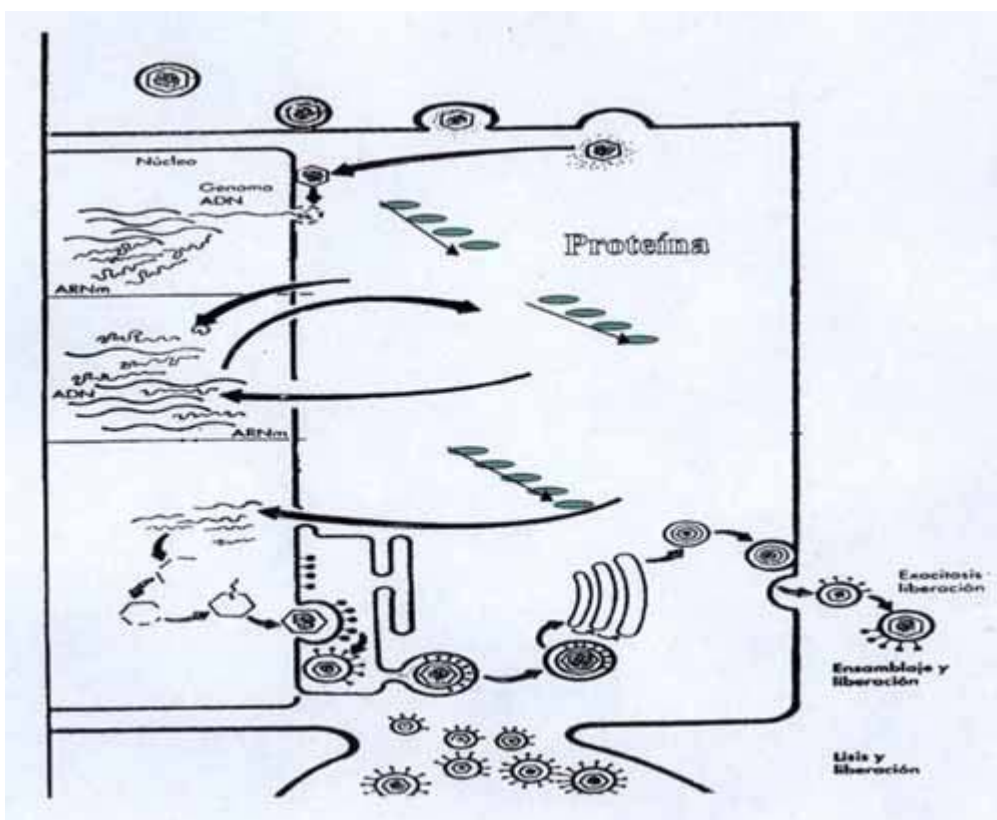


Figura 2. Ciclo replicación de herpes virus en células. Tomado y modificado parcialmente de Microbiología médica. Murray PR, Lawrence Drew W, Kobayashi GS, Thompson JH, eds. Mosby-Year Book Europe Ltd.

1992. Madrid.

El virus mosaico del tabaco fue el primer virus recuperado en el laboratorio. Fue reconocido como un agente infeccioso filtrable gracias a los trabajos independientes realizados por Iwanowski en Rusia (1892) y Beijerinck en Holanda (1898), proponiendo este último que se trataba de la causa de una enfermedad transmisible de las plantas. Sin embargo, la visualización de las partículas víricas tuvo que esperar a la aparición del microscopio electrónico en la década de 1940, mientras que su identificación no fue posible hasta que no estuvieron desarrolladas las técnicas de cultivo celular en superficies de vidrio en el año 1949.

Los virus que infectan a los animales presentan una amplia variabilidad en tamaño y forma. Los más pequeños pertenecen a la familia Parvoviridae, que mide unos 20 nanómetros de diámetro, y los más grandes son los de la familia Poxviridae que mide entre 250-400 nanómetros de diámetro, presentando estos últimos una estructura compleja. Los virus se clasifican de forma básica según diferentes criterios: a) tamaño; b) peso molecular, número de genes, carácter mono o bicatenario y polaridad del ácido nucleico; c) número de capsómeros y simetría de la cápside (icosaédrica, helicoidal o compleja); d) presencia o ausencia de envoltorio; e) lugar de la replicación intracelular (nuclear o citoplásmica); f) enzimas implicados en la transcripción y replicación del genoma y su origen vírico o celular; y g) sensibilidad o resistencia al éter, cloroformo y otros solventes orgánicos.

El diagnóstico de la infección vírica se puede realizar mediante diferentes métodos: cultivo celular, detección de antígenos víricos, detección de ácidos nucleicos, visualización con microscopio electrónico, estudios de citología, histología o serología.

El cultivo celular constituye la única técnica capaz de conseguir un aislamiento de la partícula vírica que sea viable biológicamente y permite caracterizar sus propiedades para clasificación, desarrollo de otras técnicas diagnósticas y susceptibilidad a fármacos. Otra ventaja es que permite detectar la presencia de múltiples virus que pueden coinfectar simultáneamente, algunos de ellos no sospechados previamente. La técnica es compleja y laboriosa, no estando capacitados todos los laboratorios para poderla realizar ya que requiere tener disponibles varias líneas celulares a las que infectar, como células de riñón de mono, fibroblastos humanos, células epiteliales humanas, etc. El crecimiento del supuesto virus se detecta visualizando cambios morfológicos en las células del cultivo, lo que se denomina efecto citopático, y confirmando la sospecha del virus en concreto mediante el uso de anticuerpos (Ac) monoclonales específicos frente al mismo.

Las técnicas de detección de antígenos víricos (Ag) incluyen técnicas de Ac fluorescentes, tinción mediante inmunoperoxidasa y EIA. Estos procedimientos son especialmente útiles para virus que crecen muy lentamente o de forma lábil en cultivo celular y tienen la ventaja que pueden realizarse muy rápidamente (en cuestión de horas) y con el virus inactivado.

El desarrollo de la técnica de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) ha hecho posible la detección de material genético (ADN o ARN) del virus con una gran sensibilidad diagnóstica, pudiendo incluso cuantificar la carga viral como indicador de gravedad de infección y respuesta a tratamiento (p.e. SIDA). Es posible realizar detecciones de diferentes virus e incluso otros patógenos de forma simultánea. Tiene como graves inconvenientes el riesgo de contaminación de las muestras y la falta de estandarización de los procedimientos.

La serología se basa en que el organismo infectado por un agente infeccioso genera una respuesta inmune defensiva caracterizada por la síntesis secuencial de Ac según un patrón temporal establecido: primero síntesis de IgM y después de IgG o bien incremento de títulos IgG entre fase inicial y evolucionada de la enfermedad. Es una técnica fácilmente accesible en cualquier centro y existen numerosos laboratorios comerciales que fabrican los ensayos con diferentes grados de sensibilidad y especificidad, sin embargo tiene también serios problemas como la activación policlonal de linfocitos con síntesis inespecífica de Ig en situaciones de inmunidad alterada, la falta de respuesta humoral frente al agente infeccioso en algunos enfermos inmunodeprimidos, la posibilidad de reacciones cruzadas entre Ag de diferentes microorganismos o la dificultad para obtener los mismos resultados de una determinación a otra.

## **VIRUS Y ENFERMEDADES DEL SISTEMA NERVIOSO CENTRAL**

Una gran cantidad de información sobre las enfermedades producidas por virus se fue acumulando a principios del siglo XX. La transmisión mediante artrópodos de la fiebre amarilla fue establecida en 1901, la naturaleza filtrable del virus de la rabia en 1903 y la transmisión de la poliomielitis al mono en 1903. Se recuperaron virus de tejidos cerebrales de enfermos fallecidos por encefalitis epidémica y del líquido cefalorraquídeo de pacientes con meningitis aséptica en 1935.

El término infección lenta fue acuñado en 1954 por Sigurdson en Islandia para denominar diversas enfermedades de las ovejas con largos periodos de latencia y curso progresivo que conducían a la muerte del animal, siendo el prototipo la tembladera de la oveja (en inglés "scrapie"), que no está producida por un virus, sino por un agente infeccioso no vírico denominado príon. En 1964 se comunicó la presencia de partículas similares a los papovavirus en el cerebro de pacientes con leucoencefalopatía multifocal progresiva; al año siguiente se describieron partículas filamentosas en la panencefalitis esclerosante subaguda; en 1975 se comunicaron los primeros casos de panencefalitis progresiva por rubéola; y a partir de 1980 se conoce el papel neuropatógeno de los retrovirus, dentro de los cuales se encuentra el virus del SIDA.

El papel que juegan los virus para producir desmielinización del sistema nervioso central (SNC) se conoce desde hace mucho tiempo. Hay dos enfermedades en humanos que son el prototipo de este fenómeno: la leucoencefalopatía multifocal progresiva producida por el virus JC (VJC) y la panencefalitis esclerosante subaguda secundaria al virus del sarampión. Ambas enfermedades son muy infrecuentes en la práctica clínica habitual y tienen una relación temporal muy remota entre el momento de la infección y el inicio de los síntomas, por lo que se considera que ambos están latentes en el tejido del SNC (encéfalo y / o médula espinal) mediante mecanismos de persistencia vírica no claramente establecidos todavía. La reactivación en el caso del VJC está en estrecha relación con un fallo severo de la función del sistema inmune, por lo que pacientes inmunodeprimidos de cualquier origen (SIDA, neoplasias, etc.) presentan con mayor frecuencia esta enfermedad. Hay más de 10 clases de virus distintos que pueden inducir lesión de la sustancia blanca del SNC tanto del hombre como los animales. (Tabla 1)

## **INFECCIÓN Y EM**

La supuesta relación entre un agente infeccioso y la esclerosis múltiple (EM) ya fue anticipada en 1884 por Pierre Marie, neurólogo francés discípulo y sucesor de Charcot en la cátedra de París, llegándose incluso a plantear la posibilidad

de una futura vacuna contra la enfermedad. Sin embargo, para poder demostrar que un agente infeccioso está relacionado con una enfermedad humana, se deben de cumplir una serie de requisitos que estableció Koch, microbiólogo alemán del siglo XIX. Estos criterios se resumen en sus famosos postulados:

Primero: el agente infeccioso ocurre en cada caso de la enfermedad en cuestión y bajo circunstancias que pueden justificar los cambios patológicos en el curso clínico de la enfermedad.

Tabla 1.  
VIRUS ASOCIADOS CON DESMIELINIZACIÓN  
(Stohlman 2001)

VIRUS	FAMILIA	HUÉSPED
Virus del sarampión	<i>Paramyxoviridae</i>	Hombre
Virus JC (VJC)	<i>Papovaviridae</i>	Hombre
HTLV-1	<i>Lentiviridae</i>	Hombre
Virus del SIDA (VIH)	<i>Lentiviridae</i>	Hombre
Vacuna viruela	<i>Poxviridae</i>	Hombre
Virus herpes simple (VHS)	<i>Herpesviridae</i>	Hombre
Virus de la hepatitis del ratón	<i>Coronaviridae</i>	Ratón
Virus de Theiler	<i>Picornaviridae</i>	Ratón
Virus del Bosque Semliki	<i>Alfaviridae</i>	Ratón
Virus Sindbis	<i>Alfaviridae</i>	Ratón
Virus del moquillo canino	<i>Paramyxoviridae</i>	Perro
Virus visna	<i>Lentiviridae</i>	Oveja

Segundo: que no ocurre en otras enfermedades como un agente infeccioso fortuito y no patogénico.

Tabla 2.  
VIRUS AISLADOS EN EM (modificado de Johnson 1994)

VIRUS AISLADO	METODO DE ESTUDIO DE LA INFECCIÓN	AÑO
Rabia	Encefalitis en ratón por inoculación de cerebro o sangre	1946 1964
Herpes simple	Cambios citopáticos en cultivos inoculados con homogeneizado cerebral Aislamiento del LCR durante primer brote	1964
1989		
Agente Carp	Descenso en PMN en ratones inoculados con tejido de EM	1972
Parainfluenza	Cocultivos celulares de tejido cerebral con otras células	1972
Sarampión	Cambios citopáticos en células de riñón de mono inoculadas con cerebro	1972
Virus simio-5	Formación de sincitia en cultivos MRC5 con inoculados de M.O.	1978
CMV chimpancé	Inoculación a chimpancés recién nacidos con células cerebrales	1979
Coronavirus	Inoculación a la rata de cerebros frescos no congelados	1980
SMON virus	Cambios citopáticos en MRC5 inoculadas con LCR	1982
Flavivirus	Inoculación a la rata de sangre	1982
HTLV-1	Identificación de ARN en células T del LCR	1986
LM7 (retrovirus)	Encontrado en líneas celulares leptomeníngicas del LCR	1989
HHV6	Detección diferencial mediante PCR en placas cerebrales	1996

Tercero: que tras haber sido aislado de forma completa del cuerpo humano y repetidamente cultivado en cultivos puros, pueda inducir nuevamente la enfermedad.

Si se cumplen estos postulados, entonces la ocurrencia del agente infeccioso en la enfermedad no puede ser accidental, y por tanto no se puede considerar otro



tipo de relación entre este y la enfermedad nada más que como agente causal de la misma.

Estos postulados no se han cumplido en su totalidad para ciertas enfermedades como la difteria ni tampoco para otras infecciones bacterianas en humanos. Además, con el descubrimiento de los virus, los postulados de Koch se volvieron anticuados. Primero, debido a la limitada sensibilidad de los medios de aislamiento, los virus casi nunca se aíslan en todos los casos de una enfermedad. Segundo, virus patógenos como polio virus o herpes virus a menudo se recuperan de personas no enfermas. Tercero, los virus crecen en células vivas y, por tanto, no pueden crecer en cultivos puros, tal como fueron definidos por Koch. Y por último, cuando se introducen en animales de experimentación de forma no infrecuente producen diferentes enfermedades.

Rivers llamó la atención sobre la importancia de los estudios inmunológicos para demostrar una respuesta inmune primaria durante la infección, para así estar seguros que el virus no estaba fortuitamente presente en los enfermos ni tampoco se recuperó de forma accidental de los animales de experimentación. Sin embargo, en ciertas enfermedades neurológicas, no es posible demostrar esta activación del sistema inmune, por este motivo Gibbs y Johnson en 1974 propusieron los siguientes criterios alternativos para relacionar virus con infecciones lentas: 1) debe existir consistencia en la transmisión de la enfermedad a los animales de experimentación o alguna consistencia en la recuperación de virus en cultivos celulares, y esta transmisión y recuperación debe ser confirmada por más de un laboratorio; 2) bien la transmisión seriada del proceso clínico patológico debe cumplirse utilizando material filtrado y diluciones seriadas para establecer la replicación del agente o bien el agente recuperable debe demostrarse de forma consistente en el tejido enfermo mediante microscopía electrónica, inmunofluorescencia u otros métodos, y debe ser demostrado en las células apropiadas para explicar las lesiones; 3) los estudios paralelos de tejidos de sujetos normales o bien con otras enfermedades, deben ser llevados a cabo para establecer que el agente no es un saprófito o un contaminante.

Existen varias líneas de investigación que apoyan la hipótesis de que la EM pueda estar en relación con una posible infección: 1) los estudios epidemiológicos han indicado que hay un factor de exposición en la infancia en la génesis de la enfermedad; 2) los estudios de experimentación animal (virus de Theiler, virus de la hepatitis del ratón) han mostrado que estos virus producen enfermedades con largos periodos de incubación, cursos oscilantes con remisiones y empeoramientos, con diversos mecanismos patogénicos de destrucción de la mielina; 3) los estudios con pacientes de EM de forma inconsistente han mostrado una relación con algunos virus o diversos microorganismos. (Tabla 2)

La patogenia de la supuesta infección debe explicar: el desencadenamiento de la enfermedad, la aparición de los brotes y de las remisiones en los primeros años de la enfermedad así como el desarrollo de la forma clínica conocida como EM secundariamente progresiva, en la que se evidencia un deterioro neurológico independiente de los brotes al cabo de un tiempo de evolución. También hay que considerar en este esquema el papel que juegan los fármacos que se utilizan actualmente para tratar la EM, como los corticoides, el interferón beta, el acetato de glatiramer (copolímero) y los inmunosupresores.

Es posible que pueda haber un agente que desencadene la enfermedad, en un sustrato inmunogenético de predisposición determinado, y que posteriormente el mismo agente u otro agente(s) distinto sean los responsables de la evolución de la misma. Por eso, para determinar si un agente concreto, el virus VHH-6

por ejemplo, es el verdadero responsable de la EM hay que tener en cuenta los siguientes criterios que establecen una relación de asociación entre causa y efecto: 1) la causa siempre precede al efecto (relación temporal); 2) esta asociación causal aparece en los enfermos y no en los sujetos control (alto riesgo relativo, lo que indica una fuerte asociación); 3) cuando existe alta exposición al agente hay alto riesgo de enfermedad (gradiente biológico); 4) los estudios repetidos por diferentes grupos de investigación en diferentes lugares dan los mismos resultados (son consistentes); 5) existe una explicación patogénica plausible y demostrable según el estado actual del conocimiento científico; 6) existe una sola enfermedad para una sola causa (especificidad biológica); 6) tiene que haber evidencia experimental, con un modelo animal que pueda servir de referencia; y 7) existe una relación causa efecto ya establecida para una exposición similar (analogía biológica).

## **MODELOS EXPERIMENTALES DE DESMIELINIZACIÓN INDUCIDA POR VIRUS**

Existen dos modelos experimentales de desmielinización inducida por virus en el ratón. Ambos modelos están producidos por virus ARN que pertenecen a familias diferentes, Picornaviridae para el virus de la encefalomiелitis de Theiler (VEMT) y Coronaviridae para el virus de la hepatitis murino (VHM). Estas dos infecciones desmielinizantes producidas por virus animales muestran una luz sobre la interacción entre agente infeccioso, sustrato genético y regulación del sistema inmune, para condicionar el curso evolutivo de la enfermedad.

La cepa de ratón preferida para inducir la encefalomiелitis de Theiler (EMT) es la denominada SJL, que es también la más ampliamente utilizada en los estudios de encefalomiелitis alérgica experimental (EAE), otro tipo de enfermedad desmielinizante inducida en los animales de laboratorio mediante inmunización con antígenos obtenidos del SNC. Sin embargo, el VHM requiere la inoculación en ratas C57/BL6 o BALB/c, pero no en ratón SJL que es resistente a esta infección, ya que carece de receptor celular para el VEMT.

El VEMT era un patógeno natural relativamente común en el ratón del laboratorio, pero la infección espontánea del SNC era rara, por ese motivo la inducción experimental de la enfermedad requiere de la inoculación de virus dentro del cerebro del ratón, en animales jóvenes y preferentemente hembras, que son más susceptibles. Existen 4 cepas del virus que pueden inducir la enfermedad, dos de ellas muy neuropatógenas (GDVII y FA) que producen una enfermedad monofásica de curso fatal y otras dos atenuadas (BeAn y DA) que evolucionan de una forma bifásica, primero produciendo una encefalomiелitis aguda con invasión de las neuronas seguido de una desaparición temporal del virus del SNC, para posteriormente reaparecer infectando células gliales (astrocitos y, fundamentalmente, microglía, pero apenas en oligodendrocitos). Por tanto, en aquellas cepas de ratones que son resistentes a la desmielinización, el sistema inmune es capaz de conseguir la eliminación completa y permanente del VEMT.

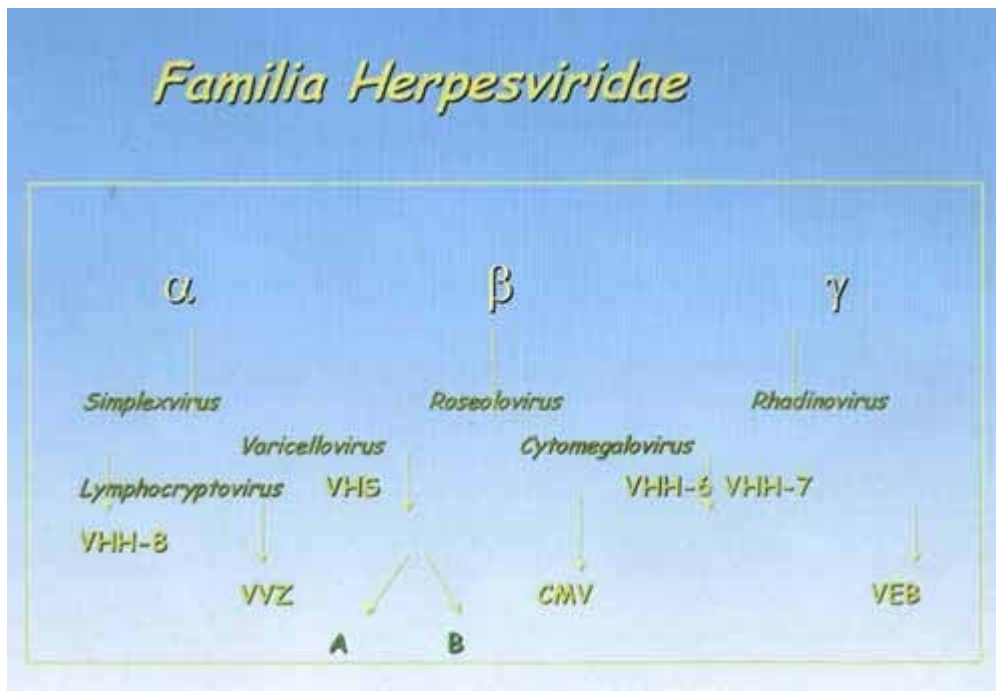


Figura 3. Clasificación de la familia Herpesviridae.

La encefalomielitis inicial por VEMT afecta a las neuronas del tálamo, hipotálamo, tronco del encéfalo y mononeuronas del asta anterior medular que son el objetivo inicial del virus, mientras que la sustancia blanca, las meninges, los plexos coroideos o el epéndimo no están implicados, no encontrándose, por tanto, apenas desmielinización o inflamación del parénquima durante este periodo de la enfermedad. Durante esta fase, se produce una reacción inflamatoria local en la zona del cerebro que ha sido infectada por el VEMT, y posteriormente sigue de una fase de diseminación hematológica del virus (viremia) con la consiguiente generación de inmunidad humoral (Ac) e inmunidad celular (CD4+, CD8+) frente al mismo.

A las 2-4 semanas tras la infección sobreviene, en las cepas de ratones susceptibles, un cuadro de inflamación y desmielinización progresiva en la médula espinal que se correlaciona con la persistencia del virus, fundamentalmente en los macrófagos. En esta enfermedad es característico que la destrucción de la mielina no requiere la infección masiva del oligodendrocito.

Se han propuesto 4 mecanismos para explicar la desmielinización del VEMT en el ratón: 1) oligodendrocitos infectados que son eliminados por el virus; 2) destrucción mediada por citocinas liberadas por células inflamatorias antivíricas de tipo CD4+ (Th1); 3) secreción mantenida de IFN-gamma que mantiene una activación persistente de macrófagos y microglía; y 4) citólisis mediada por células CD8+ de oligodendrocitos infectados. De estos mecanismos el más probable parece que es el segundo, ya que los ratones susceptibles generan una vigorosa respuesta antivírica mediante células CD4+ y Ac neutralizantes que, por razones todavía no bien conocidas, es incapaz de eliminar al VEMT del SNC.



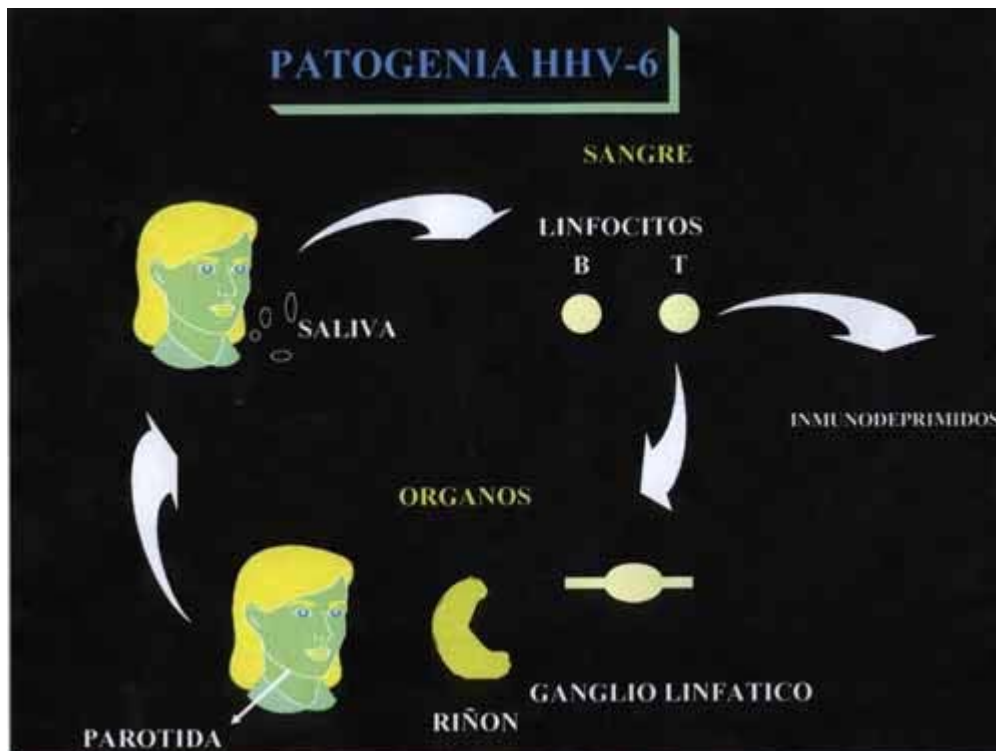


Figura 4. Patogenia del ciclo infeccioso del VHH-6.

## EM Y VIRUS HERPES HUMANO TIPO 6 (VHH-6)

El VHH-6 es un virus que pertenece a la familia de los herpes virus, una familia muy conocida por producir diferentes tipos de enfermedades en humanos y animales, como la varicela, el herpes zoster (denominado coloquialmente como "culebrina"), la encefalitis herpética o la mononucleosis infecciosa. (Figura 3) Se caracterizan por presentar una doble hebra de ADN rodeada de una cápside icosaédrica. Por fuera de la cápside hay un envoltorio con las glicoproteínas características. Tienen un tamaño que oscila entre los 100 y 200 nm de diámetro.

Una característica los virus de esta familia es que pueden producir una infección precoz (en la infancia) con un periodo de largo de latencia (de años de duración) y que se pueden reactivar en relación con situaciones de bajo nivel de actividad del sistema inmune. El ejemplo típico sería la infección infantil denominada varicela que produce una afectación dérmica que se cura, pero queda el virus acantonado de forma latente en los ganglios de las raíces dorsales sensitivas de los nervios, de forma que cuando se reactiva produce una lesión característica localizada del nervio sensitivo y de la piel que este inerva, denominada herpes zoster.

El aislamiento del VHH-6 fue realizado por primera vez en 1986 a partir de la sangre de 6 enfermos con trastornos linfoproliferativos. Existen dos variantes denominadas A y B según la secuenciación del ADN, tropismo celular y patogenicidad. El VHH-6 es capaz de infectar diversos tipos celulares incluyendo linfocitos CD4, células CD8, células NK, oligodendrocitos (células productoras de la mielina del SNC) y microglía (células de defensa del SNC). La patogenia del virus probablemente se relaciona con diversos mecanismos: efecto citopático destructor de la célula infectada, inducción de citocinas (mediadores inflamatorios), efectos inmunosupresores y efectos sobre otros virus (transactivación). Como todos los herpes virus, tras la infección primaria

permanece latente en diferentes tipos de células como epitelio salival, linfocitos CD4, monocitos y células del sistema nervioso. (Figura 4) Las infecciones posteriores son el resultado de reactivaciones, que son muy frecuentes en enfermos inmunodeprimidos, aunque también pueden aparecer en sujetos sanos por mecanismos no claros. La epidemiología de la infección por VHH-6 difiere según la variante: VHH-6B es endémico y se adquiere en la primera infancia (seroconversión entre 6 meses y 2 años), recuperándose fácilmente de la saliva de los niños infectados. Sin embargo, el VHH-6A no se detecta de forma significativa hasta la edad adulta.

La posible relación entre el VHH-6 y la EM apareció por primera vez en Medline el año 1993 cuando el grupo de Luppi, hematólogos pertenecientes a la Universidad italiana de Módena, publicaron un estudio detectando ADN vírico en muestras de saliva y células mononucleares de sangre periférica de dos pacientes con trastornos linfoproliferativos y uno con EM.

Apenas unos meses más tarde, este mismo grupo publicó un trabajo con muestras de suero de 126 enfermos de EM y 500 controles sanos donde se analizó la presencia de Ac frente al virus mediante técnica de inmunofluorescencia. También analizaron la detección de ADN vírico en células mononucleares de sangre periférica mediante técnica de PCR en 31 enfermos y 24 sujetos sanos de este mismo grupo. Los resultados mostraron una tasa de Ac anti VHH-6 significativamente mayor en los pacientes que en los controles y la PCR fue positiva en un enfermo y un control, que tras realización de Southern blot mostró que el paciente de EM tenía un inesperado alto nivel de secuencias víricas con respecto a sujeto sano.

En enero de 1994, un grupo de investigadores alemanes de la Universidad de Berlín comunicó su experiencia con un número variable de diferentes pacientes con distintos tipos de enfermedades neurológicas (21 con esclerosis múltiple, 19 con parálisis facial y 7 con síndrome de Guillain-Barré comparando los resultados con un grupo control de 16 sujetos. Estudiaron muestras simultáneas de suero y LCR mediante técnica de PCR para detectar al VHH-6 completando los análisis con técnica de ELISA para detección de Ac antivíricos. Encontraron que 3/21 pacientes con EM (14%) tenían ADN vírico en LCR pero no en la muestra de suero correspondiente, mientras que las determinaciones de todos los pacientes con parálisis facial o síndrome de Guillain-Barré así como en los controles eran negativas. El estudio de Ac mostró que los títulos séricos frente al VHH-6 estaban significativamente aumentados en los enfermos con EM, frente a las otras dos enfermedades neurológicas o los controles.

En agosto de 1995, se publicó en los prestigiosos Proceedings de la Academia Nacional de Ciencias norteamericana el artículo crucial de Challoner. En este trabajo realizado con material proveniente de 86 cerebros de pacientes con EM y controles pudieron demostrar que un fragmento de 341 nucleótidos idéntico en un 99,4% al gen principal de unión del ADN del VHH-6 estuvo presente en más de 70% de los enfermos y los controles, siendo por tanto un virus habitual del cerebro humano. Mediante secuenciación del ADN establecieron que en 36/37 (97,2%) de casos y controles se detectó VHH-6 variante B tipo 2. Otros virus herpéticos, retrovirus y virus del sarampión apenas fueron detectados. Realizaron además técnicas de inmunohistoquímica con Ac monoclonales contra la proteína del virus 101K y contra la proteína de unión del ADN p41, encontrando que había un tinte selectivo de los núcleos de los oligodendrocitos en los enfermos de EM pero no en los controles, así como una tinción más frecuente en las placas que en sustancia blanca normal. Las neuronas de la sustancia gris adyacentes a placas de los enfermos mostraron una tinción citoplasmática prominente, aunque también se encontró expresión del virus en algunos controles. Por este motivo los autores concluyeron que

podía haber una asociación entre el VHH-6 y la etiopatogenia de la EM.

Sin embargo apenas un año más tarde, Sanders y cols. realizaron un estudio similar, analizando 5 virus de la familia Herpesviridae (herpes simple, varicela zoster, virus Epstein-Barr, citomegalovirus y VHH-6) ya que consideraron que todos ellos son capaces de persistir en estado de latencia dentro del SNC. Para ello investigaron la presencia mediante técnica de PCR de ADN vírico de forma diferencial en placas de desmielinización activas e inactivas, sustancia blanca normal y sustancia gris de cerebros de enfermos fallecidos con EM, enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Parkinson o bien enfermedades no neurológicas. Encontraron que en el 57% de los cerebros de enfermos con EM detectaron ADN del VHH-6 frente al 43% de los controles, así como en el 32% de las placas de desmielinización activas frente al 17% de las placas inactivas. Hallaron también mayor positividad para otros virus herpéticos (herpes simple y VVZ) en EM frente a los controles, pero ninguno de estos datos alcanzó significación estadística, por lo que finalizaron el artículo concluyendo que la posible asociación era incierta.

En diciembre de 1997, un grupo de investigadores pertenecientes a los Institutos Nacionales de Salud de EE.UU. publicaron en la revista Nature los resultados de un estudio serológico, en el que demostraron un incremento significativo de la tasa de Ac séricos de tipo IgM frente al Ag precoz (p41/38) del VHH-6 así como la presencia del genoma vírico en suero mediante técnica de PCR, en 15 de 50 enfermos con EM frente a ninguno de 47 controles con otras enfermedades neurológicas.

La situación se mantuvo en un equilibrio inestable entre partidarios y contrarios a la participación del VHH-6 en la EM hasta el año pasado, cuando han salido a la luz unos importantes trabajos de investigadores norteamericanos que han añadido más interés a la controversia.

Soldan y cols. analizaron la respuesta inmune celular frente al VHH-6 (las cepas 6A -U1102- y 6B -Z29-) y frente a VHH-7 (H7SB) comparando la respuesta linfoproliferativa de 18 pacientes con EM y 21 controles sanos. Encontraron que el 71% y el 31% de los controles tuvieron respuesta proliferativa frente a la variante VHH-6B y VHH-6A respectivamente, mientras que el 67% y el 78% de los enfermos tuvieron respuesta frente a las mismas variantes, resultando significativa la diferencia con respecto a la variante VHH-6A, pero no frente a la variante VHH-6B o el VHH-7.

Estos mismo investigadores comunicaron unos meses más tarde la distribución tisular del VHH-6 en pacientes de EM y controles sanos. Estudiaron la presencia del virus en diferentes tipos de fluidos corporales incluyendo suero, saliva, orina y linfocitos de sangre periférica. Encontraron que hubo un aumento significativo de la frecuencia de DNA en el suero de los pacientes con EM y además detectaron secuencias víricas en la orina de un subgrupo de ellos. Además la variante del virus implicada fue la VHH-6A que ellos consideran que es la específicamente neurotrópica, por lo que concluyeron que puede contribuir al proceso de la enfermedad.

Otro estudio realizado con muestras de tejido del SNC obtenido de autopsias 11 de pacientes con EM demostró que existían células activamente infectadas con VHH-6 en el 73% de los enfermos, localizándose el virus de forma preferente en aquellas zonas con desmielinización activa. En el mismo artículo, los autores comunicaron los resultados de la técnica de cultivo del virus VHH-6 a partir de muestras de sangre de 41 enfermos con EM y 61 controles sanos. Encontraron que el 54% de los pacientes presentaron infección activa por VHH-6 frente a ningún control y que los enfermos con virus detectable en sangre eran

significativamente más jóvenes y con menor tiempo de evolución que el resto.

Por tanto, si se demostrara que el virus está verdaderamente relacionado con la enfermedad, conocer el estado de replicación vírica permitiría: 1) diagnosticar mejor la enfermedad mediante un marcador biológico (que actualmente no se dispone); 2) predecir la evolución de la enfermedad, estableciendo un pronóstico; 3) tratar a los enfermos con antivíricos y monitorizar el efecto de los mismos; y 4) plantear la posibilidad de un tratamiento preventivo mediante la elaboración de una vacuna.

## BIBLIOGRAFÍA

Johnson RT. Viral infections of the nervous system. Lippincott-Raven. Philadelphia 1998.

Stohlman SA, Hinton DR. Viral induced demyelination. Brain Pathol 2001; 11: 92-106.

Johnson RT. The virology of demyelinating diseases. Ann Neurol 1994; 36: S54-S60.

Bradford-Hill AB. The environment and disease: association and causation. Proc R Soc Med 1965; 58: 295-300.

Braun DK, Dominguez G, Pellet PE. Human herpes virus 6. Clin Microb Rev 1997; 10: 521-567.

Viracor. <http://www.viracor.com/hhv6/hhv6.html>. 3-XII-2000.

Luppi M, Marasca R, Barozzi P et al. Three cases of human herpesvirus-6 latent infection: integration of viral genome in peripheral blood mononuclear cell DNA. J Med Virol 1993; 40(1):44-52.

Sola P, Merelli E, Marasca R et al. Human herpesvirus 6 and multiple sclerosis: survey of anti-HHV-6 antibodies by immunofluorescence analysis and of viral sequences by polymerase chain reaction. J Neurol Neurosurg Psychiatry 1993; 56(8):917-9.

Wilborn F, Schmidt CA, Brinkmann V, Jendroska K, Oettle H, Siegert W. A potential role for human herpesvirus type 6 in nervous system disease. J Neuroimmunol 1994; 49(1-2):213-4.

Torelli G, Barozzi P, Marasca R et al. Targeted integration of human herpesvirus 6 in the p arm of chromosome 17 of human peripheral blood mononuclear cells in vivo. J Med Virol 1995; 46(3):178-88.

Challoner PB, Smith KT, Parker JD et al. Plaque-associated expression of human herpesvirus 6 in multiple sclerosis. Proc Natl Acad Sci U S A 1995; 92(16):7440-4.

Soldan SS, Berti R, Salem N et al. Association of human herpes virus 6 (HHV-6) with multiple sclerosis: increased IgM response to HHV-6 early antigen and detection of serum HHV-6 DNA. Nat Med 1997; 3(12):1394-7.

Soldan SS, Leist TP, Juhng KN, McFarland HF, and Jacobson S. Increased lymphoproliferative response to human herpesvirus type 6A variant in multiple sclerosis patients. Ann Neurol. 2000 Mar; 47(3):306-13.

Akhyani N, Berti R, Brennan MB et al. Tissue distribution and variant characterization of human herpesvirus (HHV)-6: increased prevalence of HHV-

6A in patients with multiple sclerosis. J Infect Dis. 2000 Nov; 182(5):1321-5.

Knox KK, Brewer JH, Henry JM, Harrington DJ, and Carrigan DR. Human herpesvirus 6 and multiple sclerosis: systemic active infections in patients with early disease. Clin Infect Dis. 2000 Oct; 31(4):894-903.