

SÍNDROME DE FATIGA CRÓNICA POR VIRUS DE EPSTEIN BARR

¹Manuel Ruiz Pablos, ²Rosario Montero Mateo.

¹Estudiante de Medicina en la Universidad Europea de Madrid. Correo-e: manruipa@gmail.com. Página web: <http://www.foropacientes.com>

²Graduada en Medicina por la Universidad Complutense de Madrid.

RESUMEN

El síndrome de fatiga crónica o encefalomiélitis miálgica (ME/SFC) es una enfermedad actualmente de etiología desconocida, que aparece de forma súbita en una persona previamente activa y cuyo inicio parece estar relacionado con una infección aguda en la mayoría de los casos. Hasta la actualidad, se ha estado estudiando a los enfermos de SFC sin clasificarlos en subgrupos de patógeno. El virus de Epstein Barr (VEB), al igual que otros patógenos, logra generar una inmunodeficiencia funcional adquirida mediante el déficit de expresión de moléculas de clase II del complejo mayor de histocompatibilidad, en individuos genéticamente predispuestos. Aunque algunos patógenos también consiguen disminuir las moléculas de clase I del MHC. Este estudio pretende mostrar cómo a partir del ciclo viral del VEB y su mecanismo de evasión inmunológico, se puede generar SFC y cuáles son las consecuencias metabólicas y fisiológicas que ello conlleva.

INTRODUCCIÓN

El síndrome de fatiga crónica (SFC) es una enfermedad actualmente desconocida a la que se le han atribuido múltiples desencadenantes, pero ninguno de estos está presente en todos los pacientes. Quizás el planteamiento a tener es que no sólo un factor determinante o patógeno puede producir esta enfermedad sino varios y por eso hay que analizar la etiopatogenia de todos y cada uno de los posibles patógenos implicados, así como su manera de eludir el sistema inmune, para entender cómo puede generar los cambios metabólicos y fisiológicos producidos en los pacientes.

El SFC suele comenzar con un proceso infeccioso en una persona generalmente activa que empieza con fiebre, tos, odinofagia, mialgias... es decir, síntomas pseudogripales. A partir de este inicio, se instaura un agotamiento permanente que no mejora con el reposo, empeora con la actividad tanto física como mental que se torna persistente. Cuando se instauran los síntomas crónicos suelen predominar la fatiga, febrícula (en el inicio de la enfermedad) o temperaturas de 35°C cuando la enfermedad está más avanzada, artralgias, mialgias, adenopatías cervicales, síntomas intestinales, aumento de las alergias respiratorias, alteraciones hormonales... etc. Hay que destacar que todos estos síntomas no están presentes en todos los pacientes y que la heterogeneidad de los mismos puede deberse al perfil serológico previo que tuviera la persona y al patógeno inicial, pudiendo generar los diferentes síntomas, como por ejemplo la artritis, en base a reactivaciones previas de virus pasados.¹

Por ello este artículo pretende acercarse a un subgrupo de SFC cuyo origen es una infección por el virus de Epstein Barr y demostrar cómo a partir de su maquinaria viral puede llegar a eludir el sistema inmune e instaurar la enfermedad.

PRIMOINFECCIÓN

La mayoría de las infecciones virales agudas y persistentes comienzan en la periferia, a menudo en las superficies epiteliales o de las células endoteliales. La infección de las células en estos sitios generalmente induce una respuesta antiviral específica de los tejidos que incluye tanto una respuesta celular autónoma (inmunidad intrínseca), como una señalización paracrina de la célula

infectada a las células no infectadas circundantes por citocinas secretadas (inmunidad innata). Esta respuesta inflamatoria local generalmente contiene la infección. Después de varios días, la respuesta inmune adaptativa puede activarse y la infección puede ser eliminada por la acción de anticuerpos específicos a la infección y células T (inmunidad adquirida). Las infecciones virales que escapan al control local en el sitio de la infección primaria pueden propagarse a otros tejidos, donde pueden causar problemas más serios debido a la replicación robusta del virus o a una respuesta inmunológica innata exagerada. Esta última reacción a veces se denomina "tormenta de citoquinas" porque tanto las citoquinas pro-inflamatorias como las antiinflamatorias están elevadas en el suero, lo que lleva a una vigorosa actividad inmune sistémica. Tal respuesta en el cerebro suele ser devastadora y puede conducir a meningitis, encefalitis, meningoencefalitis o muerte.²

El virus de Epstein-Barr (VEB) es el único miembro adaptado al ser humano del género *Lymphocryptovirus*, perteneciente a un linaje de primates del Viejo Mundo con herpesvirus gamma-1 que fue transferido a un antepasado homínido hace aproximadamente doce millones de años, y que ahora es responsable de infecciones humanas casi universales y de por vida. La transmisión viral se produce generalmente a través de la saliva.³

Este herpesvirus está presente en más del 90% de la población humana. No obstante, hay que tener en cuenta que también se ha visto su implicación en múltiples enfermedades tales como artritis reumatoide⁴⁻⁵, esclerosis múltiple⁶, linfoma de Hodgkin⁷, linfoma de Burkitt y otros linfomas no Hodgkin.

En la infancia la primoinfección⁸ tiende a ser asintomática y conduce a una persistencia de la vida del virus a nivel intracelular, pero en adolescentes y adultos puede causar mononucleosis infecciosa, una enfermedad linfoproliferativa generalmente autolimitada.

Durante la fase aguda de la infección 1 de cada 104 células B circulantes están infectadas, ya que este virus afecta predominantemente a estas células. En respuesta a esto, las células T citotóxicas proliferan y eliminan a los linfocitos B infectados. No obstante, el virus tiene unos mecanismos para que algunas células B infectadas con VEB en reposo no presenten el antígeno en su superficie y con ello se pueda evadir la respuesta inmune, de manera que quedan permanentes en el ADN del linfocito B. Estas células muestran diferentes patrones de expresión de genes codificados por VEB:⁹

- Latencia 0 y Latencia I: están en las células B de memoria y se caracterizan por la falta de expresión de cualquiera de los genes virales o la expresión EBNA-1.
- Latencia II: EBNA-1, LMP-1, LMP-2A, 2B se expresa en centroblastos infectados de centros germinales.
- Latencia III: EBNA-1, -2, -3, -4, -5, -6, LMP1, LMP-2A, 2B se expresa en linfoblastos.

Estos mismos programas del ciclo viral latente también se expresan en diversos tumores malignos VEB. La latencia I se encuentra en el linfoma de Burkitt, la latencia II en la enfermedad de Hodgkin, carcinoma nasofaríngeo, linfoma de células T / NK, y la latencia III es característica de mononucleosis infecciosa y los linfomas de células linfoblastoides B que se encuentra en los receptores de trasplantes y pacientes con SIDA.⁹

CICLO VIRAL

Las células B son los principales objetivos de la infección por VEB debido a su expresión de CD21, que es el principal receptor del virus. Sin embargo, el VEB también puede infectar las células T, células endoteliales y células epiteliales a través de distintos procesos incluyendo la transferencia del virus a partir de células B infectadas.

El virus persiste a través de los sistemas de latencia en los linfocitos B de memoria, tanto en los IgD+ CD27+ como IgD-CD27+, pero no en la célula B naïve, de manera que se instaura en un estado de latencia sin expresar genes virales permaneciendo oculto a la vigilancia del sistema inmune.⁹ No obstante, la respuesta inmunitaria del huésped típica es suficiente para mantener el control, no siendo así en los casos de linfoma donde el virus parece haber ganado la batalla contra el sistema inmune. Este es uno de los casos más sencillos de ver cómo la infección de un virus es capaz de generar un tumor, y entender las similitudes existentes a nivel metabólico entre el cáncer y una infección latente que se explicará más adelante.⁹

RESPUESTA INMUNE AL VEB

Las células T CD8 actúan específicamente contra proteínas del ciclo lítico, pero también con proteínas de latencia como EBNA -3A, -3B, -3C, LMP2-A, EBNA-1 y LMP-1. Los estudios de tetrámeros de células mononucleares de sangre periférica (PBMC) revelan que se produce una expansión masiva de más del 50% de células T específicas contra proteínas del ciclo lítico, más abundante que las del ciclo latente.⁹

También se han utilizado tetrámeros de MHC de clase II para visualizar cómo se comportan las células T CD4 + en la infección aguda de VEB y en donantes de sangre sanos. Estos estudios indican que ambas proteínas líticas y latentes están dirigidas por células T CD4 +, mientras que las frecuencias relativamente altas de células T CD4+ pueden ser detectadas durante la mononucleosis infecciosa, la mayor respuesta corresponde a las CD8+.⁹

Aunque las células T se cree que constituyen el principal componente efector de la respuesta inmune al VEB, las NK también tienen un papel fundamental ya que un número elevado de células NK se asocia con cargas virales más bajas en individuos con mononucleosis infecciosa. Hay estudios en ratones inmunodeficientes reconstituidos con células humanas que indican que las células NK son particularmente importantes en el control de la infección lítica por VEB. Las células NK también parecen tener un papel en el control de la infección crónica viral. De manera que los individuos con XMEN (una inmunodeficiencia primaria asociada con defectos en la función de las células NK), exhiben altos niveles de VEB y tienen un mayor riesgo de trastornos linfoproliferativos por VEB.⁹

Además, los varones con enfermedad linfoproliferativa ligada al cromosoma X (XLP) tienen defectos en la proteína asociada a la molécula de activación de los linfocitos (SLAM), que es crucial para la función citotóxica de las células NK y son incapaces de controlar las infecciones por VEB. Mientras que las inmunodeficiencias XLP y XMEN pueden afectar la respuesta de las células T al VEB, otras inmunodeficiencias raras que son específicas de las células NK también están asociadas con el desarrollo de neoplasias malignas por VEB.⁹

VEB Y ESTRATEGIAS DE EVASIÓN INMUNE

Al igual que otros herpesvirus, el VEB utiliza una multitud de estrategias para evadir la detección y eliminación por el sistema inmune del huésped:⁹

1. La función de las células inmunitarias.
2. Las vías de presentación del antígeno.
3. Vías apoptóticas.

1.La función de las células inmunitarias

El VEB infecta a los linfocitos B no divisorios, los activa y los impulsa a proliferar, amplificando así la carga de genomas virales. Una vez activadas, las células B infectadas adquieren propiedades de las células presentadoras de antígenos. Después de la infección, presentan rápidamente epítomos de proteínas estructurales de partículas virales entrantes y expresan transitoriamente genes líticos que son por lo demás característicos del ciclo productivo del VEB.¹⁰

Esta fase prelatente de la infección incluye la expresión de dos genes que codifican las inmunoevasinas virales, BNLF2a y BCRF1, que inhiben el reconocimiento de las células infectadas por las células T efectoras específicas al VEB y las células asesinas naturales (NK), respectivamente.¹⁰

El gen BCRF1 genera un homólogo de IL-10 (vIL-10), que puede suprimir la producción de IFN- γ , IL-2 e IL-6 de las células T CD4⁺ antivirales.⁹

BNLF2a impide la carga peptídica en las moléculas HLA de clase I a través de la interacción con el Transportador asociado con el Procesamiento de Antígeno (TAP). De modo que inhibe el reconocimiento de las células infectadas por las células T efectoras específicas al VEB, en la fase prelatente. Durante la fase de latencia no impide este reconocimiento por las células T.⁹

Sin embargo, estas dos proteínas virales son insuficientes para superar el reconocimiento de células T. Entre 7 y 10 días, el VEB establece una infección latente en las células B infectadas y expresa sólo unos pocos genes virales o ninguno, lo que reduce su riesgo de ser eliminado por el huésped inmunocompetente.¹⁰

Por lo tanto, la infección temprana podría ser el talón de Aquiles del VEB, una ventana en la que la célula infectada expresa y presenta muchos antígenos virales a las células inmunitarias, pero está insuficientemente protegida de la respuesta inmunológica del huésped. Pero gracias a los miARNs del VEB superan esta vulnerabilidad, ya que protegen a los linfocitos B recién infectados de la erradicación inmune por las células T CD4⁺, apoyando el éxito de por vida del VEB.¹⁰

El VEB expresa al menos 44 miARNs, la mayoría de ellos con función desconocida, y dos ARN no codificantes (EBERs). Se ha encontrado que los miARNs codificados por VEB controlan la expresión de varios genes celulares con funciones antiapoptóticas, pero también se ha comprobado que disminuyen la regulación de MICB, CXCL11, y NLRP3. Por lo tanto, interfieren con las respuestas inmunológicas innatas y la inflamación. Curiosamente MICB, un gen que codifica un ligando para el receptor activador NKG2D expresado en las células T y NK, también es blanco de los miARNs del herpesvirus asociado con el sarcoma de Kaposi y del citomegalovirus humano. Estos estudios implican que ciertos miARNs codificados por los herpesvirus se dirigen a las vías involucradas en el reconocimiento inmunológico innato.¹⁰

Los miARNs de VEB actúan suprimiendo, en linfocitos B infectados, la liberación de citoquinas proinflamatorias tales como IL-12, lo que resulta en la supresión de la diferenciación de las células T CD4^{naive} a células Th1. Las células Th1 son importantes efectores antivirales, ya que activan a los macrófagos y a los linfocitos NK para eliminar patógenos intracelulares.¹⁰

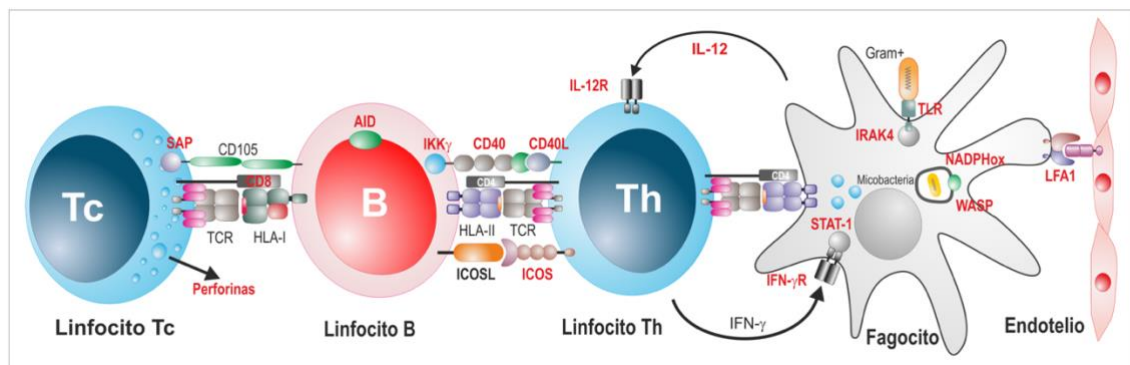


Figura 1: Las mutaciones en las proteínas que se resaltan en rojo impiden la función de ciertos leucocitos.¹²

2. Las vías de presentación del antígeno.

Varios miARNs VEB modulan el reconocimiento inmune de las células B recientemente infectadas (las células diana del VEB preferentemente). Los miARNs virales en células B infectadas controlan la expresión génica de HLA clase II y tres enzimas lisosómicas importantes para la proteólisis y la presentación de epítomos a las células T CD4⁺. Esto les permite interferir con el procesamiento de péptidos y sobre la presentación antigénica HLA de clase II. Como consecuencia de la disminución en la presentación antigénica HLA II, se reduce la activación de las células T efectoras citotóxicas CD4⁺ específicas al VEB y la muerte de las células B infectadas. Estos hallazgos identifican una estrategia viral hasta ahora desconocida de la evasión inmune. Al expresar rápidamente múltiples miARNs, el VEB contrarresta el reconocimiento por las células T CD4⁺ y establece un programa de reducción de la inmunogenicidad de las células B recientemente infectadas, permitiendo que el virus exprese proteínas víricas necesarias para el establecimiento de la infección para toda la vida.¹⁰

Los genes que codifican las enzimas lisosómicas que participan activamente en el procesamiento de péptidos MHC clase II fueron inhibidos por miARNs de VEB. Encontraron que los miR-BART1, miR-BART2 y miR-BHRF1-2 de VEB podían regular directamente la expresión de los genes IFI30, LGMN y CTSB a través de sus 3'-UTRs. Es importante destacar que el deterioro de estos tres genes dio como resultado una reducción en la presentación de antígenos de proteínas cargadas exógenamente. Estos resultados muestran que los miARNs de VEB interfieren con los procesos involucrados en la presentación antigénica MHC clase II a múltiples niveles, incluyendo la degradación de la proteína lisosomal, la expresión de HLA clase II y la expresión de moléculas co-estimulantes.¹⁰

La proteína de membrana latente 1 (LMP1) desempeña un papel central en la transformación, supervivencia y proliferación de células B infectadas con VEB. LMP1 activa la vía CD40 (receptor que participa en la activación de las células B), induciendo importantes co-receptores inmunes. Pero se comprobó que varios miARNs BART virales controlan la expresión de LMP1. Los resultados mostraron que los miARNs virales limitan la expresión del gen LMP1 y, por lo tanto, inhiben indirectamente la expresión superficial de algunos co-receptores inmunes y moléculas de adhesión.¹⁰

También, para evitar la detección de células T CD4 específicas al VEB que se mencionó antes, se encontró que la proteína latente de VEB, LMP2A (latent membrane protein 2A), juega un papel crítico en la regulación negativa de la expresión de moléculas MHC de clase II en las células B infectadas. Funcionalmente, LMP2A imita la señalización BCR activada constitutivamente; sin embargo, la vía PI3K activada por LMP2A media la supresión de MHC clase II y CD74 en células B infectadas por VEB. Estudios previos han revelado que CIITA es un regulador principal de la expresión de moléculas MHC de clase II y CD74. Demostraron que LMP2A mediaba la reducción de los niveles de CIITA mediante la disminución de la expresión de PU.1 y E47. Otros virus también evaden las respuestas de las células T CD4 antivirales a través de la interferencia con la presentación de antígenos MHC de clase II. Por ejemplo, el citomegalovirus humano, el virus parainfluenza humana tipo 3 y el virus de la varicela zóster suprimen la expresión de MHC de clase II inducida por IFN- γ a través de la inhibición de la activación de JAK-STAT y del activador de la ruta de transcripción, lo que resulta en una reducción de la expresión de CIITA.¹¹

Cabe añadir que existe un tipo de inmunodeficiencia, llamada deficiencia de MHC de clase II en las células presentadoras de antígeno, que se asocia con una grave disminución de linfocitos T CD4⁺. Esta ausencia de linfocitos T cooperadores provoca una deficiencia de la respuesta humoral (el defecto de presentación de antígeno al escaso número de linfocitos CD4⁺ causa un defecto en la colaboración entre linfocitos T y B), y celular (por el defecto intrínseco en el número de linfocitos T CD4⁺). Los pacientes sufren infecciones de repetición, particularmente del tracto digestivo. El defecto genético de esta grave inmunodeficiencia se encuentra en varias proteínas reguladoras de la transcripción de los genes HLA de clase II.¹² La diferencia de esta

inmunodeficiencia con respecto a lo que ocurre en los pacientes con infección latente de VEB está en que la primera sería de origen genético afectando a la presentación antigénica HLA II de todas las células presentadoras de antígeno y en la segunda sería adquirida por la infección del patógeno, sólo en células infectadas.

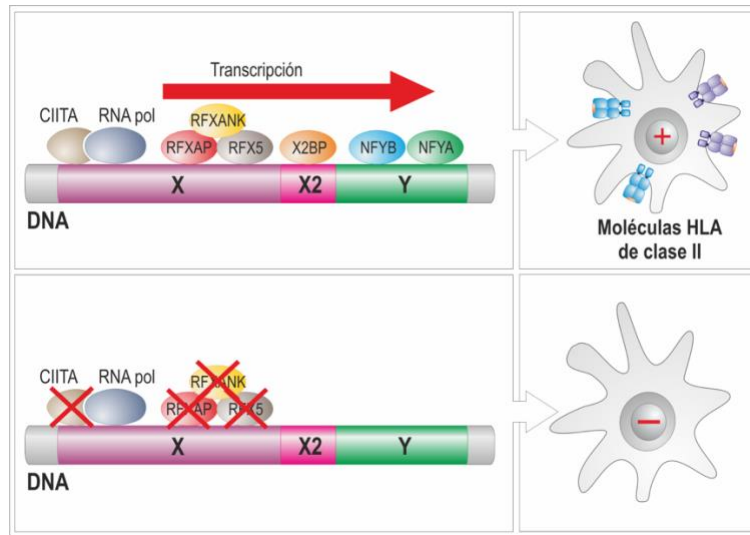


Figura 2: Regulación de los genes HLA de clase II en individuos normales (arriba) y en pacientes con deficiencia de HLA de clase II (abajo). En los pacientes, las mutaciones en CIITA (transactivador de clase II) RFXANK, RFX5 o RFXAP impiden la expresión de la HLA-DR, -DQ, -DP y -DM, además de li(CD74)¹²

Cuando una célula se encuentra infectada por patógenos intracelulares (virus, protozoos o bacterias) se inician los mecanismos de procesamiento y presentación de antígenos en la superficie de la célula infectada. En este proceso los péptidos que se derivan de los antígenos, son presentados por las moléculas del MHC de clase I formando complejos péptido extraño/ MHC I. Los linfocitos Tc (citotóxicos), mediante el reconocimiento específico por el TCR de estos complejos péptido extraño/MHC I, son capaces de distinguir aquellas células que se encuentran infectadas del resto de células vecinas sanas.¹² En el caso del VEB, sus miARNs interfieren con el reconocimiento y la destrucción de las células infectadas con VEB por las células T CD8⁺. Identificaron varios mecanismos para esta inhibición. Primero, los miARNs se dirigen directamente a TAP2, regulan negativamente todo el complejo TAP, y reducen los alotipos HLA de clase I que presentan preferentemente epítopos dependientes de TAP. Segundo, reprimen EBNA1, una proteína expresada en la mayoría de las formas de latencia del VEB y un objetivo de las células T CD8⁺ específicas al VEB. En tercer lugar, los miARNs disminuyen la liberación de IL-12 por las células B infectadas, ya que IL12B es reprimida de forma directa por estos miARNs en las células infectadas. Esta represión de IL12B no sólo puede reducir la diferenciación de células T CD4⁺, también pueden regular las funciones de células T efectoras, disminuyendo la actividad de las células T CD8⁺ específicas al VEB. Por lo tanto, la reducción de IL-12 mediada por miARNs podría conducir a una disminución del reconocimiento en diferentes etapas de la infección.^{10,13}

Esto nos lleva a que el linfocito B no presenta los antígenos por HLA de clase I y, por tanto, elude la respuesta inmune de los linfocitos T CD8, ya que no pueden detectar la infección intracelular. Con esto impide que los linfocitos Tc inicien la liberación de citolisinas, como las perforinas, para lisar las células infectadas.¹³

3. Vías apoptóticas.

El VEB desarrolla también varias tácticas para prevenir la apoptosis de la célula infectada con el fin de aumentar la persistencia viral. Un homólogo bcl-2 funcional codificado por BHRF1 puede inhibir la apoptosis inducida por una gama de estímulos, al menos en parte por unión a la proteína pro-apoptótica Bim. Se demostró que los linfomas de células B infectados por VEB son resistentes a la inducción de la apoptosis a través de las vías mediadas por el receptor de muerte celular, el ligando Fas / Fas y TRAIL / DR. Este proceso depende de la señalización por la proteína de membrana latente 1, LMP1, que desempeña un papel central en la transformación, supervivencia y proliferación de células B infectadas con VEB. La señalización LMP1 en líneas celulares de linfoma B humano induce la expresión de la proteína celular c-FLIP que interfiere con la formación del complejo de señalización inductor de muerte (DISC), requerido para iniciar la activación de la caspasa-8 después de unirse con los receptores de muerte. La inducción de cFLIP por LMP1 es NF-KB dependiente y proporciona un mecanismo al VEB para evitar la apoptosis de la célula huésped.⁹

Otras consideraciones.

Aunque la mayoría de las células que están infectadas corresponde a los linfocitos B, las células epiteliales también pueden albergar inicialmente el VEB incluso las NK. Se ha visto in vitro que el VEB tiene capacidad de infectar las NK mediante la molécula HLA-II sin que esté presente el CD21 en su superficie.¹⁴ Esto predispone a un cuadro clínico mucho más grave, puesto que bloquea la inmunidad innata para la destrucción viral y la capacidad de detectar fallos en la presentación antigénica (disminución de HLA-I) en los linfocitos B, ya que al no haber NK no puede detectarlos y los linfocitos B infectados pueden perpetuar su inmortalidad.

Hay evidencias de que la pérdida del control inmune por parte de las NK predispone a enfermedades asociadas al VEB. Esto se ha podido ver en las inmunodeficiencias primarias que tienen mayor predisposición a los tumores malignos asociados a VEB. La diferenciación de las NK se interrumpe por mutaciones en GATA2 y complejo MCM4. Los pacientes con mutaciones GATA2 se diagnostican con infecciones crónicas activas a VEB (CAEBV) y tumores de músculo liso positivas al virus. Por lo tanto, la alteración de las NK se asocia con una infección por VEB no controlada.¹⁵

Podemos trasladar esto a lo que ocurre en algunos pacientes con SFC por VEB. En aquellos pacientes donde la infección primaria afectara también a las células NK o que tengan una alteración genética en GATA 2 o MCM4, generarán una infección de mayor gravedad que los que solo tienen la infección latente en los linfocitos B. Esta afectación podría verse reflejada en las analíticas por la disminución de las células NK y de los niveles de perforinas junto con cargas virales elevadas de VEB mediante PCR sérica. El VEB en las células NK puede comportarse de diferente manera iniciando el ciclo lítico y no generando latencia. Se ha comprobado en un estudio in vitro¹⁶, donde se pretendía estudiar el comportamiento del VEB en las NK, que mostraban tanto infecciones latentes como líticas en la fase temprana de la infección por VEB en dos líneas de células NK. Sin embargo, las células EBER positivas a VEB latente se comportaron de una forma extraña y entraron en apoptosis después de 72 h de exposición al virus, lo que explica las dificultades para generar clones de NK. Por tanto, el virus haría una replicación completa en las células NK y se expulsaría. Este es el motivo por el que, ante este subgrupo de infección por virus de Epstein Barr que afecta a las NK, se genere una disminución de las mismas y por consecuencia también de los niveles de perforinas. Además, pudieron ser visibles las cargas virales mediante PCR (esto solo se detecta en pacientes más graves), comportándose de manera similar al CAEBV (infección crónica activa por virus de Epstein Barr) de origen genético. De manera que el número de NKs y la cuantificación de su actividad mediante los niveles de perforinas nos puede orientar sobre una mayor gravedad en el SFC por VEB.

BCRF1

Es importante recordar que las células T cooperadoras pueden dividirse en dos tipos, Th1 y Th2, según las citoquinas que producen y su función efectora. La diferenciación a células Th1, que generan IL-2, INF-g y linfoxina, es estimulada por IL-12 y INF-g, mientras que la diferenciación de células Th2, que originan IL-4, IL-5, IL-10 e IL-13, depende de IL-4.

Como se comentó anteriormente, los linfocitos B infectados por VEB generan un homólogo de IL-10 (vIL-10), codificado por el gen BCRF1 del VEB durante la fase prelatente (fase lítica de la replicación viral).⁹ Aunque evidencias recientes indican que se expresa también durante la fase latente.¹⁷

En diversos estudios se ha comprobado que la IL-10, producida principalmente por macrófagos activados, es un inhibidor de los mismos y, por lo tanto, interviene en el control homeostático de las reacciones de la inmunidad innata y celular, como un regulador de retroalimentación negativa. En una infección aguda, los macrófagos responden a los microorganismos liberando citocinas y expresando co-estimuladores que potencian la activación de las células T y la inmunidad celular. Pero la IL-10 actúa sobre los macrófagos activados para terminar estas respuestas y restablecer el estado de reposo del organismo una vez erradicada la infección microbiana.¹⁸ Al igual que los mastocitos, los linfocitos Th2 también pueden secretar IL-10 para inhibir la producción de citoquinas (IL-2 e INF-g) por las células Th1. Por lo que vIL-10 (homólogo de IL-10) podría actuar en múltiples tipos de células e inhibir la síntesis de citoquinas en células T y células NK.¹⁹ Además, recordemos que los miARNs de VEB actúan suprimiendo la liberación de IL-12 en linfocitos B infectados, provocando una inhibición de la diferenciación de las células T CD4 naíve⁺ a células Th1 (esto lleva a un aumento de Th2).^{10,13}

La IL-10 modula la expresión de citocinas, mediadores solubles y moléculas de superficie celular: IL-1a, IL-1b, IL-6, IL-10, IL-12, IL-18, GM-CSF, G-CSF, M-CSF, TNF, LIF y PAF por monocitos activados/macrófagos, así como la producción de quimiocinas (CC y CXC) como IL-8, IP-10, MIP-2, KC (Gro-a) por monocitos activados. Estas quimiocinas están implicadas en el reclutamiento de monocitos, células dendríticas, neutrófilos y células T. De esta manera, la IL-10 impide la expresión de muchas quimiocinas inducibles que intervienen en la inflamación, aumentando la producción del receptor antagonista para la IL-1 (IL-1RA) y los receptores solubles del TNFR p55 y p75; también inhibe la expresión de IL-1RI e IL-1RII en monocitos activados, lo que indica que la IL-10 no sólo desactiva monocitos, sino que induce la creación de moléculas antiinflamatorias. Además de esto, la IL-10 también evita la generación de prostaglandinas E2 (PGE2), con lo que se reduce la expresión de ciclooxigenasa 2 (COX-2) y de antígenos MHC de clase II, CD54 (ICAM-1), CD80 (B7) y CD86 (B7-2) en los monocitos, incluso después de que IL-4 o INF-g hayan inducido su creación; además, impide la producción de IL-12 y la expresión de moléculas co-estimuladoras para varios tipos de células dendríticas.¹⁸

La célula dendrítica presenta los antígenos a través de HLA-II (esto constituye la señal 1) pero además expresa señales co-estimuladoras que lo hacen a través de ligandos CD80, CD86 que interactúa con el CD28 para que el linfocito T se clone exponencialmente. La co-estimulación (es decir la señal 2) no es algo prioritario en las células dendríticas, pero si está ausente, la célula T se niega a responder de manera correcta y a menudo se autodestruirá a través de la muerte celular programada (apoptosis).²⁰ Las células T vírgenes requieren ambas señales 1 y 2 de una CPA (célula presentadoras de antígenos) para convertirse correctamente en activas.

LMP2A disminuye directamente la presentación antigénica HLA-II de las células infectadas y vIL-10 (homólogo de IL-10) disminuye HLA-II de las células presentadoras de antígenos cercanas. Todo esto lleva a una disminución de linfocitos CD4 activados.

Por otro lado, la única manera que quedaría de eliminar a los linfocitos B infectados por el virus de Epstein Barr, al tener inhibida la presentación antigénica HLA-I en los linfocitos B, sería

gracias a las NKs exclusivamente. Y recordar que las células T CD8 jugaban un importante papel para la contención del virus durante la infección primaria.

Recientemente, se detectaron efectos directos de vIL-10 en células NK / NKT aisladas ex vivo, así como en células T CD4+. Las células NK lisan las células B infectadas por VEB preferentemente cuando entran en el ciclo lítico productivo. Aunque demostraron que las células NK también lisan las células B recién infectadas, pero vIL-10 interfería con esta función efectora. La presencia de células T CD4+ apoyó además la lisis mediada por NK, especialmente cuando vIL-10 no se expresó. Este fenómeno es probablemente atribuible a dos observaciones diferentes: (i) las infecciones con virus deficientes en BCRF1 condujeron a niveles más altos de citocinas Th1, lo que sugiere que el aumento de la secreción de citocinas Th1 por parte de las células T CD4+ estimuló la actividad de las células NK, y (ii) los experimentos indicaron un efecto inhibidor directo de la vIL-10, así como de la IL-10, sobre la actividad de las células NK y T-CD4+. ²¹

Es decir, vIL-10 liberado por células B infectadas puede actuar en múltiples tipos de células e inhibir la síntesis de citoquinas en células T (inhibe la producción de IL-2 e IFN- γ por las células Th1) y células NK. Esto permite anular las funciones antivirales de las células T CD4+ efectoras y disminuir la muerte mediada por las células NK de las células B infectadas. Además, es un potente inhibidor de la presentación antigénica, ya que reduce la expresión de MHC II y de las moléculas accesorias de co-estimulación CD80 y CD86 en células dendríticas.

Los estudios de lupus eritematoso sistémico (LES) por infección del virus de Epstein Barr mostraron una disminución del IL-12, IFN gamma y como resultado también una disminución de IL17 y IL6 por la proteína EBNA1 presente en la célula latente. Tanto IFN gamma como IL12 son factores importantes para la diferenciación de Th1 y cruciales para la correcta actividad de CD8 y NK. La IL12 estimula la producción de IFN gamma tanto en CD8 como en las NK además de activar a los macrófagos. Por tanto, se ha demostrado que en LES existe una disfunción de la respuesta Th1 y por consiguiente de la actividad de los linfocitos T CD8 y NK contra la infección latente del virus de Epstein Barr. ²²

Aun así, el sistema inmune tiene una serie de mecanismos para detectar estos fallos e impedir que el virus lo eluda, este equilibrio es el que juega entre la generación de un cáncer o la perpetuidad de una infección latente con las consecuencias metabólicas que ello conlleva. Las células NK+ son capaces de detectar un descenso de HLA-I en las células B y se activan aumentando los niveles de perforinas (estos aumentos pueden ser visibles en pacientes de síndrome de fatiga crónica) en caso de no haber infectado a las NK, de lo contrario se visualizaría una reducción de los niveles de perforinas y un descenso en el número de células NK, como se explicó anteriormente.

Se conoce que el VEB influye en la regulación de T-bet/GATA 3 (Th1/Th2) en células T ²³ regulando de forma positiva la expresión de GATA 3 in vitro. Por otra parte, el gen mir-BART20-5p ²⁴ que utiliza el VEB para perpetuar la latencia, ya que inhibe la generación del ciclo lítico, inhibe también la traducción T-bet bloqueando así la diferenciación hacia Th1. Por tanto, a partir de una infección del virus de Epstein Barr se puede generar un aumento de la respuesta Th2 con disminución de la Th1 (los miARNs disminuyen también la diferenciación de las células T CD4 naíves a Th1). En los pacientes de síndrome de fatiga crónica se puede observar este aumento de la actividad de Th2. ^{25,26} Esto se puede medir directamente a partir de las citoquinas o medirse de forma indirecta, como por ejemplo la elevación de la proteína catiónica eosinofílica ²⁷ que pudiera formar parte de los marcadores de esta enfermedad. Toda esta respuesta Th2 alterada es la que genera el aumento de las alergias tanto a nivel respiratorio como a nivel intestinal que están presentes en estos pacientes y que es común que hayan desarrollado a raíz del proceso inicial. Se trata de una respuesta no mediada por IgE, sino por una hipersensibilidad tipo IV mediada por linfocitos T que se relacionaría con las diarreas, las múltiples intolerancias alimentarias de

reciente aparición, la ruptura de la barrera intestinal y la translocación bacteriana existente en estos tipos de pacientes, evaluables mediante una elevación de sCD14.

Esta elevación de sCD14 se recomendaría constituir también como uno de los marcadores para comprobar la afectación de la barrera intestinal en aquellos subtipos que presentan síntomas diarreicos. También se ha observado un aumento de los niveles de 5-HIAA²⁸ (producto metabólico de la serotonina) y de histamina²⁹, que evidencian de nuevo una actividad Th2 excesiva.

VEB PUEDE LLEGAR A INFECTAR EL SNC

Algunos virus adaptados al ser humano tienen acceso al Sistema Nervioso Central (SNC), como resultado de la disminución de las defensas del huésped que no logran limitar las infecciones periféricas (por ejemplo, el virus de Epstein-Barr, el citomegalovirus humano y el virus JC o virus John Cunningham). Sorprendentemente, muchos herpesvirus alfa entran eficientemente en el sistema nervioso periférico (SNP) de sus huéspedes y establecen una infección quiescente con poca o ninguna patogénesis del SNC. Su infección periférica inicial estimula una respuesta inmunitaria intrínseca e innata bien controlada, así como una respuesta inmunológica adaptativa de larga duración. Los genomas del herpesvirus alfa permanecen en reposo en las neuronas SNP durante la vida de sus huéspedes, reactivándose sólo ocasionalmente para producir viriones que pueden reinfectar los tejidos periféricos y propagarse a otros huéspedes. Quizás la naturaleza pro-supervivencia resistente a la citólisis de las neuronas maduras facilita el establecimiento de tales infecciones persistentes y reactivables.³⁰

El SNP es relativamente más accesible a las infecciones periféricas porque los nervios están en contacto directo con tejidos de todo tipo, pero el propio SNC tiene varias capas de protección. La propagación de la infección de la sangre al líquido cefalorraquídeo y a las células del sistema nervioso central está limitada por la barrera hematoencefálica (BHE). La BHE está compuesta principalmente por células endoteliales, pericitos, astrocitos y la membrana basal. Los pericitos proyectan procesos similares a los dedos para rodear la pared capilar y coordinar las funciones neurovasculares de la BHE. Los astrocitos en forma de estrella (es decir, astroglia) son el tipo de célula glial más importante en el SNC. Las proyecciones de los pies finales del astrocito llegan al capilar, regulando la homeostasis de la BHE y flujo sanguíneo. Las células endoteliales microvasculares de cerebro humano (HBMEC), que recubren la vasculatura del SNC, están conectadas por uniones estrechas que no se encuentran en los capilares de otros tejidos. Estas uniones restringen la salida de bacterias, partículas de virus y grandes moléculas proteicas del lumen del vaso sanguíneo, permitiendo el transporte de metabolitos, proteínas hidrofóbicas pequeñas y gases disueltos dentro y fuera del SNC. La membrana basal, una espesa matriz extracelular, también rodea estos capilares limitando aún más el movimiento de los patógenos. Los macrófagos perivascuales (es decir, microglia), que residen entre las células endoteliales y gliales, proporcionan además una vigilancia inmunológica en el tejido del SNC. Las infecciones virales que salen de la periferia y encuentran su camino en el SNP o el SNC lo hacen ya sea por infección directa de las terminaciones nerviosas en los tejidos, o infectando las células del sistema circulatorio que finalmente llevan la infección a través de la BHE al SNC.³⁰

Hay varias vías por las que los virus pueden acceder al sistema nervioso central, pero nos centraremos en la infección del endotelio microvascular cerebral de la BHE.

En algunos casos, las partículas del virus en el sistema circulatorio pueden alcanzar e infectar a las HBMEC, uno de los principales componentes de la BHE. Virus de ARN como el virus del Nilo Occidental (VNO), el virus de la hepatitis C (VHC), el HTLV-1 y los virus de ADN como el JCV, el virus de Epstein-Barr (VEB), el citomegalovirus humano (HCMV) y el adenovirus de ratón 1 (MAV-1) pueden infectar a las HBMEC. La infección de estas células a menudo conduce a la alteración de la integridad de la BHE, que está acompañada por la migración incontrolada de las células inmunitarias en el parénquima cerebral. La inflamación en el tejido cerebral inducida por la actividad de estas células suele ser la causa de los trastornos neurológicos observados.³⁰

El VNO puede acceder al SNC infectando las terminaciones nerviosas sensoriales, las neuronas olfativas o a través de la circulación sanguínea, pero no a través de las uniones neuromusculares (NMJ). Una característica distintiva de la neuropatogénesis del VNO es la alteración de la BHE que provoca la entrada incontrolada de células inmunitarias en el cerebro. La infección no sólo estimula la pérdida de proteínas de uniones estrechas en las células epiteliales y endoteliales, sino que también induce la producción de metaloproteinasas matriciales que degradan la membrana basal. Como resultado, los leucocitos atraviesan los capilares hacia el tejido circundante y liberan citocinas al reconocer el ARN de doble cadena del VNO (dsARN) a través de la señalización del receptor tipo toll 3 (TLR3) y del factor de necrosis tumoral alfa (TNF-alfa). Las infecciones por VIH, HTLV-1 y MAV-1 también pueden alterar la BHE al afectar las proteínas de uniones estrechas.³⁰

Otro flavivirus VHC, que infecta principalmente a los hepatocitos, también se ha asociado con anomalías del SNC como disfunción cognitiva, fatiga y depresión. Las HBMEC son el único tipo de célula en el cerebro que expresa los cuatro receptores requeridos para la entrada del VHC (receptor de vector BI, CD81, claudin-1 y ocludina). La infección por el VHC in vitro, sugiere que pueden ser el reservorio del VHC en el SNC. La infección por VHC en el SNC también se asocia con una mayor expresión de citoquinas proinflamatorias (IL-1, TNF-alfa, IL-12 e IL18), colina, creatina e inositol, todas las cuales desencadenan la activación de microglia y astrocitos, lo que lleva a trastornos neurológicos pronunciados.³⁰

Los virus de ADN humanos prevalentes, que establecen infecciones persistentes y bien controladas de por vida en otros tejidos, también pueden dañar el SNC al infectar las HBMEC en condiciones inmunosupresoras. Entre estos agentes patógenos se encuentran el herpesvirus beta CMV (citomegalovirus), el herpesvirus gamma VEB y el poliomavirus, virus John Cunningham o virus JC (VJC). El CMV establece latencia de por vida, predominantemente en las células del linaje mieloide. Si la infección primaria ocurre durante el embarazo, la transmisión al feto, que aún no es inmune, puede resultar en una variedad de anomalías mortales del SNC, como el retraso mental y la pérdida de audición. Además de HBMEC, astrocitos, pericitos, neuronas, células microgliales, y lo que es más importante, todas las células madre neuronales pueden ser infectadas con CMV. Los astrocitos y las células microgliales producen naturalmente grandes cantidades de citoquinas inflamatorias en respuesta a la infección por CMV y esta respuesta puede promover las enfermedades del neurodesarrollo fetal.³⁰

El VEB establece una latencia de por vida en las células B de memoria. La infección VEB en adultos jóvenes causa mononucleosis infecciosa. Horwitz y su equipo demostraron que el VEB puede infectar las HBMEC humanas, donde se vuelve latente. La reactivación del virus en estas células aumenta la expresión de citoquinas y quimioquinas inflamatorias que afectan la integridad de la BHE local, lo que podría llevar a la progresión de la enfermedad neurológica inflamatoria, la esclerosis múltiple (EM). En los modelos de ratones TCR transgénicos, la EM sólo se activa cuando la barrera hematoencefálica (BHE) está comprometida. La presencia de linfocitos específicos de mielina autoreactivos no es suficiente para causar EM ya que tales células han sido aisladas de individuos sanos. En los pacientes con EM, las formaciones de lesiones y placas se asocian con una alteración de la (BHE). Por lo tanto, el aumento de la permeabilidad al (BHE), junto con la activación de las células T autoreactivas, es un requisito para el desarrollo de la EM. Sin embargo, no está claro cómo se inician los cambios en la BHE antes de la entrada inicial de las células inmunitarias en el cerebro.³⁰

Se planteó la hipótesis de que la infección VEB de un subconjunto de células endoteliales cerebrales aumentaría el potencial de ruptura inflamatoria de la barrera hematoencefálica (BHE), particularmente después de la reactivación del virus latente. El trabajo previo ha establecido que el VEB puede infectar células endoteliales macrovasculares tanto en tejidos humanos como en cultivo con células endoteliales de la vena umbilical humana (HUVECs). Sin embargo, la BHE está compuesta por células endoteliales microvasculares que difieren significativamente de las

células endoteliales macroscópicas, como los HUVECs, en una serie de características estéticas, sobre todo en términos de susceptibilidad a la infección viral por Herpesviridae.³⁰

Las células endoteliales microvasculares de cerebro humano (HBMEC) aisladas de tres donantes diferentes, se infectaron con éxito con VEB en condiciones de cultivo de laboratorio estándar. El genoma viral fue detectado por PCR estándar en las HBMEC infectadas y estaba ausente de las HBMEC infectadas de forma simulada, lo que indica que las células endoteliales de los donantes eran VEB negativas.³⁰

La latencia y la expresión inmediata de genes tempranos se detectaron en experimentos separados con células derivadas de dos donantes diferentes, demostrando así la replicación viral y el empalme de genes VEB. La expresión de BZLF-1 y EBNA-1, ambos implicados en la transacción de la transcripción de otros genes virales, fueron detectados post infección en las HBMEC de un donante; mientras que LMP2B y EBNA-1 fueron encontrados para ser expresados post infección en las HBMEC de un segundo donante.³⁰

BZLF-1 es un gen inicial inmediato responsable de la transición de la latencia a la reactivación del ciclo lítico.

EBNA-1 es un gen de latencia responsable del mantenimiento del genoma viral durante la replicación de células huésped.

El LMP-2B es un gen de latencia que promueve la motilidad y diseminación de las células epiteliales, mientras que su función en las células B infectadas con VEB es poco conocida.

Aunque estos patrones son diferentes de los observados en las células B infectadas, son similares a los que se encuentran en las células epiteliales infectadas con VEB. De hecho, se ha demostrado que las células epiteliales primarias in vitro expresan EBNA-1, LMPs y BZLF-1 en el 5º día post infección con niveles similares de variabilidad a nivel de célula única y con cultivos primarios de diferentes donantes. Este fue el primer informe que demostraba el éxito de la infección VEB y la expresión génica en las HBMEC.³⁰

Seguidamente se investigó si la infección VEB de las HBMEC podría llevar a la activación y el aumento de la producción de moléculas proinflamatorias. Las HBMEC no infectadas expresaron niveles basales de CCL-2 (MCP-1) e IL-8 consistentes con informes anteriores. Se observó un aumento de la producción de CCL-5 a las 24 y 48 h después de la infección en los sobrenadantes de cultivo. Además, la expresión superficial de la molécula de adhesión, ICAM-1, se incrementó significativamente en 48 h post infección, mientras que la expresión VCAM-1 fue muy baja en las HBMEC infectadas con VEB o inocuos. Es importante destacar que tanto el ICAM-1 como el CCL-5 están involucrados en la adhesión firme de los leucocitos al endotelio. Para determinar si la regulación ascendente observada mediada por VEB de ICAM-1 y CCL-5 fue suficiente para aumentar la adhesión de las células mononucleares de sangre periférica (PBMCs), realizaron ensayos de adhesión de las PBMC. Mientras que sólo unos pocos PBMCs se adhirieron a las HBMEC naïves, un número significativamente mayor de PBMCs se adhirieron a las HBMEC infectadas por VEB. Como control positivo, las HBMEC tratadas con TNF- α durante 24 horas mostraron niveles significativos de adhesión PBMC.³⁰

El sobrenadante utilizado para la infección se obtuvo a partir de una línea celular de células B (B95.8) transformada por VEB. Para descartar la posibilidad de que las citocinas producidas por las células B95.8 estén contribuyendo a los cambios observados en las HBMEC, el sobrenadante B95.8 fue probado para detectar la presencia de mediadores pro-inflamatorios utilizando un kit humano con reactividad cruzada con primates no humanos. El sobrenadante B95.8 fue positivo para IL-10 pero negativo para IL-6, IL-1, TNF- α y CCL-5. En resumen, la infección VEB regula las moléculas inflamatorias en las HBMEC.³⁰

Curiosamente, tanto el CCL-5 como el ICAM-1 se han asociado con la EM. Los polimorfismos en el CCL-5 y su receptor, el CCR5, modifican el curso y el resultado de la EM. El alelo CCL-5

de baja producción está asociado con un riesgo reducido de pérdida axonal; mientras que el alelo CCL-5 de alta producción está asociado con una enfermedad clínica más grave. La expresión del CCL5 está regulada al alza en las células de la BHE antes de que aparezcan signos clínicos. Las HBMEC derivados de la EM expresan niveles más altos de ICAM-1 y los leucocitos circulantes de pacientes con EM expresan niveles más altos de LFA-1, el ligando de ICAM-1.³⁰

Por lo tanto, la capacidad del VEB para regular mejor el CCL-5 y el ICAM-1 en las HBMEC de manera similar a lo que se observa en los pacientes con BHE de EM, podría describir en parte el mecanismo de la patogénesis de la EM.³⁰

Aquí se demostró que la infección de las HBMEC por el VEB conduce a la activación de las células endoteliales y a la adhesión a PBMC. Propusieron que la reactivación de la infección de VEB latente en las células endoteliales cerebrales podría regular las citocinas, quimiocinas y moléculas de adhesión que inducirían una ruptura local en la BHE y atraerían linfocitos autoreactivos al cerebro. En un individuo con un mayor nivel de células T periféricas autoreactivas, esto podría llevar a una entrada inicial localizada de células inmunitarias y el desarrollo de lesiones del SNC. De esta manera, el VEB sólo necesitaría infectar a una pequeña población de HBMEC y la reactivación requerida dentro de una minoría de estas células. Este modelo propuesto serviría para explicar la detección inconsistente de la infección VEB en los cerebros de EM.³⁰

Este mecanismo explica además importantes características de la EM, entre las que se incluyen: la falta de virus detectables en las placas de la EM; la infiltración de macrófagos y linfocitos específicos tanto virales como de mielina; la presencia de anticuerpos oligoclonales en el líquido cefalorraquídeo y el éxito de tratamientos antivirales como el interferón- β para prevenir las recaídas de la EM.³⁰

Pero esto no tendría por qué solo ocurrir en la EM, sino también podría darse en otras enfermedades asociadas al VEB donde no hay presencia de linfocitos T autorreactivos contra la mielina. La infección de HBMEC por el VEB conduce a la ruptura de las moléculas de adhesión o uniones estrechas de la BHE, logrando el paso de leucocitos (entre ellos linfocitos B infectados por VEB) a través de los capilares hacia el tejido circundante. Las células B con infección latente por VEB logran liberar EBERs (dos ARN no codificantes). Donde la liberación de EBER1 induce la activación de la señalización TLR3 dando como resultado un aumento de citoquinas proinflamatorias, generando inflamación en el tejido.³¹

PREDISPOSICIÓN GENÉTICA Y AUTOINMUNIDAD

La tolerancia a lo propio es un proceso que se adquiere durante el desarrollo de los linfocitos T y B en los órganos linfoides primarios (tolerancia central) y en la periferia (tolerancia periférica), por eliminación o inactivación de los clones celulares potencialmente autorreactivos.¹²

Debido a la dependencia de los linfocitos B y Tc (citotóxicos) respecto a los Th (colaboradores), se considera que la mayor parte de las respuestas autoinmunitarias comienzan por la activación de los linfocitos Th autorreactivos. No se conoce todavía la causa o causas concretas que activan a los linfocitos T autorreactivos y desencadenan la autoinmunidad, pero todos los datos que se conocen sugieren que están desencadenadas por la acción de un factor ambiental que actúa en un individuo genéticamente predispuesto. Se ha sugerido que las infecciones pueden ser el factor ambiental desencadenante más importante. Las infecciones no producen una rotura de la tolerancia central, pero se ha sugerido diversos mecanismos por los que pueden romper la tolerancia periférica.¹²

-La similitud estructural entre los antígenos microbianos y autoantígenos (mimetismo molecular), pueden dar lugar a reacciones cruzadas que dañen los antígenos propios. En este caso, los

anticuerpos o linfocitos T reconocen, además de los antígenos del agente infeccioso, otros propios del organismo de similar estructura

-Los linfocitos B capaces de reconocer el antígeno propio interaccionan con él cuando éste se encuentra asociado a la bacteria que actúa como “portadora”, y pueden recibir, entonces, ayuda de los linfocitos Th.

-También se ha sugerido que la activación policlonal por superantígenos microbianos de gran cantidad de linfocitos T o B (algunos de ellos autorreactivos) puede ser un mecanismo de pérdida de tolerancia.

-También pueden liberar autoantígenos secuestrados en sitios inmunológicamente privilegiados mediante un traumatismo o una infección. Por ejemplo, el daño de la barrera hematoencefálica puede poner en contacto a los autoantígenos del sistema nervioso central con los linfocitos, disparando la autoinmunidad.

-Pueden inducir la activación inespecífica de los linfocitos T autorreactivos mediante citocinas (efecto espectador) o la expresión de moléculas MHC de clase II y/o señales coestimuladores en la célula presentadora de antígeno, que ahora activará específicamente a linfocitos T autorreactivos a los que antes no podía activar.

En el desarrollo de muchas, si no en todas, de las patologías autoinmunitarias existe, además de un componente ambiental (como las infecciones), un importante componente genético. Sin embargo, estas enfermedades no se transmiten como enfermedades monogénicas clásicas. La mayoría de las enfermedades autoinmunitarias son poligénicas, es decir existe numerosos genes (en realidad cierto polimorfismos de estos genes) de susceptibilidad que actúan conjuntamente para producir una enfermedad determinada. Con frecuencia estos genes presentan interacciones complejas, con penetración baja e incompleta y patrones de herencia no mendeliana. Además, algunos polimorfismos pueden tener un papel protector de la enfermedad. Estas variantes alélicas son normales en la población y por sí mismos no determinan si un individuo desarrollará o no la enfermedad (sólo incrementan o disminuyen el riesgo de padecerlas); solo cuando actúan conjuntamente y además existe un factor ambiental (probablemente infeccioso) se desarrollará la enfermedad. Existe, por lo tanto, una gran heterogeneidad genética entre los pacientes que desarrollan una enfermedad autoinmunitaria, lo que se manifiesta como una gran variabilidad fenotípica entre los diferentes pacientes que sufre una misma enfermedad.¹²

Los genes que están más fuertemente asociados a la mayoría de las enfermedades autoinmunitarias son las de ciertas moléculas HLA, principalmente de clase II, aunque también existen asociaciones con clase I. Esta idea no es nada descabellada, puesto que no todas las moléculas de HLA van a tener la misma capacidad para presentar péptidos derivados de autoantígenos a los linfocitos T, ni van a ser igual de eficaces en el desarrollo de una respuesta autoinmunitaria. Además de las moléculas HLA, otros factores genéticos, algunos no relacionados directamente con el sistema inmunitario, como por ejemplo el sexo (suelen ser más frecuentes en hembras que en los varones), son importantes en el desarrollo de las enfermedades autoinmunitarias.¹²

Predisposición genética a desarrollar enfermedades asociadas al VEB.

Prácticamente en todas las especies de vertebrados las moléculas del MHC presentan un elevado polimorfismo. Este polimorfismo refleja una estrategia del sistema inmunitario para evitar la evasión de los patógenos del sistema inmunitario. Al poseer moléculas del MHC diferentes, los individuos se enfrentan a los microbios de una manera diferente, habiendo en una determinada población individuos más susceptibles y más resistentes a una determinada enfermedad. La repetida exposición a determinados agentes patógenos a lo largo de la evolución puede seleccionar aquellos individuos que expresen alelos de MHC más adecuados para responder a la infección. Así por ejemplo el alelo HLA-B53 está asociado con la resistencia a una forma letal de

la malaria. Este alelo es muy frecuente en individuos de África donde abunda la malaria, pero no es frecuente en los lugares donde la malaria no es endémica.¹²

Paradójicamente, el VEB se ha adaptado al uso de moléculas MHC clase II como co-receptores de entrada a través de su interacción con gp42. Esta interacción es esencial para la infección del VEB. Aunque la unión del gp42 al HLA involucra sólo a la cadena β fuera de la ranura peptídica del heterodímero $\alpha\beta$, la unión del gp42 también interfiere con la interacción del HLA-DR con el receptor de células T, inhibe la generación de células T citotóxicas e impide la presentación del antígeno. Por lo tanto, gp42 puede haber desarrollado múltiples funciones que inhiban la respuesta inmune celular al virus.³²

La infección primaria con VEB se demostró hace muchos años como la principal causa de la mononucleosis infecciosa (MI). Los síntomas de la MI son causados por la respuesta inmune a la infección. Aunque el VEB infecta principalmente las células B y puede causar su proliferación, el número excesivo de linfocitos observados, que son responsables de la mononucleosis, son en su mayoría células T. La especificidad de estas células T se dirige en gran medida a las proteínas del VEB producidas en las células B infectadas. Las citoquinas producidas durante la respuesta inmune caótica que ocurre en la MI producen la fiebre característica, el malestar y otros síntomas inflamatorios. La enfermedad disminuye a medida que la respuesta inmunitaria se ajusta, hasta llegar a ser más parecida a la de una persona infectada asintóticamente. El VEB persiste durante toda la vida en el huésped gracias a que expresa una serie de proteínas que consiguen inhibir la presentación antigénica HLA-II y HLA-I para impedir el reconocimiento por parte del sistema inmunitario. Sin embargo, alrededor del 30% de los adultos desarrollan MI después de la infección por VEB, mientras que la mayoría seroconvierten sin síntomas notables. Lo que nos lleva a pensar en la existencia de una predisposición genética a desarrollar MI y otras enfermedades asociadas a este virus.³³

Los datos presentados por McAulay et al. muestran claramente una tendencia a relacionar ciertos alelos HLA con la MI e indican que la variación genética en las respuestas de las células T influye en el resultado de la infección primaria por VEB y el nivel de persistencia viral. Dado que la clase I de HLA determina la eficacia de la presentación de los péptidos virales a las células T, es fácil prever cómo esta variación genética podría afectar a la respuesta inmune contra la infección por VEB. Una respuesta subóptima de las células T al virus durante la MI podría resultar en un nivel más alto de persistencia viral en las células B, aumentando así la posibilidad de infección por VEB de estas células y la supervivencia subsiguiente de células B anormales que tienen potencial maligno. El hecho de que los mismos alelos HLA de clase I (marcadores HLA de clase I D6S510 y D6S265) que influyen en la frecuencia de la MI también se hayan relacionado con el linfoma de Hodgkin (HL) asociado al VEB, sugiere una base genética para el aumento del riesgo de HL VEB-positivo en aquellos individuos que han sufrido de MI.³⁴

Una de las enfermedades autoinmunes que se relacionan con el VEB es la esclerosis múltiple (EM), una enfermedad desmielinizante e inflamatoria del sistema nervioso central que a menudo conduce a la neurodegeneración y a la discapacidad a largo plazo a pesar de las actuales estrategias de tratamiento. Está claro que el componente principal del riesgo genético está asociado con el locus HLA-DR pero sobre todo con el haplotipo DR15/DQ6^{35,36} (subtipos de DR2/DQ1). Varias líneas de evidencia relacionan la inmunidad específica contra el VEB con el riesgo de desarrollar esclerosis múltiple. Tanto las respuestas serológicas como las de las células T CD4 dirigidas contra EBNA-1 se han asociado con la esclerosis múltiple. Se cree que los linfocitos T autorreactivos podrían surgir como resultado de la reactividad cruzada con las respuestas inmunitarias específicas contra EBNA-1. Varios grupos han demostrado una mayor seroprevalencia del VEB en pacientes con EM en comparación con los controles y se ha demostrado además que la infección tardía (etapa adulta) por el VEB, en particular si se manifiesta como mononucleosis infecciosa, aumenta el riesgo de EM de una persona.³

Los títulos de anticuerpos IgG anti-EBNA-1 son otro factor de riesgo para la esclerosis múltiple (EM), independientemente del alelo DR15. Los portadores del alelo DR15 con títulos elevados de anticuerpos anti-EBNA-1 pueden tener un riesgo notablemente mayor de desarrollar esclerosis múltiple.³⁷

Otras observaciones incluyen que las bandas oligoclonales del líquido cefalorraquídeo que son un sello distintivo de la EM pueden dirigirse específicamente a EBNA-1 y otro grupo ha identificado adicionalmente la presencia de células B infectadas por VEB dentro de las lesiones de EM de la materia blanca en todas las etapas de la enfermedad, aunque este resultado no se ha replicado en otros estudios.³

Un estudio reciente también ha explorado el uso de la inmunoterapia adoptiva específica al virus Epstein-Barr para la esclerosis múltiple progresiva, con resultados preliminares prometedores. Estos efectos pueden explicarse por la muerte de células B infectadas por VEB en el SNC por las células T CD8⁺ transferidas adoptivamente.³⁸

En resumen, aquellos pacientes con genes de moléculas MHC de clase I y II susceptibles de desarrollar enfermedades asociadas al VEB, tendrán dificultades a la hora de combatir la infección por este virus. Como la mayoría de estas enfermedades tienen numerosos polimorfismos de estos genes de susceptibilidad, existe una gran heterogeneidad genética entre los pacientes que desarrollan una de estas enfermedades, lo que se manifiesta como una gran variabilidad fenotípica entre los diferentes pacientes que sufren una misma enfermedad.

EFEECTO WARBURG

El síntoma predominante en fatiga crónica es el cansancio extremo prolongado o intermitente presente en estos pacientes. En este cansancio extremo participa el efecto Warburg que hace referencia al hecho de que las células infectadas por virus producen energía, principalmente en el citosol, por un proceso de glucólisis anaeróbica aún en condiciones adecuadas de oxígeno.

La expresión de un oncogén de VEB (expresado durante muchas formas de latencia) LMP-1, induciría la expresión de HK2 (hexoquinasa 2). La hexoquinasa 2 es una enzima limitante de la velocidad de la glucólisis que, gracias a su activación, llevaría a un aumento de la misma y por tanto producción de lactato. Además, es capaz de aumentar la supervivencia de la célula inhibiendo la apoptosis mediante su unión a la membrana externa mitocondrial, interactuando con el canal iónico dependiente de voltaje (VDAC) para bloquear la liberación del citocromo C y por tanto la apoptosis dependiente de la caspasa 9.³⁹

Sin embargo, la utilización de la glucólisis como la principal vía metabólica para la glucosa, requiere un aumento de la captación de glucosa extracelular (aumento de la expresión en la superficie de GLUT1)^{40,41} para que coincida con la mayor tasa metabólica. Para impulsar la captación de glucosa, en estudios recientes referentes al comportamiento de células cancerosas, se ha constatado la aparición de un mecanismo por el cual estas células pueden aumentar el consumo de ATP llevando, por tanto, a un descenso de las reservas de ATP como consecuencia. Durante este proceso la glucosa se incorpora en vías de biosíntesis (rutas de biosíntesis de lípidos y glicosilación de proteínas) y no se destina para la producción de ATP. Tanto en el cáncer como en las células con infección latente, existe un metabolismo que no está adaptado para soportar la producción de ATP, sino para su consumo. Es de destacar que uno de los síntomas que tradicionalmente se ha asociado con un proceso tumoral es el síndrome constitucional, por lo que la sensación de falta de energía es un síntoma común en ambas patologías.

Para alterar el metabolismo de la glucosa la célula necesita la vía de señalización de la fosfoinositol 3-quinasa (PI3K), que se activa en muchos tipos de cáncer y que se ha visto que también en células con infección latente por VEB, tanto LMP1 como LMP2A pueden activar la PI3K^{42,43}. Entre sus funciones está la regulación del crecimiento celular y la supervivencia. La

AKT serina / treonina quinasa, importante efector de PI3K, promueve la captación de glucosa y aumenta la actividad de las enzimas glicolíticas.

El mecanismo más importante provocado por la señalización de AKT es el aumento del efecto Warburg. La activación de Akt promueve la glicosilación de proteínas en el retículo endoplasmático, lo que eleva el consumo de ATP y desinhibe una enzima limitante de la velocidad en la glucólisis, que tendría que estar inhibida por una proporción elevada del cociente ATP/AMP y de esta forma no lo está, aumentando de manera anómala el proceso de glucolisis. Este aumento exagerado de glucólisis hace que se saturen los sistemas de manera que la célula utiliza ambos para conseguir ATP, tanto la vía aeróbica como la vía anaeróbica

Bajo condiciones aeróbicas normales, el piruvato generado por la glucólisis se transporta a la mitocondria, donde se convierte en acetil-CoA por el complejo piruvato deshidrogenasa (PDH). En condiciones anaeróbicas, cuando se inhibe la respiración mitocondrial, el piruvato se acumula en el citosol, lo que conduce a una mayor producción y excreción celular de lactato.

La actividad de la PDH está controlada por quinasas PDKs que inhiben la actividad de la enzima PDH por fosforilación y las fosfatasas que catalizan la desfosforilación. Se ha visto en el SFC aumentos significativos de las quinasas inhibitoras PDK1, PDK2, y PDK4⁴⁴, mientras que PDK3 se mantuvo sin cambios. Estas enzimas se encuentran, entre otros lugares, en músculo esquelético, corazón y cerebro. Las activaciones de las PDKs son directamente reguladas a través de un aumento de los niveles de ATP, NADH y acetil-coA. En cambio es inhibida por el ADP, NAD⁺, CoA-SH y piruvato

El aumento inicial súbito de piruvato por la glucólisis produce una inactivación de las PDK y por tanto deja a la PDH realizar su función y comenzar el ciclo de Krebs en la cadena mitocondrial para generar ATP. No obstante, la velocidad del ciclo de Krebs está limitada, por lo que el resto de piruvato se consume por vía anaeróbica aumentando los niveles de lactato. Hasta ahora la célula está utilizando ambas vías para la producción de ATP. El lactato generado puede ser utilizado por las células musculares para utilizarlo como combustibles o por el hígado a través del ciclo de Cori y generar así de nuevo glucosa.

Sin embargo, el aumento de lactato a nivel citosólico de las células infectadas activaría la proteína HIF1A, cuya función en estado activo es inhibir a la ATPsintetasa, es decir interrumpe la producción de ATP por la vía oxidativa mitocondrial. Aunque la cadena transportadora de electrones esté inhibida por la proteína HIF1, la célula puede seguir generando intermediarios del ciclo de Krebs porque las otras enzimas no están inhibidas. Por consecuencia, se produce un aumento de citrato en la mitocondria con expulsión al citosol para generar acetil coA y que este se integre en las vías de biosíntesis de ácidos grasos. Paralelamente el piruvato acumulado en el citosol se consume a lactato para la generación de ATP, ya que es la vía más rápida para la obtención de energía y la única en este caso porque la cadena transportadora está inhibida. Cuando se produjera una acumulación de acetil coA (por la síntesis de ácidos grasos) en el citosol, se inhibiría la PDH vía PDK y el piruvato se empezaría a acumular. De nuevo el piruvato elevado activaría esta vía y comenzaría el proceso. Se ha comprobado un aumento de las PDKs en enfermos de SFC, por lo que esto podría ser la explicación.

Para que se siga un continuo proceso de glucólisis se necesita reponer NAD constantemente, este puede ser repuesto por la vía aeróbica o la anaeróbica, en este caso sería la anaeróbica, porque ya hemos dicho que la aeróbica se ha inhibido, por tanto, NAD se consigue mediante la conversión de piruvato a lactato por la lactato deshidrogenasa ya que se consume NADH durante la glucolisis.

Cuando el transporte de electrones mitocondrial disminuye por cualquier razón hay un menor número de moléculas de oxígeno que se convierten en agua (H₂O) por la enzima citocromo c oxidasa. Si la entrega capilar de oxígeno a la célula no se modifica, la concentración de oxígeno disuelto se eleva en la célula. Esto activa decenas de enzimas que son cinéticamente reguladas

por la disponibilidad de oxígeno disuelto y pueden actuar como sensores de oxígeno. alguna de estas enzimas es la NADPH oxidasa (gen Nox4)⁴⁵ que aumentan los niveles de peróxido de hidrógeno (H₂O₂) para neutralizar el exceso de oxígeno (O₂). La reacción sería:



Además hay que señalar que la enzima NADPH oxidasa que cataliza la reacción de oxidación del NADPH a NADP, utiliza como cofactores calcio, FAD y el grupo hemo y en los estudios de Naviux sobre los metabolitos en SFC se ha comprobado una reducción del FAD.

Este O₂⁻ es utilizado por la SOD (superóxido dismutasa) para formar H₂O₂ que iría hacia el peroxisoma y posteriormente sería neutralizado por la catalasa a H₂O. Pero la catalasa tiene su velocidad limitada por lo que el resto de H₂O₂ tiene que ser utilizado por otra vía, de manera que el glutatión, que normalmente está en su forma reducida (GSH) se oxida por la enzima glutatión peroxidasa (GSSG).



La ruta de las pentosas fosfato está regulada por la concentración de NADP en citosol. El aumento súbito del NADP por la NADPH oxidasa en respuesta al exceso de oxígeno, genera el inicio de la ruta de las pentosas fosfato. Cuando se acumula NADPH junto con la producción de niveles elevados de acetil coA como consecuencia de la mayor captación de glucosa, ambos suponen un estímulo para la síntesis de ácidos grasos.

PAPEL DE LOS PEROXISOMAS

Los peroxisomas tienen un papel clave tanto en la producción como en la neutralización de las especies reactivas de oxígeno (ROS) junto con el metabolismo lipídico. Los peroxisomas generan cantidades significativas de peróxido de hidrógeno a través de la acción de varias oxidasas peroxisomales (por ejemplo, sus oxidasas acil-CoA reductasa). Sin embargo, los peroxisomas también contienen múltiples enzimas antioxidantes como la catalasa, SOD, glutatión peroxidasa, epóxido hidrolasa, peroxirredoxina I... que contribuyen a la regulación de los niveles de ROS intracelulares y por tanto al estrés oxidativo⁴⁶

Se ha comprobado que en la infección latente por HVSK (VHH8) se genera un aumento de la proliferación de peroxisomas. Encontraron que el metabolismo de lípidos (sobre todo ácidos grasos de cadena muy larga) en el peroxisoma era necesario para la supervivencia de la infección latente de este herpesvirus.⁴⁷

Esta proliferación de peroxisomas es inducida por PPAR γ (receptor gamma activado por el factor proliferador de peroxisomas). El PPAR es activado tanto en células cancerosas como en infecciones latentes por herpesvirus donde promueve un aumento de la oxidación de ácidos grasos en los peroxisomas.^{48,49} En un estudio sobre el cáncer de próstata demostraron que en las células cancerosas se producía una sobre-activación peroxisomal con aumento de la β -oxidación peroxisomal de ácidos grasos de cadena ramificada⁵⁰.

Todo esto nos indica que los peroxisomas tienen un papel en la supervivencia de células cancerosas o con infecciones latentes. La β -oxidación peroxisomal producida en estas células serviría para consumir parte los ácidos grasos de cadena larga perjudiciales para ellas y así proporcionar como producto más acetil CoA para ser utilizada de nuevo por la célula en la síntesis de ácidos grasos. Durante este proceso no se produce energía en forma de ATP, sino que se disipa en forma de calor.

En el peroxisoma durante la beta-oxidación de ácidos grasos se forma FADH_2 que reduce el oxígeno a H_2O para reutilizar el FAD con el fin de seguir la beta-oxidación. Este H_2O_2 al ser dañino se reduce en un segundo paso por las catalasas de los peroxisomas donde se formaría H_2O y $\frac{1}{2} \text{O}_2$

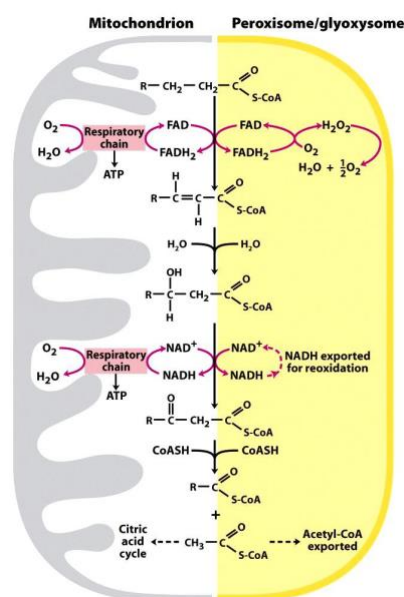


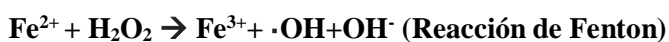
Figura 3: Comparación de la β -oxidación en mitocondrias y en peroxisomas/glioxisomas.⁵¹

Además, estudios recientes han demostrado niveles reducidos de CoQ10, una disminución del potencial de membrana mitocondrial (por lo que no hay producción de ATP mitocondrial), un aumento de los niveles de superóxido mitocondrial, y un aumento de los niveles de peroxidación de lípidos en las células mononucleares en sangre de pacientes con fibromialgia.⁵²

FORMACION DE RADICALES LIBRES

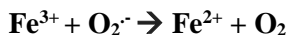
El radical hidroxilo -OH tiene una vida media muy corta (1 nanosegundo) lo que le permite actuar únicamente en el lugar de su formación o en su proximidad. Puede reaccionar sobre la estructura del ADN. El daño biológico sería la reacción en cadena conocida como peroxidación lipídica o lipoperoxidación. Cuando este radical se genera cerca de membranas biológicas puede atacar los ácidos grasos de los fosfolípidos que las constituyen preferentemente los poliinsaturados como el ácido araquidónico. Se constituye una reacción en cadena en la que un OH puede dar lugar a que cientos de moléculas de ácidos grasos se conviertan en lipohidroperóxidos cuya acumulación desorganiza la función de membrana pudiendo incluso a incluso llegar a destruirla.⁵³

La formación del radical hidroxilo depende de una reacción catalizada por iones de metales de transición (hierro y cobre) siendo los iones de hierro los promotores de radicales libres. Esta se llama reacción de Fenton donde el ion ferroso reacciona con el peróxido de hidrogeno dando lugar a la formación del radical hidroxilo que es muy reactivo e interactúa rápidamente con ADN, proteínas y lípidos.⁵³



La célula recibe de la sangre el hierro como ion férrico unido a la transferrina. El complejo formado por la transferrina y el hierro es captado por receptores específicos de la superficie celular siendo internalizado por endocitosis.

El medio ácido del endosoma libera el ion férrico de la transferrina que puede ser incorporado en algunas proteínas o almacenado como ferritina. Mientras que el complejo transferrina-receptor es reciclado a la superficie celular. El ion férrico, además de liberado de la transferrina, también puede ser movilizado de la ferritina, constituyéndose el pool de hierro no unido a las proteínas necesario para el daño oxidativo y que puede ser retirado de la circulación por quelantes del ion férrico, tales como la desferroxamina. El ion férrico reacciona con el superóxido.⁵³



Estas dos reacciones en su conjunto son conocidas como reacción de Haber-Weiss. Siendo el resultado neto de ambas representado así:



Todas las reacciones que generan $\text{O}_2^{\cdot-}$ debido a la reacción de la SOD también forman H_2O_2 . Habiendo flujo continuo de $\text{O}_2^{\cdot-}$ éste puede reaccionar con el peróxido de hidrógeno para generar el $\cdot\text{OH}$ es por esto que es tan importante la acción de los antioxidantes.⁵³

MECANISMOS ANTIOXIDANTES: ENZIMAS Y VITAMINAS

Las enzimas antioxidantes primarias son la superóxido dismutasa (SOD), la catalasa (CAT) presente en los peroxisomas y la glutatión peroxidasa (GSH-Px). La SOD cataliza la conversión enzimática del $\text{O}_2^{\cdot-}$ en H_2O_2 . La CAT elimina el H_2O_2 (peróxido de hidrógeno). La GSH-Px complementa la actividad de la catalasa en la metabolización del H_2O_2 , estando localizada predominantemente en el citoplasma. Esta enzima presenta dos formas, una que requiere selenio para su actividad y que utiliza como sustrato el peróxido de hidrógeno, y otra que no requiere selenio y cataliza la degradación de peróxidos orgánicos, especialmente lipoperóxidos. La reducción de estos peróxidos está acoplada a la oxidación del glutatión reducido (GSH), generando glutatión oxidado (GSSG). El mecanismo de regeneración del GSH a partir del GSSG, se realiza por la acción de la enzima glutatión reductasa que requiere para su actividad la coenzima NADPH. La provisión de NADPH se realiza por el metabolismo de la glucosa a través del ciclo de las pentosas.⁵³

El glutatión reducido es también importante para mantener un pool de ácido ascórbico (vitamina C) reducido utilizado para suprimir radicales libres. Los peróxidos también pueden ser eliminados, aunque en un grado menor, por la acción de la enzima glutatión S-transferasa, dado que los compuestos conjugados con glutatión son metabólicamente inactivos, siendo excretados. Cuando hay un déficit de GSH-Px la actividad de la glutatión-S-transferasa aumenta como un posible mecanismo compensatorio.⁵³

La vitamina E es uno de los antioxidantes más importantes, sobretodo la forma alfa-tocoferol, presente en las membranas celulares y en la LDL (lipoproteína de baja densidad). Su importancia radica en el hecho que es capaz de prevenir la peroxidación de los ácidos grasos poliinsaturados por la presencia en su estructura de un grupo $-\text{OH}$ (alfa-tocoferol-OH) cuyo hidrógeno es fácilmente separable de la molécula.

Durante la peroxidación se generan radicales peroxilo y alcoxilo que se combinan preferentemente con el alfa-tocoferol en lugar de hacerlo con el ácido graso adyacente, terminando la reacción en cadena. El alfa-tocoferol- $\text{O}\cdot$ (tocoferol radical) que se forma, es muy poco reactivo, siendo incapaz de atacar las cadenas laterales de los ácidos grasos adyacentes. Puede migrar hacia la superficie de la membrana y ser convertido nuevamente en alfa-tocoferol por medio de una reacción con el ácido ascórbico. Es probable que el glutatión reducido también esté involucrado en la regeneración del alfa-tocoferol a partir de su radical. Por otra parte, la vitamina C es un buen eliminador de oxidantes tales como el H_2O_2 , $\text{O}_2^{\cdot-}$ y $\cdot\text{OH}$. Se trata de una vitamina hidrosoluble por lo que se encuentra en el citosol y en los fluidos extracelulares donde

es oxidado por diversos oxidantes a dehidroascorbato que protege las partículas lipídicas y las membranas de una oxidación potencial. El dehidroascorbato es reducido nuevamente a ascorbato en una reacción en que interviene el glutatión reducido.⁵³ Además, la forma reducida de la coenzima Q, el ubiquinol 10, es muy efectivo como eliminador de radicales peróxido lipídico y pudiendo funcionar también como regenerador de la vitamina E oxidada.⁵⁴ El ácido úrico también puede eliminar radicales libres, siendo un estabilizador del ascorbato. También la glucosa y el piruvato pueden eliminar radicales $\cdot\text{OH}$, y según algunos estudios, la coenzima NADPH y la carnitina también pueden reducir el estrés oxidativo.⁵⁵ De esta manera podríamos constituir como marcadores del marcado estrés oxidativo una disminución de vitamina C, vitamina E, Q10 y carnitina sérica. De hecho, en el VIH se ha podido visualizar una disminución de los niveles de carnitina⁵⁵ y una posible vía terapéutica asociando retrovirales con carnitina obteniendo mejores recuentos CD4.

PAPEL DE LA CISTEÍNA Y GLUTAMINA

Se han encontrado bajos niveles de cisteína y glutamina en pacientes con sepsis, cirugía mayor, cáncer de hígado, Crohn, colitis ulcerosa y síndrome de fatiga crónica. Tanto en la sepsis, cirugía mayor, VIH... se puede observar una producción elevada de urea con balance de nitrógeno negativo, bajos niveles de cisteína y glutamina, con elevación de los niveles de glutamato y pérdida de la masa muscular esquelética. Esto ocurre también en los deportistas de alto rendimiento. Hay estudios que muestran en atletas de alto rendimiento niveles anormalmente bajos de glutamina, niveles altos de producción de urea, deterioro de las funciones inmunológicas, y una mayor incidencia de infecciones oportunistas.⁵⁶

Mientras que la pérdida de peso en la inanición afecta prácticamente a todos los órganos incluyendo corazón, bazo e hígado se ha demostrado que la caquexia presente en el cáncer y sepsis afecta principalmente al tejido muscular esquelético para ahorrar en corazón, bazo e hígado.

Dado el elevado consumo de glucosa en las células con efecto Warburg la glucemia sanguínea se ve disminuida. Esto resulta un estímulo para el glucagón y el hígado comienza a realizar glucogenólisis y gluconeogénesis a partir de lactato, aminoácidos como alanina y glutamina presentes en los músculos y a partir del glicerol, resultado de los triglicéridos del tejido adiposo.

Los triglicéridos en el tejido adiposo se degradan por una lipasa a ácidos grasos y glicerol. Los ácidos grasos tienen que ser transportados por la albumina y el glicerol va al hígado para realizar la gluconeogénesis. El glicerol se fosforila y oxida a dihidroxiacetona fosfato y se isomeriza a gliceraldehído 3 fosfato, intermediario de la vía gluconeogénica. El ácido graso en el citosol se activa por la acil-CoA sintetasa + ATP y se forma acil-CoA y AMP. Los ácidos grasos pequeños pueden pasar a la mitocondria directamente, pero los largos necesitan la carnitina. El grupo acilo se transfiere a la carnitina formando acilcarnitina (catalizada por carnitina aciltransferasa I) que está en la membrana externa mitocondrial. La acilcarnitina transfiere el acil a un coA en una reacción catalizada por carnitina aciltransferasa II y la translocasa devuelve la carnitina a la citosólica intercambiándola por otra acil-Carnitina. Se produce la betaoxidación en la mitocondria y este ATP se utiliza para la gluconeogénesis.

El músculo puede degradar proteínas para conseguir combustible. Los grupos NH_4 procedentes de su degradación, gracias a las aminotransferasas se transforman en glutamato. El glutamato transfiere su grupo amino al piruvato, procedente de la glucólisis, para formar alanina y restaurar el alfa-cetoglutarato gracias a la alanina aminotransferasa. La formación de alanina sirve para transportar grupos amino de forma no tóxica en sangre hasta el hígado, este es el llamado ciclo de la glucosa-alanina.

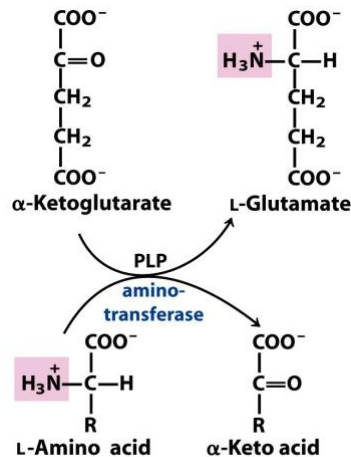


Figure 18-4
Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition
© 2008 W.H. Freeman and Company

Figura 4: Transaminación catalizada enzimáticamente. En las reacciones de muchas aminotransferasas el alfa-cetoglutarato es el aceptor del grupo amino.⁵¹

Otra opción para el transporte de grupos aminos sería la formación de glutamina a partir de glutamato por la glutamina sintetasa. Tanto la glutamina (esta glutamina parte podría ser captada por las células infectadas o cancerosas para reponer los intermediarios de su ciclo de Krebs) como la alanina pasan al torrente sanguíneo hasta ser captadas por el hígado. Una vez entrada la alanina en el hígado pasa su grupo amino a un alfa-cetoglutarato por la alanina aminotransferasa, para formar piruvato y glutamato. Este piruvato en el hígado se utiliza para producir glucosa (gluconeogénesis).

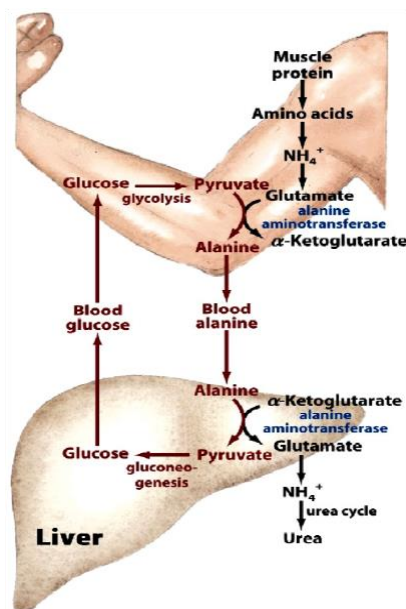


Figura 5: Ciclo de la glucosa-alanina. La alanina actúa como transportador de amoníaco y del esqueleto carbonado del piruvato desde el músculo esquelético al hígado. El amoníaco se excreta y el piruvato se utiliza para producir glucosa que vuelve al músculo.⁵¹

En las mitocondrias la enzima glutamato deshidrogenasa libera amoníaco y alfa cetoglutarato (empleado en el ciclo de ácido cítrico/ gluconeogénesis) a partir de glutamato. El amoníaco pasaría al ciclo de la urea.

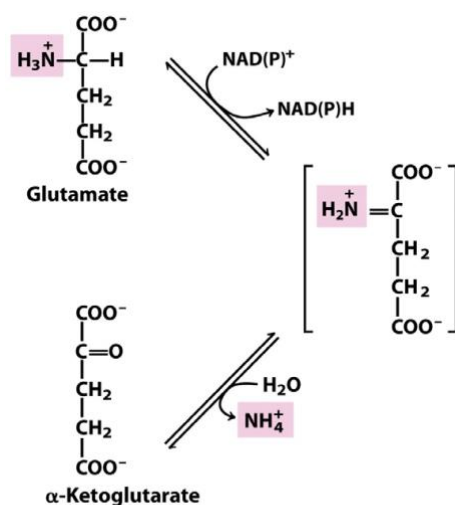


Figure 18-7
Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition
© 2008 W.H. Freeman and Company

Figura 6: Reacción catalizada por la glutamato deshidrogenasa. ⁵¹

La glutamina sería degradada a glutamato por la glutaminasa en las mitocondrias del hepatocito, liberando amoníaco que iría al ciclo de la urea también.

Esto podría explicar por qué en los enfermos de SFC con elevada severidad presentan elevados niveles de glutamato y producción de urea junto con bajos niveles de glutamina y destrucción de masa muscular.

La disminución de los niveles de cisteína se podría justificar por el elevado estrés oxidativo de las células infectadas, ya que este aminoácido es el limitante de la velocidad para generar glutatión. Como en las células con efecto warburg esta aumentada la producción de ROS, se necesita constantemente la formación de glutatión. Para introducir desde el plasma hasta la célula se necesita un transportador específico (Xc).^{57,58} Teniendo en cuenta el bajo contenido en cistina en el interior de las células, la dirección fisiológica de este intercambio consiste en la salida de glutamato para favorecer la entrada de cistina, que es rápidamente reducida a cisteína. Este aumento de glutamato a nivel sérico podría reutilizarse en el hígado intercambiándose de nuevo por cisteína y utilizarlo para la formación de NAG (n-acetil glutamato) a partir de glutamato y coA por la NAG sintasa. NAG es un cofactor esencial para la activación de carbamoil fosfato sintasa y por tanto de la ureagénesis hepática. Paralelamente las células infectadas captan glutamina para restaurar el glutamato perdido en el intercambio.

CUERPOS CETÓNICOS

El acetil-CoA formado en la oxidación de los ácidos grasos sólo entra en el ciclo del ácido cítrico si la degradación de las grasas y los carbohidratos están adecuadamente equilibradas. La entrada en el ciclo del acetil-CoA depende de la disponibilidad del oxalacetato, que estará disminuida si no hay carbohidratos o estos no se utilizan adecuadamente (si no hay piruvato suficiente generado por la glucólisis, no se puede generar oxalacetato mediante la piruvato carboxilasa). En situaciones de inanición o diabetes, el oxalacetato se consume en formación de glucosa (gluconeogénesis) y por tanto no está disponible para condensar con acetil-CoA. En estas condiciones el exceso de acetil-CoA se desvía para formar acetacetato y D-3-hidroxiбутирато. Acetacetato y 3-hidroxiбутирато son combustibles normales en el metabolismo aeróbico. El

cerebro se adapta en condiciones de ayuno o diabetes al uso de acetacetato como combustible. En ayuno prolongado, acetacetato puede llegar a aportar el 75% del aporte de las necesidades energéticas del cerebro.

Durante el ayuno prolongado o en este caso por consumo de la glucosa por las células infectadas, se produce un cambio en la utilización de los combustibles. Los tejidos usan menos glucosa que durante un ayuno corto y utilizan predominantemente combustibles derivados de la metabolización de los TAG del tejido adiposo (es decir, ácidos grasos y cuerpos cetónicos). En consecuencia, la glucemia no cae drásticamente y los pacientes de SFC presentan caquexia con pérdida de masa muscular y de grasas.

VEB ALTERA EL SISTEMA SEROTONINÉRGICO VÍA INTESTINAL

La serotonina tiene un papel importante en la regulación digestiva. Sabemos que el 95% de la serotonina total del cuerpo se genera en las células enterocromafines (EC) del epitelio intestinal. La secretan tanto a la luz intestinal como al líquido intersticial en respuesta a estímulos mecánicos y químicos, como el aumento de la presión intraluminal, los cambios de osmolaridad y los cambios de acidez luminal. Estos cambios son controlados por una serie de receptores, los cuales pueden ser estimulantes como los b-adrenérgicos, muscarínicos, nicotínicos y el 5-HT₃, o inhibidores como los alfa₂ adrenérgicos, el gamma aminobutirato, histaminérgicos H₃, receptores del VIP, de la somatostatina y el 5-HT₄.⁵⁹

Los enterocitos son los encargados de la recaptación de serotonina mediante la expresión del transportador de serotonina (SERT). La metabolización de la serotonina ocurre a nivel intracelular, principalmente por la actividad de la enzima monoamino oxidasa (MAO) que produce una desaminación oxidativa, dando lugar a la formación de un producto intermediario, el 5-hidroxi-indolacetaldehído, el cual posteriormente es oxidado por un aldehído deshidrogenasa para formar el ácido 5-hidroxi-indolacético (5-HIAA). Cuando este sistema se satura, el producto intermedio se reduce en el hígado, produciendo 5-hidroxitriptofol. Asimismo, en el sistema digestivo la serotonina también puede ser catabolizada por la glucoronil transferasa y otras enzimas intracelulares, al igual que la MAO y la aldehído-deshidrogenasa.⁵⁹

La lámina propia de la mucosa intestinal es rica en mastocitos. Los mastocitos murinos son capaces de sintetizar y liberar 5-HT, pero en condiciones normales los mastocitos en la mucosa intestinal de seres humanos no parecen sintetizar 5-HT. Por otro lado, existen evidencias de que los mastocitos entéricos humanos expresan TPH (triptófano hidroxilasa). Es posible que los mastocitos humanos sintetizen y liberen 5-HT en condiciones patológicas, lo que contribuye a condiciones tales como hipersensibilidad.⁶⁰

No todas las células que contienen serotonina la sintetizan. Tal es el caso de las plaquetas, las cuales acumulan el 8% del total, captándola del plasma a través del transportador de serotonina (SERT), proceso en el cual el calcio intracelular parece jugar un papel regulador.⁵⁹

Las plaquetas que captan la serotonina que no ha sido recogida por las células del epitelio a nivel intestinal pueden promover la hemostasia, influir en el desarrollo óseo y contribuir a la inflamación alérgica de las vías respiratorias.⁶⁰ Puede que esta acumulación de serotonina en las plaquetas aumente su volumen, ya que existe un aumento del volumen medio de las plaquetas en pacientes con trastorno de pánico por el almacenamiento de serotonina en ellas.⁶¹ Aunque posteriormente hablaremos mejor sobre el comportamiento de las plaquetas durante la patología que describimos.

Existen evidencias de la alteración del sistema serotoninérgico intestinal y la disfunción gastrointestinal en patologías como el Síndrome del Intestino Irritable y la enfermedad

inflamatoria intestinal crónica⁶². También se ha observado que el Síndrome del Intestino Irritable (SII) con predominancia de diarrea, cursa con aumento en la concentración de serotonina, posiblemente por alteración en la funcionalidad del transportador de serotonina.^{63,59}

Por otro lado, numerosas evidencias indican que la serotonina juega un papel clave en la inflamación intestinal crónica de pacientes con enfermedad de Crohn, colitis ulcerosa o con historial de diverticulitis. Así se han asociado estos procesos con un incremento en el número de células enterocromafines^{64,65} y la disminución en la transcripción del gen del transportador de serotonina, provocando ambas alteraciones un aumento en la disponibilidad de 5-HT en la mucosa intestinal.^{59,65,66}

En el intestino se conocen las consecuencias fisiopatológicas de la excesiva liberación de 5-HT, incluyendo la diarrea inducida por la toxina del cólera^{67,68}, las náuseas y los vómitos. De hecho, también se ha relacionado la concentración elevada de serotonina en el Síndrome del Intestino Irritable con predominancia de diarrea. Una de las causas de tal incremento en la concentración de serotonina es la alteración en la funcionalidad del transportador.^{59,63}

Por lo tanto, la serotonina circulante se estudia a menudo en los trastornos gastrointestinales como un reflejo de la disponibilidad de 5-HT en la mucosa.⁶⁰ Los niveles de 5-HT postprandiales están elevados en muestras de plasma pobres en plaquetas obtenidas de pacientes con SII-D (Síndrome de Intestino Irritable con predominio de diarrea)^{69,70} o SII post-infecciosas,⁷⁰ pero se ha informado de que los niveles de 5-HT están reducidos⁷⁰ o sin cambios⁷¹ en el SII-C (con estreñimiento). En contraste, los niveles de 5-HT en plaquetas se reducen en SII-D⁷², pero se duplican en comparación con controles sanos en pacientes con SII-C.⁷¹ En conjunto, estos resultados son consistentes en la existencia de una disminución en la captación de 5-HT por el epitelio intestinal en ambas formas de SII, ya que parece que más 5-HT está terminando en la circulación después de la ingestión de alimentos (sobre todo hidratos de carbono). La capacidad de detectar los elevados niveles postprandiales de 5-HT en plasma pobre en plaquetas en el SII-D pero no en SII-C, puede reflejar diferencias en la función de SERT en las plaquetas en estos trastornos. La captación de 5-HT por las plaquetas parece estar alterada en individuos con SII-D.^{72,73,74} Esto podría explicar los niveles elevados de 5-HT postprandiales en muestras de plasma pobre en plaquetas de pacientes con SII-D, ya que tanto las plaquetas como los enterocitos expresan TLR3.^{75,76} Este receptor al ser activado por infecciones virales como el VEB, provoca una disminución de la actividad de SERT disminuyendo así la recaptación de serotonina por ambas células.⁷³

En el estreñimiento crónico, la expresión de SERT no se altera⁷⁷, pero el contenido de 5-HT, el número de células enterocromafines (EC), y la liberación de 5-HT se incrementan.^{77,78}

El epitelio intestinal, además de desarrollar actividad digestiva y absortiva, constituye una barrera anatómica e inmunológica entre la luz y el compartimento interno intestinal. Este epitelio está en íntimo contacto con una gran variedad de microorganismos comensales y con los productos de la digestión de la ingesta. Ambos suponen una amenaza para la estabilidad inmunológica del intestino.⁵⁹

Tres son los mecanismos implicados en la estabilidad del epitelio en su papel de barrera intestinal:⁵⁹

1. El sistema inmune innato, que es la primera línea de defensa frente a la microflora residente intestinal o a patógenos invasores lumenales. Los receptores TLR se encuentran localizados en células mononucleares, dendríticas, macrófagos, así como en diferentes células epiteliales y suponen un mecanismo importante en la inmunidad innata del epitelio intestinal.

2. La barrera transepitelial en el que el epitelio de la mucosa es la primera línea de defensa física contra las agresiones lumenales. La integridad de esta barrera epitelial es mantenida mediante moléculas de adhesión y de unión intercelular que permiten establecer la polaridad epitelial.
3. El sistema inmune intestinal adaptativo que se pone en marcha cuando se rompe el equilibrio entre la estimulación de origen antigénico o de tipo patógeno y la actividad inmune innata intestinal.

La alteración de cualquiera de estos tres sistemas, es decir, una inapropiada regulación del sistema inmune innato, un aumento de la permeabilidad epitelial o una regulación defectuosa del sistema inmune adaptativo, supone un riesgo para desarrollar una patología inflamatoria en la mucosa intestinal.⁵⁹

Demostraron que el aumento extracelular de factores liberados en la inflamación, inhibe la actividad del transportador de serotonina. Dado que el transportador internaliza la serotonina, los resultados indicaron que estos mismos factores inflamatorios incrementan la disponibilidad extracelular de serotonina, la cual podría intentar paliar o contribuir a la situación inflamatoria.⁵⁹

Concluyeron que mediante la activación de diversos receptores tipo toll se reducía la actividad del transportador de serotonina. Observaron que TLR3 era activado por ARN de doble cadena de origen vírico, TLR4 por el lipopolisacárido de bacterias gram negativas y TLR5 era activado por la proteína flagelina de microorganismos flagelados presentes en el intestino como la Salmonella y la Escherichia Coli.⁵⁹ El VEB activaría TLR3 produciendo un aumento en la inflamación de la mucosa que conduciría a un aumento de la permeabilidad de bacterias gram negativas que activarían también TLR4.

Por lo tanto, la reducción de la actividad del transportador de serotonina y de su expresión en la mucosa intestinal lleva a un aumento de la disponibilidad de 5-HT a nivel local.^{59,60}

Al igual que ocurría en la infección de HBMEC por el VEB, la infección de las células epiteliales de la mucosa intestinal por este virus conduce a la ruptura de las uniones estrechas de la barrera intestinal, logrando el paso de bacterias y otras sustancias. A la vez, el VEB logra infectar células plasmáticas de la mucosa. Por tanto, las células B con infección latente por VEB liberan EBERs. Se comprobó que la liberación de EBER1 de las células infectadas por VEB induce a la activación de la señalización del TLR3, dando como resultado la inducción de IFN de tipo I y citoquinas proinflamatorias. EBER1 circulante puede inducir la activación de las células dendríticas y la posterior activación de las células T, conduciendo a la producción sistémica de citocinas proinflamatorias. Dado que las células T CD8⁺ y células NK expresan TLR3, serían activadas por estas señales procedentes de EBER1.³¹ Pero los miARNs de VEB inhibirían a su vez la respuesta de los linfocitos CD8 y la activación de linfocitos CD4, por lo que solo habría un aumento de citoquinas proinflamatorias sin reconocimiento inmunológico de las células infectadas.

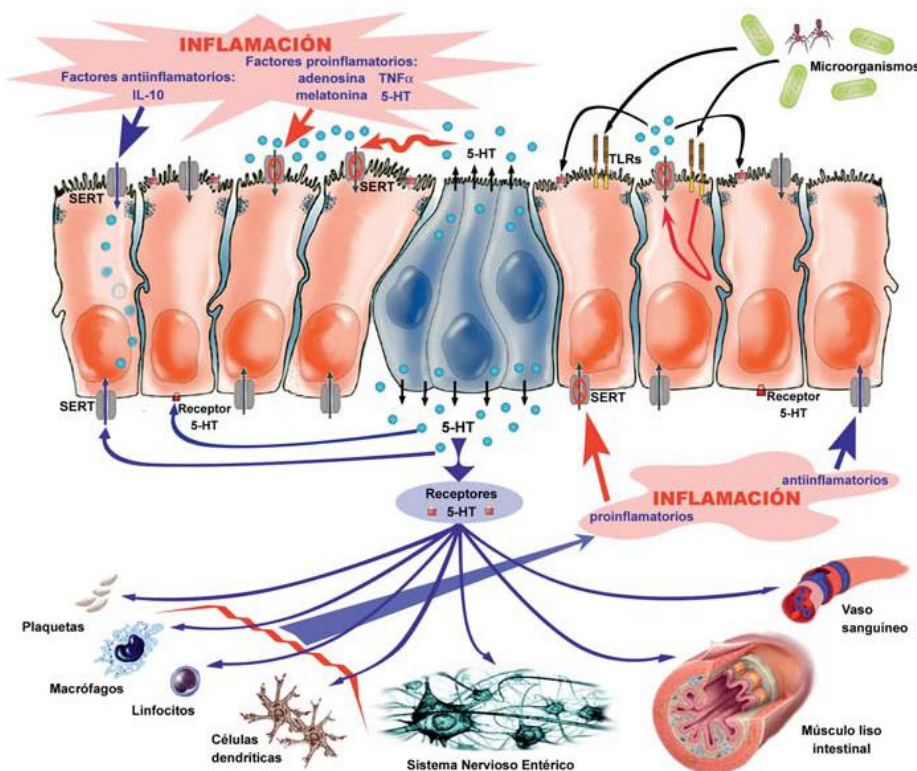


Figura 7: Esquema de la implicación del sistema serotoninérgico intestinal en las patologías inflamatorias intestinales. 5-HT liberada por las células enterocromafines puede actuar sobre una gran variedad de tejidos y células que expresan algún subtipo de receptor para la 5-HT. Entre ellos se encuentran macrófagos, células dendríticas y linfocitos, que activarán la producción de citocinas proinflamatorias, afectando al sistema inmune para activar un proceso inflamatorio. SERT, como regulador de la disponibilidad extracelular de 5-HT, es regulado negativamente por la activación de diferentes TLRs y diversas citocinas proinflamatorias, mientras que citocinas antiinflamatorias, como IL-10, aumentarán su actividad. De esta manera, los niveles extracelulares de 5-HT podrán aumentar o disminuir durante un proceso en función de los sistemas intermedios activados, siendo así SERT esencial en el inicio, desarrollo y mantenimiento del proceso inflamatorio.⁷⁹

CONSECUENCIAS DEL EXCESO EXTRACELULAR DE SEROTONINA

Nos centraremos primero en el efecto de la serotonina sobre el sistema gastrointestinal, ya que es donde se produce su acumulación como consecuencia de la infección por VEB. Y posteriormente como afectaría el exceso extracelular de serotonina, debido a la patología intestinal, al resto del organismo.

A nivel periférico 5-HT participa en procesos fisiológicos entre los que se incluyen: hemostasia, regulación del sistema cardiovascular, control de la motilidad, secreción y absorción epitelial intestinal.

ACTIVACIÓN DE RECEPTORES DE SEROTONINA

Este aumento de serotonina en el tracto gastrointestinal provoca respuestas fisiológicas relevantes por la presencia de varios subtipos de receptores, en diversas clases de neuronas mientéricas, células musculares lisas y células epiteliales.⁵⁹

Los subtipos de receptores de serotonina 5-HT₁, 5-HT₂, 5-HT₃, 5-HT₄, y 5-HT₇ son conocidos por afectar la función motora intestinal. El receptor 5-HT_{1A} está expresado en neuronas de los plexos mientérico, submucoso y células enterocromafines. Produce una rápida disminución de la

amplitud de los potenciales postsinápticos excitatorios. Por otro lado, para los 5-HT1B, 5-HT1D y 5-HT2A se ha demostrado que estimulan o inhiben la contracción del músculo liso dependiendo de la porción del tubo digestivo y de la especie en referencia.

Sin embargo, este tipo de receptor puede cumplir con otras funciones en humanos como es la de mediar la contracción del músculo liso longitudinal. Asimismo, los receptores 5-HT2 parecen estar involucrados en la regulación de la absorción intestinal de nutrientes.⁵⁹ Además, la serotonina se sabe que es proinflamatoria, actuando a través de los receptores 5-HT2A para aumentar la extravasación de linfocitos T y eosinófilos, pudiendo activar también mastocitos.⁷³

Los receptores 5-HT3 y 5-HT4, al ser estimulados tanto central como periféricamente, promueven el vómito, el vaciamiento gástrico, secreción de electrolitos, secreción de serotonina en células enterocromafines, contracción y/o relajación de la musculatura lisa y modulan la absorción de aminoácidos a nivel intestinal.⁵⁹ El receptor 5-HT3 parece íntimamente involucrado en la señalización del sistema intestinal-cerebro, particularmente a través de la vía aferente (sensorial) del nervio vago. También está implicado en la hipersensibilidad visceral.⁸⁰

Con respecto al receptor 5-HT7, su activación produce relajación en íleon y colon y también se ha postulado que su sobrestimulación puede llevar a la acomodación exagerada del músculo liso circular del colon con aumento del volumen, síntoma común en muchos trastornos funcionales intestinales.⁵⁹

Resultados recientes, han mostrado que tanto 5-HT1A como 5-HT7 se expresan en células epiteliales intestinales y modulan la actividad del transportador de serotonina.⁵⁹

TRACTO GASTROINTESTINAL

La secreción de serotonina ocurre tanto en dirección a las porciones más internas de la pared del tracto intestinal (la lámina propia), como hacia la luz intestinal.⁵⁹

Si la secreción de serotonina es en dirección a la lámina propia, se puede unir a receptores en los axones de las neuronas aferentes primarias intrínsecas submucosales que inervan el epitelio secretorio y son las encargadas de iniciar los reflejos secretorios y peristálticos, y/o puede unirse a sus receptores en las neuronas aferentes primarias intrínsecas mientéricas y participar en la regulación de la peristalsis a través del inicio de las contracciones migratorias. Además, también se ha demostrado que la serotonina regula la actividad de las células intersticiales de Cajal, con la correspondiente regulación de la actividad eléctrica del músculo liso.⁵⁹

Por otra parte, las neuronas aferentes extrínsecas son activadas directamente por la serotonina liberada de las células enterocromafines e indirectamente por las neuronas aferentes primarias intrínsecas, llevando la información del tracto intestinal al sistema nervioso central a través del nervio vago.⁵⁹ Es decir, la inervación parasimpática en el estómago, el intestino delgado y el colon proximal es proporcionada por el nervio vago. Un nervio mixto, que contiene fibras tanto sensoriales como motoras. Contiene aproximadamente 70-80% de fibras sensoriales que transducen eventos fisiológicos en el tracto GI y los transmite al SNC.⁸⁰ Esta información está relacionada con la sensibilidad al contenido luminal. La presencia de hidratos de carbono y estímulos hiperosmóticos, inducen fuertemente la liberación de 5-HT.⁵⁹

La liberación de EBER por parte de las células plasmáticas que contienen VEB latente a nivel de la mucosa intestinal, activan TLR3 provocando una disminución de la actividad del transportador de serotonina, que lleva a una acumulación de este neurotransmisor. Según lo descrito anteriormente la presencia de hidratos de carbonos en el lumen incrementaría aún más su secreción y como consecuencia su acumulación junto con una mayor sintomatología.

Igualmente, el nervio vago media la inhibición del vaciamiento gástrico y las respuestas motoras duodenales, por lo que se relaciona con la náusea y el vomito. Así como también con la conducción de señales que conllevan a las percepciones de incomodidad y dolor en el tracto gastrointestinal, proceso llevado a cabo por vía aferente espinal.⁵⁹

En el intestino se ha visto que la serotonina regula la proliferación de las células epiteliales e inhibe la absorción intestinal de monosacáridos y aminoácidos.⁵⁹

A nivel estomacal también existen receptores 5-HT donde un aumento de serotonina inhibe la secreción ácida. Disminuye la liberación de gastrina por parte de las células G y de HCL (ácido clorhídrico) como consecuencia.^{81,82}

En los trastornos inflamatorios intestinales también se puede dar el caso de hiposecreción gástrica con hipergastrinemia debido a una gastritis atrófica tipo A mediante la destrucción autoinmune de las células parietales por autoanticuerpos.⁸³

En los dos casos hay una hiposecreción gástrica que es una de las causas de aparición de sobrecrecimiento bacteriano del intestino delgado (SIBO).^{84,85} Y si añadimos cambios en la motilidad intestinal junto con las alteraciones inmunológicas por la infección del VEB aumentaría aún más la probabilidad de padecer SIBO.

La alteración del sistema serotoninérgico también ocurre en los pacientes con autismo, ya que se ha observado que tienen elevados niveles de serotonina debido a la alteración del transportador de serotonina (SERT).⁸⁶

Los pacientes autistas, al igual que en las patologías digestivas descritas en este trabajo, tienen alterado el revestimiento de la mucosa intestinal con una disminución de la actividad de las enzimas digestivas de carbohidratos y de proteínas grandes tales como el gluten, la gliadina y la caseína conduciendo a una malabsorción de estas, que pueden causar inflamación y que se cree que actúan como neuropéptidos. Por lo tanto, los péptidos derivados del gluten y la caseína no se convierten en aminoácidos. El aumento de la permeabilidad intestinal permite entonces que estos péptidos se filtren en el torrente sanguíneo, donde circulan y eventualmente cruzan la barrera hematoencefálica, lo que podría conducir a la inflamación y a la alteración de las funciones neurológicas. Los neuropéptidos tienen efectos adversos sobre la atención, la maduración cerebral, las interacciones sociales y el aprendizaje en estos pacientes.^{86,87}

Lau et al. realizaron un estudio cuyo objetivo era evaluar la reactividad inmune al gluten en pacientes pediátricos diagnosticados con autismo respecto a controles sanos de la misma edad. Los niños con autismo tenían niveles significativamente más altos de anticuerpos IgG a la gliadina en comparación con los controles sanos, pero no alcanzaron significación estadística. No hubo diferencias en la respuesta de IgA a la gliadina en todos los grupos. Los niveles de marcadores serológicos específicos de la enfermedad celíaca, es decir, los anticuerpos contra gliadina desamidada y TG2, no difirieron entre pacientes y controles. No se observó una asociación entre el aumento del anticuerpo anti-gliadina y la presencia de HLA-DQ2 y / o -DQ8. En conclusión, un subconjunto de niños con autismo mostró una mayor reactividad inmune al gluten, cuyo mecanismo parece ser distinto del de la enfermedad celíaca. El aumento de la respuesta de anticuerpos anti-gliadina y su asociación con los síntomas gastrointestinales apunta a un mecanismo potencial que implica alteraciones de la permeabilidad inmunológica y / o intestinal en los niños afectados.⁸⁸

Este aumento de la permeabilidad intestinal resultante del daño a la barrera epitelial intestinal en personas con autismo puede ser responsable de una mayor exposición del sistema inmune a fragmentos de gluten parcialmente digeridos, lo que da como resultado el aumento detectado en la respuesta de anticuerpos.⁸⁸

Otro estudio mostró que los títulos elevados específicos de IgG de caseína y gliadina resultaron más frecuentes entre los pacientes con trastorno del espectro autista (TEA) con dieta regular que con los controles con dieta libre de caseína y gluten. Estos hallazgos confirman artículos previos sobre el aumento de la reactividad hacia las proteínas de la leche (caseína). Se encontró un aumento de títulos específicos de IgG de gliadina en pacientes autistas que podría explicarse en parte por el aumento significativo de AGA-IgG (anticuerpos antigliadina IgG) y DPG-IgG (anticuerpos frente al péptido desamidado de la gliadina Ig G). Además, el hecho de que los títulos de AGA-IgA y DPG-IgA fueran similares en TEA y los controles, indica que la respuesta inmune de la superficie de la mucosa posiblemente no estaba involucrada. Por lo que no es considerado enfermedad celiaca ya que no están elevados estos IgA pero si existe una reacción contra estas proteínas debido a los títulos elevados AGA-IgG debido al aumento de la permeabilidad intestinal.⁸⁹

Debido al daño que se produce en la mucosa intestinal se reduce la capacidad absorbente y/o disminuye la expresión de lactasa, además de un posible incremento significativo del tránsito yeyunal. Estamos ante una hipolactasia secundaria a la infección del VEB. Cuando esta disminuida la actividad de la lactasa, la lactosa llega sin hidrolizar al colon, donde es fermentada por la flora intestinal con la consecuente producción de ácidos grasos de cadena corta (AGCC) y gas, fundamentalmente hidrógeno (H₂), dióxido de carbono (CO₂) y metano (CH₄). Así, la lactosa no digerida que accede al intestino grueso puede dar lugar a diarrea osmótica y los productos de su digestión bacteriana a una diarrea secretora y gas. Pero este tipo de intolerancia, que se da también en cualquier enfermedad del intestino delgado como la enfermedad celíaca, Crohn... es reversible siempre y cuando se repare la mucosa. (Lo mismo ocurre con la intolerancia a la fructosa en presencia de enteropatías).⁹⁰

<p>Intestino Delgado</p> <ul style="list-style-type: none"> - Enteropatía VIH - Enfermedad de Crohn - Enteritis regional - Esprúe tropical y celiaco - Enfermedad de Whipple - Gastroenteritis severa
<p>Multisistémica</p> <ul style="list-style-type: none"> - Síndrome carcinoide - Deficiencias inmunes - Fibrosis quística - Gastropatía diabética - Kwashiorkor - Síndrome de Zollinger-Ellison
<p>Iatrógena</p> <ul style="list-style-type: none"> - Post-quimioterapia - Enteritis rádica

Figura 8: Causas de la hipolactasia secundaria.⁹⁰

La fermentación bacteriana en el colon de azúcares no absorbidos como fructosa y/o sorbitol genera ácidos grasos de cadena corta AGCC (acetato, propionato, y butirato), gases (hidrógeno, dióxido de carbono y metano) y una carga osmótica en la luz intestinal. Al igual que la

disminución de la lactasa, por la inflamación provocada por la infección (esto sería también una malabsorción secundaria). Este tipo de malabsorción no está codificada genéticamente y se debe a la presencia de una enfermedad intestinal que daña la mucosa intestinal de forma transitoria, aunque también puede ser permanente. Es común en las gastroenteritis, sobrecrecimiento bacteriano, enfermedad inflamatoria intestinal, enteritis por radiación y celiaquía.⁹⁰

La malabsorción de hidratos de carbono se desarrolla como resultado de la descomposición prematura de los azúcares por las bacterias junto con la disminución de la actividad de la disacaridasa, secundaria a la interrupción del borde en cepillo intestinal.⁸⁴

El paso de la comida no digerida y absorbida correctamente se convierte en un sustrato para la fermentación bacteriana permitiendo la aparición de sobrecrecimiento a lo largo del intestino delgado. En los test de intolerancias a la fructosa y lactosa se mide los niveles de metano e hidrógeno en aliento tras la introducción por vía oral de soluciones con lactosa o fructosa. La cuestión es que muchos digestivos piensan que los resultados positivos de estas pruebas no son por estas intolerancias sino por la presencia de SIBO, ya que el metabolismo de los carbohidratos en el intestino delgado, en presencia de bacterias colónicas, conduce a cambios en las concentraciones de hidrógeno y metano procedentes de la fermentación. Pero el hecho de que exista este sobrecrecimiento ya nos está indicando que existe un problema en la digestión/absorción de los carbohidratos. Por lo que si dan positivo a estas pruebas nos indicarán problemas malabsortivos (intolerancias) y SIBO.

Debido a la inflamación, el aumento de motilidad y la malabsorción, los pacientes están en riesgo de diversas deficiencias, especialmente de las vitaminas A, D, E, B12 y hierro. (Como ocurre también en pacientes con SFC). También cursan con pérdida de peso y diarrea crónica.⁸⁴

La malabsorción de grasa se produce como resultado de la desconjugación bacteriana de las sales biliares. Además, los ácidos biliares libres son tóxicos para la mucosa intestinal, lo que provocaría inflamación de la mucosa y malabsorción. Las sales biliares desconjugadas se reabsorben en el yeyuno en lugar del íleon, lo que lleva a la alteración de la formación de micelas, malabsorción de grasas, y las deficiencias de vitaminas solubles en grasa (A, D, E, y K). Afortunadamente, los síntomas rara vez se desarrollan; sin embargo, en casos graves pueden producirse ceguera nocturna (vitamina A), osteomalacia y tetania debida a hipocalcemia (vitamina D), los tiempos prolongados de protrombina (vitamina K), o neuropatía, retinopatía y deficiencias en la función de células T.⁸⁴

Una complicación del sobrecrecimiento bacteriano es la deficiencia de cobalamina (vitamina B12). Los pacientes con flora intestinal normal, utilizan el factor intrínseco gástrico para unirse a la vitamina B12 que permite su absorción en el íleon. Un modelo animal de SIBO demostró que existe una captación competitiva de vitamina B12 por bacterias (especialmente aerobios). Los sujetos humanos con gastritis atrófica y sobrecrecimiento bacteriano absorben significativamente menos B12 unido a la proteína en comparación con los controles, aunque esto se invirtió con terapia antibiótica. Los niveles de folato pueden ser normales, pero con frecuencia son elevados debido al aumento de la síntesis de ácido fólico por las bacterias del intestino delgado.⁸⁴

Otras de las pruebas que sugieren mala digestión es la positividad de restos de alimentos sin digerir en heces.

SISTEMA CARDIOVASCULAR

Como se mencionó anteriormente, existe una comunicación entre el tracto intestinal y el SNC a través del nervio vago. La activación de los receptores 5-HT3 en estas terminaciones vagales aferentes se asocia al reflejo Bezold- Jarisch provocando hipotensión y bradicardia. Al activarse estas fibras, se produce una respuesta autonómica anormal o paradójica, resultando en

vasodilatación (por disminución de eferencia simpática) e incremento del tono vagal, con subsiguiente reducción en el llenado cardíaco y bradicardia, que finalmente puede conducir al síncope vasovagal. Esto coincide con la fatiga y bradicardia que a veces les ocurre a los pacientes con SFC.⁹¹ Debido a la bradicardia y a la hipotensión se puede producir visión borrosa por el síncope (inadecuado flujo sanguíneo cerebral) sobre todo en posición erecta (hipotensión ortostática).

APARATO LOCOMOTOR

Las plaquetas examinan los vasos sanguíneos, buscando daño endotelial y evitando la pérdida de la integridad vascular. Sin embargo, hay circunstancias en las que aumentan la permeabilidad vascular, lo que sugiere que las plaquetas a veces no cumplen con su función esperada. La artritis inflamatoria se asocia con edema tisular atribuido a una mayor permeabilidad de la microvasculatura sinovial. Los modelos murinos han sugerido que dicha fuga vascular facilita la entrada de autoanticuerpos y, por lo tanto, puede promover la inflamación de las articulaciones.⁹²

Utilizando un modelo de artritis autoinmune se comprobó que la ausencia de plaquetas disminuía la permeabilidad en las articulaciones inflamadas. Este efecto fue mediado por la serotonina plaquetaria acumulada a través del transportador de serotonina.⁹²

Las plaquetas se convierten en la principal causa de la permeabilidad vascular en la artritis, a través de la liberación de serotonina, pudiendo fomentar el desarrollo de la enfermedad. El papel crítico de las plaquetas en la fuga vascular puede no ser única para la artritis. En modelos de inflamación pulmonar inducida por ácido o sepsis abdominal, el agotamiento de plaquetas impide la inflamación y la pérdida vascular, indicando un papel potencial de las plaquetas en la permeabilidad vascular durante la inflamación en el pulmón.⁹²

Es importante destacar, que identificaron la serotonina como un mediador derivado de las plaquetas capaz de iniciar la formación de huecos en la vasculatura durante la inflamación, compatibles con la extravasación de MPs (micropartículas de plaquetas). Sin embargo, los huecos formados en la vasculatura de la articulación durante la artritis autoinmune pueden ser perjudiciales para la articulación. Al igual que las MP de plaquetas ricas en IL-1, los complejos inmunes, como el agente etiológico en la AR (artritis reumatoide), también son de dimensiones submicrónicas, con diámetros que varían entre 0,1 μ m y aproximadamente 1 μ m. Por lo tanto, es plausible que las brechas producidas por las plaquetas contribuyan a la invasión articular tanto por inmunocomplejos como por MPs, lo que respalda una doble contribución a la inflamación articular.⁹²

También indicar que la absorción de serotonina por parte de las plaquetas es un requisito previo a la permeabilidad. Las plaquetas obtienen principalmente 5-HT del intestino, por lo tanto, el exceso de serotonina generado por la disminución de la actividad de SERT por parte de la infección por VEB en la mucosa intestinal, debería ser recogido y transportado por las plaquetas. Pero las plaquetas no llegan a recoger todo este exceso ya que expresan también TLR3^{75,76} como los enterocitos y al ser activados estos receptores por la infección, disminuiría la recaptación de serotonina por estas células⁷³. Esto permite que haya una acumulación de serotonina en la mucosa intestinal.

Las plaquetas contienen diferentes tipos de gránulos, fundamentalmente gránulos densos/deltas, gránulos α y lisosomas. Las plaquetas activadas excretan el contenido de estos gránulos.⁹³ Los gránulos densos contienen serotonina, por lo que al activarse las plaquetas vía TLR3 se liberaría. Este neurotransmisor liberado aumentaría la permeabilidad vascular pudiendo favorecer la inflamación en articulaciones⁹² u otros tejidos donde haya presencia de células infectadas por VEB.

Sería lógico pensar que al estar disminuida la actividad del transportador de serotonina (SERT) y su expresión en la mucosa intestinal por la infección viral, llevaría a un aumento de la disponibilidad de 5-HT no solo a nivel local sino también a nivel circulatorio. Pero en un estudio con ratones modificados para no expresar SERT, no se encontró 5-HT en sangre. Esto indica que estos animales evitan eficazmente que la 5-HT entérica llegue a la circulación a través de otros medios.⁹⁴ La ausencia en plasma de 5-HT en ratones SERT - / - indica que los transportadores alternativos que se expresan en el intestino y el hígado deben eliminar completamente 5-HT de la sangre portal (la 5-HT libre se absorbe en la vena porta y se metaboliza en el hígado) y evitar que llegue a la circulación sistémica. Pero las deposiciones de ratones SERT - / - contenían más agua que las de sus compañeros de camada SERT + / +, es decir los ratones SERT -/- tenían diarreas acuosas por la acumulación de serotonina a nivel intestinal.⁹⁴ Añadir que las plaquetas de ratones SERT - / - no están cargadas con 5-HT a medida que circulan a través del intestino.⁹⁴ Esto ocurre de manera parecida en pacientes con SII-D y en pacientes con SFC. La disminución de la actividad de SERT que genera la infección por VEB al activar TLR3 en plaquetas y enterocitos provoca una disminución de la captación de serotonina y, por tanto, un aumento de la serotonina extracelular a nivel intestinal. En condiciones de ayuno tanto los pacientes con SII-D⁶⁹, como de SFC tienen los mismos niveles de 5-HT en plasma que los pacientes sanos. Esto ocurre gracias a los transportes alternativos que eliminan la serotonina libre de la sangre portal.⁹⁴ Pero en condiciones postprandiales al estimularse aún más la liberación de serotonina se saturan los sistemas de transporte aumentando así los niveles de 5-HT libre en plasma, como se ha visto que ocurre en pacientes con SII-D, junto con un aumento de los niveles plasmáticos de su metabolito 5-HIAA en comparación con sujetos sanos.⁶⁹ De ahí que aumenten los síntomas de estos pacientes después de las comidas.

SISTEMA NERVIOSO CENTRAL

Los compuestos serotoninérgicos y 5-HT estimulan la secreción de PRL (prolactina) de la glándula pituitaria anterior. Estando los receptores 5-HT3 implicados en la regulación tanto de la respuesta basal como de la respuesta de PRL inducida por el estrés.⁹⁵

Las neuronas serotoninérgicas de los MRN (núcleo medial del rafe) y DRN (núcleo del rafe dorsal) se proyectan hacia el PVN (núcleo paraventricular hipotalámico) donde están en estrecho contacto con las neuronas CRH (hormona liberadora de corticotropina). Estos tres núcleos son importantes para las respuestas mediadas por 5-HT pero no son esenciales, ya que la lesión de las neuronas 5-HT en PVN o DRN redujo pero no inhibió la respuesta de ACTH al estrés.⁹⁵

El sistema serotoninérgico estimula el eje HPA (eje hipotálamo-pituitaria-adrenal) tanto a nivel hipotalámico como a nivel de la glándula pituitaria con niveles incrementados de ARNm de CRH en el PVN, ARNm de POMC (proopiomelanocortina) en el lóbulo hipofisario anterior, CRH en el plasma de la hipófisis, ACTH y corticosterona en el plasma. La serotonina estimula la secreción de ACTH in vitro de la glándula pituitaria anterior. El efecto de 5-HT está mediado principalmente a través de los receptores 5-HT1A, 5-HT2A y 5-HT2C, pero el receptor 5-HT3 no parece estar implicado en la regulación serotoninérgica del eje HPA.⁹⁵

En otro estudio, las inyecciones de serotonina en ratas demostraron disminución en la secreción de LH (hormona luteinizante).⁹⁶ También se observó que la serotonina estaba involucrada en la regulación de la LH posmenopáusica en mayor medida y en menor medida en la secreción de FSH (hormona foliculoestimulante).⁹⁷

El sistema neurohipofisario (vasopresina y oxitocina)

5-HT libera AVP (vasopresina) en el tejido extracelular en el PVN. La secreción periférica de AVP implica principalmente receptores 5-HT2C, 5-HT4 y 5-HT7. La secreción de OT (oxitocina) está principalmente mediada por receptores 5-HT1A, 5-HT2C y 5-HT4 y probablemente también receptores 5-HT1B, 5-HT2A, 5-HT5A y 5-HT7.⁹⁵

Se puede concluir que el 5-HT está implicado en la regulación basal y de estrés de PRL, ACTH, AVP y oxitocina induciendo su aumento a través de los receptores 5-HT_{2A} + 2C principalmente, pero otros receptores también son importantes, que difieren entre estas hormonas.

Regulación de la temperatura

5-HT es un neurotransmisor importante para la termorregulación a través de la pérdida de calor y la producción de calor. Se discutieron los subtipos de receptores 5-HT que participan en esta regulación, especialmente 5-HT₃ y 5-HT₇, en lugar de 5-HT_{1A}. En términos de las regiones anatómicas del cerebro que participan en esta regulación, la VTA (área tegmental ventral) o el DMH (núcleo dorsomedial del hipotálamo) son las principales áreas candidatas en lugar de la PO / AH.⁹⁸

Los agonistas selectivos de los receptores 5HT_{1A} producen una respuesta hipotérmica considerable. También se demostró que la activación del receptor 5-HT_{1A} tiene efectos tanto en la pérdida de calor como en la producción de calor. No solo el 5-HT_{1A} provocaba esto, sino también el 5-HT₃ y el 5-HT₇.⁹⁸

Regulación del sueño

Los pacientes con autismo se ha observado que tienen elevados niveles de serotonina junto con problemas intestinales e insomnio. La serotonina al ser un precursor de la melatonina alteraría la secreción de melatonina.

En modelos animales se ha sugerido que el nivel de serotonina en el cerebro controla el comportamiento del sueño-vigilia. En un estudio con animales se demostró que los ratones sin 5-HT exhiben mayores cantidades de sueño REM que sus contrapartes de tipo salvaje. Los ratones sin receptores de serotonina también mostraron un aumento significativo en la vigilia y una reducción en el sueño de onda lenta.⁸⁶

Posteriormente se observó que la variación en el gen SLC6A4 que codifica el transportador de 5-HT (SERT), especialmente el locus HTTLPR, se ha asociado con altos niveles de serotonina en sangre y susceptibilidad del trastorno del espectro autista. Por lo que, debido a la alteración del transportador de serotonina, la serotonina es incapaz de ingresar a las células y realizar su función, conduciendo posteriormente a una elevación compensatoria de la producción de 5-HT. Los altos niveles de serotonina pueden funcionar como reacción endógena para tratar de superar la patogénesis del autismo.^{86,99,100}

Las consecuencias serían las mismas en el SFC en dónde una baja actividad del transportador de serotonina, mediante la activación de TLR (disminuiría la captación de 5-HT), conduciría a una elevación compensatoria. Esto al influir en la regulación sueño-vigilia, provocaría insomnio.

Consecuencias cognitivas

Este trastorno que estamos describiendo se comportaría como los pacientes con síndrome carcinoide ya que estos tipos de tumores secretan esta hormona.

Los pacientes con CS (síndrome carcinoide) muestran mayores dificultades cognitivas que los controles sanos en múltiples dominios, incluidas las medidas de la velocidad de escaneo visual, las medidas de memoria verbal y visual, la percepción visual y la fluidez de las letras. Sin embargo, no mostraron déficits en otras medidas de velocidad de procesamiento, fluidez semántica o su capacidad de usar comentarios y alterar respuestas. Este estudio confirmó que los pacientes con CS sufren de deterioro cognitivo¹⁰¹

CONSECUENCIAS ALÉRGICAS POR INFECCIONES VIRALES

Los mastocitos residen en los tejidos estrechamente asociados con los vasos sanguíneos o en la superficie del cuerpo, particularmente en la piel y las membranas mucosas. Por lo tanto, además de sus papeles como células efectoras en las enfermedades alérgicas mediadas por IgE, los mastocitos son ampliamente considerados como importantes células inmunitarias innatas.¹⁰²

Los roles de los mastocitos en la vigilancia inmunológica y en la inmunidad innata contra los patógenos bacterianos han sido bien definidos. Por lo general, las respuestas inmunitarias innatas del huésped contra diversos agentes patógenos se inician mediante el reconocimiento de componentes microbianos específicos, como los lipopolisacáridos (LPS), las lipoproteínas, los flagelinos y los ácidos nucleicos, mediante receptores de reconocimiento de patrones (PRR). El reconocimiento de componentes microbianos por PRRs resulta en la activación coordinada de los factores de transcripción, lo que lleva a la expresión de citoquinas inflamatorias, quimioquinas e interferones tipo I (IFNs). Demostraron previamente que los mastocitos contribuyen a las respuestas inmunitarias innatas contra las bacterias invasoras al expresar PRRs, como TLRs-2,3,4,5,6,7 y 9, que responden a ligandos específicos induciendo la producción de citocinas y quimioquinas o la liberación del contenido granular de la célula. De manera similar, las respuestas inmunitarias innatas contra la infección viral comienzan con el reconocimiento del virus por PRR específicos. Como hemos descrito anteriormente, los ácidos nucleicos virales son reconocidos por distintos tipos de sensores: TLRs, que detectan el ARN de doble cadena (ds) o el ARN de una sola cadena (ss) en el endosoma; los receptores genéticos de tipo I (RLR) reproducibles en ácido retinoico (RLR), que reconocen el ARN viral en el citoplasma; y los sensores de ADN, que detectan el ADN viral citoplasmático.¹⁰²

Se ha demostrado previamente que los mastocitos humanos expresan TLR3, un receptor de poli (I: C) y dsRNA. La activación de los mastocitos, incluida la producción específica de citocinas antivirales como el interferón tipo I o la liberación de su contenido granular, se ha observado en el momento de la estimulación con virus, productos víricos o poli I: C. Además, se ha ido acumulando evidencia con respecto al papel de los mastocitos en respuesta a las infecciones virales. Orinska et al. reportaron las consecuencias funcionales de la activación de los mastocitos en respuesta a la infección viral. Demostraron que los mastocitos estimulados vía TLR3 producían quimioquinas que mediaban el reclutamiento de células T CD8+ in vivo. Además, la activación inducida por TLR de los mastocitos por LPS o poly I: C aumentó la capacidad de los mastocitos para activar las células T CD8+. Más recientemente, se ha demostrado que los mastocitos juegan un papel importante en la protección del huésped contra la infección por el virus del herpes simple 2 (HSV-2).¹⁰²

Burke et al. comprobaron que los mastocitos de poli I: C-expuestos o infectados con reovirus reclutan células NK de una manera dependiente de CXCL8. Se demostró que el reovirus de mamíferos, un virus ARN que normalmente es controlado eficazmente por la respuesta inmunológica, puede infectar los mastocitos humanos e inducir la producción de grandes cantidades de CXCL8. Estas respuestas de CXCL8 son suficientes para inducir la quimiotaxis de las células NK CD56+, y la CXCR1 expresada en células NK juega un papel importante en esta respuesta. Se ha sugerido que las células NK expresan los receptores CXCL8, CXCR1 y CXCR2,17,19,21 y en este estudio se confirmaron estos datos, aunque hay alguna controversia en esta área. Dado que el CXCL8 también es un potente quimioatrayente de neutrófilos, los datos de este estudio sugieren un posible papel de los mastocitos en el reclutamiento simultáneo de neutrófilos que pueden contribuir a la respuesta inmunitaria contra la infección viral.¹⁰³

También se ha demostrado que los mastocitos reclutan muchos otros tipos de células efectoras a tejidos inflamados, incluyendo monocitos sanguíneos y granulocitos (como los eosinófilos) durante la infección o en modelos de enfermedad alérgica.¹⁰³

La promoción de los mastocitos de quimiotaxis de células NK amplía la reconocida capacidad de los mastocitos de servir como células centinela en el reclutamiento de células efectoras en infecciones bacterianas, parasitarias de nematodos y en el reclutamiento de células NK en infecciones virales.¹⁰³

Es importante aclarar los mecanismos de reconocimiento del virus que conducen a la activación de los mastocitos para comprender el papel desempeñado por los mastocitos en la infección viral, ya que los mastocitos funcionan no sólo como células inmunitarias innatas para la protección del huésped, sino también como exageradores de las enfermedades alérgicas asociadas con la infección viral.¹⁰²

Por lo tanto, los hallazgos actuales refuerzan el papel de los mastocitos como respondedores clave de la respuesta inmune durante las primeras etapas de la infección viral a través de su habilidad para reconocer directamente y responder rápidamente a un virus mediante la rápida producción de citocinas y quimioquinas antivirales usando RLRs y OAS-RNase L, además de TLR3. En particular, tanto los alérgenos como los antígenos microbianos pueden desencadenar la activación de los mastocitos, y las enfermedades alérgicas o autoinmunes, donde los mastocitos juegan un papel importante en su patogénesis, que a menudo se ven exacerbadas por virus como el rinovirus.¹⁰² Como mostramos en nuestro artículo el VEB también activa TLR3 pudiendo generar esta respuesta por parte de los mastocitos.

CONSECUENCIAS MUSCULARES POR LA INFECCIÓN DEL VEB

Recientemente, se correlacionaron las respuestas anormales de lactato al ejercicio en pacientes con síndrome de fatiga crónica (SFC) con la detección y caracterización de secuencias de enterovirus en el músculo esquelético, empleando las mismas técnicas utilizadas con éxito para demostrar dichas secuencias en el músculo cardíaco. El ARN enteroviral fue detectado en 10 de 48 biopsias musculares (20.8%) de los pacientes con SFC, pero no en 29 muestras de tejido de control de sujetos normales o pacientes con una variedad de enfermedades musculares, demostrando que la presencia de secuencias de enterovirus en el músculo no es típica de la población general. Una respuesta anormal de lactato al ejercicio se presentó nueve veces más comúnmente en pacientes con SFC con secuencias de enterovirus en el músculo que en los casos negativos a enterovirus. Las PCR fueron más estrechamente relacionados con el virus Coxsackie B pero no se hicieron para herpesvirus. Puede ser que el resto de pacientes de SFC con problemas musculares dieran PCR positivo en muestras musculares a otros virus que en este estudio no se hicieran. De ahí que el SFC sea heterogéneo dependiendo de la infección que lo originó en cada paciente.¹⁰⁴

El virus VEB también se ha relacionado con la dermatomiositis/polimiositis. Los resultados del estudio de Der-Yuan Chen mostraron una asociación positiva del virus de Epstein-Barr (VEB) con la dermatomiositis/polimiositis y el carcinoma nasofaríngeo. Los pacientes con dermatomiositis o polimiositis que tengan IgA anti-EBNA-1 positivo o cargas de ADN de VEB aumentadas deben ser altamente sospechosos de tener carcinoma nasofaríngeo oculto. Sin embargo, otros marcadores diagnósticos que incluyan anticuerpos contra el antígeno temprano (EA) pueden proporcionar datos adicionales a las pruebas serológicas para detectar la presencia de carcinoma nasofaríngeo.¹⁰⁵

Esta asociación nos permite pensar que la realización de una biopsia muscular para determinar la presencia de dermatomiositis o polimiositis, junto a una PCR a VEB en este tejido podría ayudar en el diagnóstico, en caso de que el patógeno causante del SFC fuera este virus y tuviera problemas musculares.

DISCUSIÓN

El síndrome de fatiga crónica o encefalomiелitis miálgica (ME/SFC) actualmente es una enfermedad de etiología desconocida, que aparece de forma súbita en una persona previamente activa y cuyo inicio parece estar relacionado con una infección aguda en la mayoría de los casos. Hasta la actualidad, se ha estado estudiando a los enfermos de SFC sin clasificarlos en subgrupos de patógeno. Con este estudio se pretende mostrar cómo a partir del ciclo viral del virus de Epstein Barr y su mecanismo de evasión inmunológico se puede generar un SFC y cuáles son las consecuencias metabólicas y fisiológicas que ello conlleva, que pudieran ser responsable de los síntomas de fatiga crónica.

El VEB expresa al menos 44 miARNs, la mayoría de ellos con función desconocida, y dos ARN no codificantes (EBERs). Los miARNs codificados por VEB controlan la expresión de varios genes celulares con funciones antiapoptóticas, pero también interfieren con las respuestas inmunológicas innatas y la inflamación. Algunos miARNs de VEB actúan suprimiendo, en linfocitos B infectados, la liberación de citoquinas proinflamatorias tales como IL-12, lo que resultó en la supresión de la diferenciación de las células T CD4 naïve⁺ a células Th1 (importantes efectores antivirales que activan a los macrófagos y a los linfocitos NK para eliminar patógenos intracelulares).¹⁰

Varios miARNs VEB modulan el reconocimiento inmune de las células B recientemente infectadas (las células diana del VEB preferentemente). Los miARNs virales, en células B infectadas, controlan la expresión génica de HLA clase II y tres enzimas lisosómicas importantes para la proteólisis y la presentación de epítopos a las células T CD4⁺. Esto les permite interferir con el procesamiento de péptidos y sobre la presentación antigénica HLA de clase II. Como consecuencia de la disminución en la presentación antigénica HLA II, se reduce la activación de las células T CD4⁺ efectoras citotóxicas específicas al VEB y la muerte de las células B infectadas.¹⁰

También, para evitar la detección de células T CD4 específicas al VEB, se encontró que la proteína latente de VEB, LMP2A (latent membrane protein 2A), juega un papel crítico en la regulación negativa de la expresión de moléculas MHC de clase II en las células B infectadas. Funcionalmente, LMP2A imita la señalización BCR activada constitutivamente; sin embargo, la vía PI3K activada por LMP2A media la supresión de MHC clase II y CD74 en células B infectadas por VEB. Estudios previos han revelado que CIITA es un regulador principal de la expresión de moléculas MHC de clase II y CD74. Demostraron que LMP2A mediaba la reducción de los niveles de CIITA mediante la disminución de la expresión de PU.1 y E47.¹¹

Los linfocitos B infectados por VEB generan un homólogo de IL-10 (vIL-10), codificado por el gen BCRF1 de VEB durante la fase prelatente y la fase latente.^{9,17} vIL-10 puede actuar en múltiples tipos de células e inhibir la síntesis de citoquinas en células T (inhibe la producción de IL-2 e IFN- γ por las células Th1) y células NK.¹⁹ Esto permite anular las funciones antivirales de las células T CD4⁺ efectoras y disminuir la muerte mediada por las células NK de las células B infectadas.²¹ Además, es un potente inhibidor de la presentación antigénica, ya que reduce la expresión de MHC II y de las moléculas accesorias de coestimulación CD80 y CD86 en células dendríticas.¹⁸

Otros miARNs interfieren con el reconocimiento y la destrucción de las células infectadas con VEB por las células T CD8⁺. Primero, los miARNs se dirigen directamente a TAP2, regulan negativamente todo el complejo TAP, y reducen los alotipos HLA de clase I que presentan preferentemente epítopos dependientes de TAP. Segundo, reprimen EBNA1, una proteína expresada en la mayoría de las formas de latencia del VEB y un objetivo de las células T CD8⁺ específicas al VEB. En tercer lugar, los miARNs disminuyen la liberación de IL-12 por las células B infectadas, ya que IL12B es reprimida de forma directa por estos miARNs

en las células infectadas. Esta represión de IL12B no sólo puede reducir la diferenciación de células T CD4⁺, también pueden regular las funciones de células T efectoras, disminuyendo la actividad de las células T CD8⁺ específicas al VEB.^{10,13}

El VEB puede lograr infectar el SNC mediante la infección de HBMEC. Esto conduce a la ruptura de las moléculas de adhesión o uniones estrechas de la BHE, logrando el paso de leucocitos (entre ellos linfocitos B infectados por VEB) a través de los capilares hacia el tejido circundante.³⁰ Las células B con infección latente por VEB logran liberar EBERs (dos ARN no codificantes). Donde la liberación de EBER1 induce la activación de la señalización TLR3³¹ dando como resultado un aumento de citoquinas proinflamatorias (se genera inflamación en el tejido).

Al igual que ocurre en la infección de HBMEC por el VEB, la infección de células epiteliales de la mucosa intestinal por este virus conduce a la ruptura de las uniones estrechas de la barrera intestinal, logrando el paso de bacterias y otras sustancias.⁵⁹ A la vez el VEB logra infectar células plasmáticas de la mucosa. Por tanto, las células B con infección latente por VEB liberan EBERs. EBER1 activa la señalización del TLR3 de enterocitos, dando como resultado la inducción de IFN de tipo I y citoquinas proinflamatorias.³¹ Esta activación del TLR3 a nivel intestinal reduce la actividad del transportador de serotonina (SERT) en enterocitos, por tanto, disminuye la captación de serotonina provocando un aumento de 5-HT extracelular en dicho tejido.⁵⁹ Este exceso de serotonina debería ser recogido y transportado por las plaquetas, ya que las plaquetas obtienen 5-HT principalmente del intestino. Pero las plaquetas no llegan a recoger todo este exceso, ya que expresan también TLR3^{75,76} como los enterocitos. Al ser activados estos receptores por la infección, disminuye la recaptación de serotonina de estas células.⁷³ Esto finalmente permite que haya una acumulación de serotonina en la mucosa intestinal. Las plaquetas al ser activadas vía TLR3 excretan también el contenido de sus gránulos (los gránulos densos contienen serotonina).⁹³ La serotonina liberada por las plaquetas aumentaría la permeabilidad vascular pudiendo favorecer la inflamación en tejidos⁹² donde haya células infectadas por VEB. Todo esto genera una disminución de los niveles de 5-HT en plaquetas.

Añadir que en condiciones de ayuno los niveles de 5-HT en plasma de estos pacientes son iguales que los de pacientes sanos. Esto ocurre gracias a los transportes alternativos que eliminan la serotonina libre de la sangre portal⁹⁴ (impide que el exceso de 5-HT a nivel intestinal llegue a la circulación sistémica). Pero en condiciones postprandiales al estimularse aún más la liberación de serotonina (sobre todo con el consumo de hidratos de carbono) se saturan los sistemas de transporte aumentando así los niveles de 5-HT libre en plasma, como se ha visto que ocurre en pacientes con SII-D, junto con un aumento de los niveles plasmáticos de su metabolito 5-HIAA en comparación con sujetos sanos.⁶⁹

Además, con la ruptura de las uniones estrechas de la barrera intestinal, se logra el paso de bacterias y otras sustancias nocivas desde del lumen al torrente sanguíneo activando TLR4, que también disminuye la actividad del SERT.⁵⁹ La activación de los distintos receptores de serotonina conduciría al aumento de la motilidad intestinal⁵⁹, problemas de malabsorción junto con deficiencias vitamínicas (vitamina A, E, D, K y B12)⁸⁴, diarrea⁵⁹, disautonomía por la comunicación del nervio vago entre sistema entérico y el cardiovascular⁹¹, aumento significativo en la vigilia y una reducción en el sueño de onda lenta⁸⁶ junto con problemas cognitivos.¹⁰¹ Además de problemas en la regulación de la temperatura⁹⁸ y secreción de hormonas⁹⁵.

Hay que resaltar que el factor ambiental (la infección por VEB) no solo influye en la aparición de SFC, sino también la edad en que ocurre la primoinfección y la susceptibilidad genética a esta infección. Es decir, aquellos pacientes con genes de moléculas MHC de clase I y II susceptibles de desarrollar enfermedades asociadas al VEB, tendrán dificultades a la hora de combatir la infección por este virus. Como la mayoría de estas enfermedades tienen numerosos polimorfismos de estos genes de susceptibilidad, existe una gran heterogeneidad genética entre los pacientes que desarrollan una de estas enfermedades, lo que se manifiesta como una gran variabilidad fenotípica entre los diferentes pacientes que sufren una misma enfermedad. Todo esto se debe a que en todas

las especies de vertebrados las moléculas de MHC presentan un elevado polimorfismo. Este polimorfismo refleja una estrategia del sistema inmunitario para evitar la evasión de los patógenos del sistema inmunitario. Al poseer moléculas de MHC diferentes, los individuos se enfrentan a los microbios de una manera diferente, habiendo en una determinada población individuos más susceptibles y más resistentes a una determinada enfermedad.¹²

De cara a investigaciones futuras sería interesante empezar a clasificar a los pacientes en subgrupos en función de los posibles patógenos implicados en base a entender y enfocar un posible tratamiento. El rituximab en la actualidad está siendo objeto de estudio de esta enfermedad y la explicación de por qué en unos pacientes funciona y en otros no, puede deberse al tipo de patógeno implicado. Por otro lado, hay que buscar marcadores comunes en base a poder diagnosticar la enfermedad. A nivel metabólico se comporta de manera parecida a un cáncer, se disminuye todos los antioxidantes (vitamina C, Q10, E...) para compensar el elevado estrés oxidativo y es común la aparición de caquexia y síndrome constitucional por el elevado gasto energético que conlleva el efecto Warburg. En la enfermedad más avanzada puede existir una disminución de los niveles de glutamina, cisteína junto con elevada producción de urea y glutamato, esto podría constituir un marcador de severidad y un punto clave a considerar en base a suplementarlos antes de instaurar cualquier terapia. Hay que tener en cuenta que el papel de las NK resulta clave en la infección viral y, por tanto, clave en el SFC. Sobre todo resulta imprescindible evaluar qué patógeno está implicado en el cuadro clínico, cómo elude el sistema inmunológico y estrategias terapéuticas para revertir el proceso y devolver al sistema el estado inicial, por ejemplo en este caso la infección por Epstein Barr el rituximab podría ser crucial, ya que el virus actúa generando latencia principalmente en los linfocitos B. Por lo que si se lisaran los linfocitos B infectados reduciríamos el efecto Warburg y por consecuencia la fatiga crónica, además de los problemas inmunológicos (dejaría de haber un déficit de expresión de moléculas de clase II del MHC). Pero puede que al tratamiento de rituximab se debiese dar junto a antivirales, ya que al inmunodeprimir al paciente el VEB podría reactivarse y lograr seguir infectando. Actualmente hay un tratamiento más prometedor y sin efectos adversos significativos, la inmunoterapia adoptiva específica al virus Epstein-Barr. Donde se logra la muerte de células B infectadas por VEB por las células T CD8⁺ transferidas adoptivamente. Este tratamiento ha tenido resultados preliminares prometedores en la esclerosis múltiple progresiva por VEB, con mejoras en los síntomas y signos del paciente.

Por todo ello se proponen varios marcadores a realizar en pacientes con SFC post-infección por VEB:

1. Linfocitos T activados (CD3+, DR+), (CD4+, DR+): Un nivel bajo de linfocitos T activados nos indica indirectamente una disminución de la presentación antigénica HLA-II. Esta disminución de los linfocitos T CD4+ DR+ lo podemos ver en otras enfermedades asociadas al VEB, como por ejemplo en niños con linfhistiocitosis hemofagocítica asociada al VEB.¹⁰⁶
2. Comprobar en laboratorio la disminución de la presentación antigénica HLA-II por parte de las células presentadoras de antígenos.
3. Tipificación molecular del sistema HLA: para verificar la existencia de ciertos alelos HLA con predisposición a desarrollar enfermedades asociadas al VEB.
4. Anticuerpos IgG contra el antígeno nuclear (IgG anti-EBNA): presencia de un elevado número, al igual que en la esclerosis múltiple.

Las pruebas 1 y 2 deberían estar presentes en la mayoría de los pacientes con SFC, ya que otros patógenos también logran evadir el sistema inmune de esta forma. Estos patógenos logran generar una inmunodeficiencia funcional adquirida mediante el déficit de expresión de moléculas de clase II del complejo mayor de histocompatibilidad. Aunque algunos también consiguen disminuir las moléculas de clase I del MHC, como se ha mencionado en este trabajo.

BIBLIOGRAFÍA

1. Barbado Hernández F. J.; Gómez Cerezo J.; López Rodríguez M.; Vázquez Rodríguez J. J. El Síndrome de Fatiga Crónica y su diagnóstico en medicina interna. *Anales de Medicina Interna (Madrid)* Mayo-2006, vol. 23 N° 5, pp.239-244. ISSN 0212-7199. Available in: http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0212-71992006000500009#back
2. Cairaghi Costanza, Dorovini-Zis Katerina, Horwitz Marc S. Epstein-Barr virus infection of human brain microvessel endothelial cells: a novel role in multiple sclerosis. *Journal of Neuroimmunology*. 2011 January; 230(1-2):173-7. Available in: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20826008/>
3. Tschochner M, Leary S, Cooper D, et al. Identifying Patient-Specific Epstein-Barr Nuclear Antigen-1 Genetic Variation and Potential Autoreactive Targets Relevant to Multiple Sclerosis Pathogenesis. Sinclair AJ, ed. *PLoS ONE*. 2016;11(2):e0147567. Available in: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4744032/>
4. Magnusson M, Brisslert M, Zendjanchi K, Lindh M, Bokarewa MI. Epstein-Barr virus in bone marrow of rheumatoid arthritis patients predicts response to rituximab treatment. *Rheumatology (Oxford, England)*. 2010;49(10):1911-1919. Available in: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2936947/>
5. Franssila R1, Hedman K. Infection and musculoskeletal conditions: Viral causes of arthritis. *Best Pract. Res. Clin. Rheumatol*. 2006 Dec;20(6):1139-57. Available in: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17127201>
6. Ascherio Alberto, Munger Kassandra L., Lennette Evelyne T., et al. Epstein-Barr Virus Antibodies and Risk of Multiple Sclerosis: A Prospective Study. *JAMA*. 2001;286(24):3083-3088. Available in: <http://jamanetwork.com/journals/jama/fullarticle/194503>
7. Beltramino M. P.; Calmet R.; Gatica Valdes M. Virus de Epstein-Barr y su relación con el desarrollo de enfermedades linfoproliferativas. *Hematología*, Mayo-Agosto, 2005. Vol 9 No 2: 39-54. Available in: <http://www.sah.org.ar/revista/numeros/vol9.n2.39.54.pdf>
8. Kurth Julia, Spieker Tilmann, Wustrow Jochen, et al. EBV-Infected B Cells in Infectious Mononucleosis Viral Strategies for Spreading in the B Cell Compartment and Establishing Latency. *Rev. Immunity*. October 2000. Volume 13, Issue 4, p485-495. Available in: [http://www.cell.com/immunity/fulltext/S1074-7613\(00\)000480?returnURL=http%3A%2F%2Flinkinghub.elsevier.com%2Fretrieve%2Fpii%2FS1074761300000480%3Fshowall%3Dtrue](http://www.cell.com/immunity/fulltext/S1074-7613(00)000480?returnURL=http%3A%2F%2Flinkinghub.elsevier.com%2Fretrieve%2Fpii%2FS1074761300000480%3Fshowall%3Dtrue)
9. Hatton OL, Arnold-Harris A, Schaffert S, Krams SM, Martinez OM. The Interplay Between Epstein Barr Virus and B Lymphocytes: Implications for Infection, Immunity, and Disease. *Immunologic research*. 2014;58(0):268-276. Available in: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4199828/>
10. Takanobu Tagawa, Manuel Albanese, Mickaël Bouvet, Andreas Moosmann, Josef Mautner, Vigo Heissmeyer, Christina Zielinski, Dominik Lutter, Jonathan Hoser, Maximilian Hastreiter, Mitch Hayes, Bill Sugden, Wolfgang Hammerschmidt. Epstein-Barr viral miRNAs inhibit antiviral CD4+T cell responses targeting IL-12 and peptide processing. *Journal of Experimental Medicine* Sep 2016. Available in:

<http://jem.rupress.org/content/early/2016/09/07/jem.20160248>

11. Jiun-Han Lin, Ju-Yin Lin, Ya-Ching Chou, Mei-Ru Chen, Te-Huei Yeh, Chung-Wu Lin, Sue-Jane Lin and Ching-Hwa Tsai. Epstein-Barr virus LMP2A suppresses MHC class II expression by regulating the B-cell transcription factors E47 and PU.1. American Society of Hematology. April 2, 2015. Col. 125 no. 14 2228-2238. Available in: <http://www.bloodjournal.org/content/125/14/2228/tab-figures-only?sso-checked=true>
12. Regueiro González J.R., López Larrea C., González Rodríguez S. y Martínez Naves E. Inmunología: Biología y patología del sistema inmunitario. 4ª edición. Editorial Médica Panamerica, 2010.
13. Albanese M, Tagawa T, Bouvet M, et al. Epstein-Barr virus microRNAs reduce immune surveillance by virus-specific CD8⁺ T cells. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. 2016;113(42):E6467-E6475. Available in: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5081573/>
14. Trempat P, Tabiasco J, Andre P, et al. Evidence for Early Infection of Nonneoplastic Natural Killer Cells by Epstein-Barr Virus. Journal of Virology. 2002;76(21):11139-11142. Available in: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC136608/>
15. Chijioke O, Landtwing V, Münz C. NK Cell Influence on the Outcome of Primary Epstein-Barr Virus Infection. Frontiers in Immunology. 2016;7:323. Available in: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5002423/>
16. Isobe Y, Sugimoto K, Yang L, Tamayo K, Egashira M, Kaneko T, Takada K, Oshimi K. Epstein-Barr virus infection of human natural killer cell lines and peripheral blood natural killer cells. Cancer Res. 2004 Mar 15; 64 (6): 2167-74. Available in: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15026359>
17. Ruth F. Jarret. Etiology of Hodgkin's Disease. Springer Science & Business Media. Dec 6, 2012. Page 68.
18. Palma Ramos Alejandro, Castrillón Rivera Laura Estela, et al. Determinación de IL-10 a partir de células mononucleares humanas estimuladas in vitro con Actinomadura madurae, Nocardia asteroides, Nocardia brasiliensis, Candida albicans y Madurella mycetomatis. Dermatología Rev Mex 2008;52(5):205-10. Available in: <http://www.medigraphic.com/pdfs/derrevmex/rmd-2008/rmd085a.pdf>
19. Slobedman B, Barry PA, Spencer JV, Avdic S, Abendroth A. Virus-Encoded Homologs of Cellular Interleukin-10 and Their Control of Host Immune Function. Journal of Virology. 2009;83(19):9618-9629. Available in: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2747999/>
20. Peter Delves, Seamus Martin, Dennis Burtonn. Roitt. Inmunología: fundamentos. Edición 12. Editorial Médica Panamerica, 2014.
21. Jochum S, Moosmann A, Lang S, Hammerschmidt W, Zeidler R. ed. The EBV Immuno-evasins vIL-10 and BNLF2a Protect Newly Infected B Cells from Immune Recognition and Elimination. Stevenson PG, PLoS Pathogens. 2012;8(5):e1002704. Available in: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3355093/>

22. Draborg AH, Sandhu N, Larsen N, Lisander Larsen J, Jacobsen S, Houen G. Impaired Cytokine Responses to Epstein-Barr Virus Antigens in Systemic Lupus Erythematosus Patients. *Journal of Immunology Research*. 2016;2016:6473204. Available in: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4826706/>
23. Gru AA, Haverkos BH, Freud AG, et al. The Epstein-Barr Virus (EBV) in T Cell and NK Cell Lymphomas: Time for a Reassessment. *Current hematologic malignancy reports*. 2015;10(4):456-467. Available in: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4679542/>
24. Jung Y-J, Choi H, Kim H, Lee SK. MicroRNA miR-BART20-5p Stabilizes Epstein-Barr Virus Latency by Directly Targeting BZLF1 and BRLF1. Longnecker RM, ed. *Journal of Virology*. 2014;88(16):9027-9037. Available in: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4136301/>
25. Torres-Harding S, Sorenson M, Jason LA, Maher K, Fletcher MA. Evidence for T-helper 2 shift and association with illness parameters in chronic fatigue syndrome (CFS). *Bulletin of the IACFS/ME*. 2008;16(3):19-33. Available in: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3018761/>
26. A. Skowera, A. Cleare, D. Blair, L. Bevis, S. C. Wessely, M. Peakman. High levels of type 2 cytokine-producing cells in chronic fatigue syndrome. *The Journal of translational immunology*. 22 January 2004. Available in: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1365-2249.2004.02354.x/full>
27. Conti F, Magrini L, Priori R, Valesini G, Bonini S. Eosinophil cationic protein serum levels and allergy in chronic fatigue syndrome. *Allergy*. 1996 Feb; vol 51 N°2: pag 124-7. Available in: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8738520>
28. Mark A. Demitrack. ePhilip W. Gold. Stephen E. Straus. Plasma and cerebrospinal fluid monoamine metabolism in patients with chronic fatigue syndrome. *Biological Psychiatry*. Volume 32, Issue 12, 15 December 1992, Pages 1065-1077. Available in: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0006322392901875>
29. L. Dechene. Chronic fatigue syndrome: Influence of histamine, hormones and electrolytes. *Medical Hypotheses* Volume 40, Issue 1, January 1993, Pages 55-60. Available in: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/030698779390197X>
30. Casiraghi C, Dorovini-Zis K and Horwitz MS. Epstein-Barr virus infection of human brain microvessel endothelial cells: a novel role in multiple sclerosis. *Journal of Neuroimmunology*. 2011 Jan;230(1-2):173-7. Available in: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20826008/>
31. Iwakiri D, Zhou L, Samanta M, et al. Epstein-Barr virus (EBV)-encoded small RNA is released from EBV-infected cells and activates signaling from toll-like receptor 3. *The Journal of Experimental Medicine*. 2009;206(10):2091-2099. Available in: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2757889/>
32. Qingxue Li, Wei Bu, Erin Gabriel, Fiona Aguilar, Yo Hoshino, Hiroko Miyadera, Christoph Hess, Ronald L. Hornung, Amitava Roy and Jeffrey I. Cohen. HLA-DQB1 alleles associated with Epstein-Barr virus (EBV) infectivity and EBV gp42 binding to cells. *JCI Insight*. 2017 Feb;2(4):e85687. Available in: <https://insight.jci.org/articles/view/85687>

33. Farrell PJ. Role for HLA in susceptibility to infectious mononucleosis. *The Journal of Clinical Investigation*. 2007;117(10):2756-2758. Available in: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1994638/>
34. McAulay KA, Higgins CD, Macsween KF, et al. HLA class I polymorphisms are associated with development of infectious mononucleosis upon primary EBV infection. *The Journal of Clinical Investigation*. 2007;117(10):3042-3048. Available in: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1994627/>
35. Pilli D, Zou A, Tea F, Dale RC, Brilot F. Expanding Role of T Cells in Human Autoimmune Diseases of the Central Nervous System. *Frontiers in Immunology*. 2017;8:652. Available in: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5461350/>
36. Ghasemi N, Razavi S, Nikzad E. Multiple Sclerosis: Pathogenesis, Symptoms, Diagnoses and Cell-Based Therapy. *Cell Journal (Yakhteh)*. 2017;19(1):1-10. Available in: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5241505/>
37. P. L. De Jager, K. C. Simon, K. L. Munger, J. D. Rioux, D. A. Halfer, A. Ascherio. Integrating risk factors: HLA-DRB1*1501 and Epstein-Barr virus in multiple sclerosis. *Neurology* Mar 2008, 70 (13 Part 2) 1113-1118. Available in: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18272866>
38. Pender MP, Csurhes PA, Smith C, et al. Epstein-Barr virus-specific adoptive immunotherapy for progressive multiple sclerosis. *Multiple Sclerosis (Houndmills, Basingstoke, England)*. 2014;20(11):1541-1544. Available in: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4230458/>
39. Xiao L, Hu Z, Dong X, et al. Targeting Epstein-Barr virus oncoprotein LMP1-mediated glycolysis sensitizes nasopharyngeal carcinoma to radiation therapy. *Oncogene*. 2014;33(37):4568-4578. Available in: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4162460/>
40. Zhang C, Liu J, Liang Y, et al. Tumor-Associated Mutant p53 Drives the Warburg Effect. *Nature communications*. 2013;4:2935. Available in: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3969270/>
41. Chan DA, Sutphin PD, Nguyen P, et al. Targeting GLUT1 and the Warburg Effect in Renal Cell Carcinoma by Chemical Synthetic Lethality. *Science translational medicine*. 2011;3(94):94ra70. Available in: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3683134/>
42. Chen J. Roles of the PI3K/Akt pathway in Epstein-Barr virus-induced cancers and therapeutic implications. *World Journal of Virology*. 2012;1(6):154-161. Available in: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3782276/>
43. William J. Israelsen, Matthew G. and Vande Heiden. ATP Consumption Promotes Cancer Metabolism. *Cell*, 24 de noviembre de 2010, Vol. 143, Nº 5. Pages 711-724. Available in: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0092867410012900>
44. Øystein Fluge, Olav Mella, Ove Bruland, Kristin Risa, Sissel E. Dyrstad, Kine Alme, Ingrid G. Rekeland, Dipak Sapkota, Gro V. Røslund, Alexander Fosså, Irini Ktoridou-Valen, Sigrid Lunde, Kari Sørland, Katarina Lien, Ingrid Herder, Hanne Thürmer, Merete E. Gotaas, Katarzyna A. Baranowska, Louis MLJ Bohnen, Christoph Schäfer Adrian McCann, Kristian Sommerfelt, Lars Helgeland, Per M. Ueland, Olav Dahl, y Karl J. Tronstad. Metabolic profiling indicates impaired pyruvate

- dehydrogenase function in myalgic encephalopathy/chronic fatigue syndrome. JCI Insight. 2017;1(21):e89376. Available in: <http://insight.jci.org/articles/view/89376>
45. Robert K. Naviaux, Jane C. Naviaux , Kefeng Li, A. Taylor Bright William, A. Alaynick , Lin Wang , Asha Baxter , Neil Nathan , Wayne Anderson , y Eric Gordon. Características metabólicas del síndrome de fatiga crónica. PNAS, Sep 2016, 113 (37) E5472-E5480. Available in: <http://www.pnas.org/content/113/37/E5472.full>
 46. Delille HK, Bonekamp NA, Schrader M. Peroxisomes and Disease - An Overview. International Journal of Biomedical Science : IJBS. 2006;2(4):308-314. Available in: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3614646/>
 47. Zoi E. Sychev, Alex Hu, Terri A. DiMaio, Anthony Gitter, Nathan D. Camp, William S. Noble, Alejandro Wolf-Yadlin , Michael Lagunoff. Integrated systems biology analysis of KSHV latent infection reveals viral induction and reliance on peroxisome mediated lipid metabolism. PLOS. March3, 2017. Available in: <http://journals.plos.org/plospathogens/article/authors?id=10.1371/journal.ppat.1006256>
 48. Garcia-Bates TM, Peslak SA, Baglole CJ, Maggirwar SB, Bernstein SH, Phipps RP. Peroxisome proliferator-activated receptor gamma (PPAR γ) overexpression and knockdown: Impact on human B-cell lymphoma proliferation and survival. Cancer immunology, immunotherapy : CII. 2009;58(7):1071-1083. doi:10.1007/s00262-008-0625-z. Available in: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3003604/>
 49. Tachibana K, Yamasaki D, Ishimoto K, Doi T. The Role of PPARs in Cancer. PPAR Research. 2008;2008:102737. doi:10.1155/2008/102737. Available in: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2435221/>
 50. Zhas S, Ferdinandusse S, et al. Peroxisomal branched chain fatty acid beta-oxidation pathway is upregulated in prostate cancer. Prostate. 2005 Jun 1;63(4):316-23. Available in: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15599942>
 51. Nelson David L. Lehninger: Principios de bioquímica. Edición 5ª. Editorial Omega. 2007.
 52. Garrido-Maraver J, Cordero MD, Oropesa-Ávila M, et al. Coenzyme Q₁₀ Therapy. Molecular Syndromology. 2014;5(3-4):187-197. Available in: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4112525/>
 53. Korc Israel, Bidegain Margarita, Martell Miguel. Radicales libres Bioquímica y sistemas antioxidantes Implicancia en la patología neonatal. Rev Med Uruguay 1995; 11: 121-135. Available in: <http://www.rmu.org.uy/revista/1995v2/art6.pdf>
 54. Aya Ouchi, Shin-ichi Nagaoka, and Kazuo Mukai. Tunneling Effect in Regeneration Reaction of Vitamin E by Ubiquinol. Department of Chemistry, Faculty of Science, Ehime University, Matsuyama 790-8577, Japan. J. Phys. Chem. B, 2010, 114 (19), PP 6601-6607. Available in: <https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/jp910856m>
 55. Famularo G1, De Simone C, Trinchieri V, Mosca L. Carnitines and its congeners: a metabolic pathway to the regulation of immune response and inflammation. Ann N Y Acad Sci. 2004 Nov;1033:132-8. Available in: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15591010>

56. Dröge W, Holm E. Role of cysteine and glutathione in HIV infection and other diseases associated with muscle wasting and immunological dysfunction. *FASEB J.* 1997 Nov;11(13):1077-89. Available in: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9367343>
57. Gasol Escuer Emma. Transportador de aminoácidos heteromérico xCT Identificación, caracterización funcional y topología. Barcelona 2004. Available in: http://diposit.ub.edu/dspace/bitstream/2445/36263/1/Tesi_Emma_Gasol.pdf
58. Merckx E, Albertini G, Paterka M, et al. Absence of system x_c⁻ on immune cells invading the central nervous system alleviates experimental autoimmune encephalitis. *Journal of Neuroinflammation.* 2017;14:9. Available in: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5237180/#!po=42.2705>
59. Ana Isabel Alcalde Herrero. Importancia del sistema serotoninérgico intestinal. Colegio Oficial de Farmacéuticos de Zaragoza. 2011. Available in: <http://www.academiadefarmaciadearagon.es/docs/Documentos/Documento31.pdf>
60. Mawe GM, Hoffman JM. Serotonin Signaling in the Gastrointestinal Tract:: Functions, dysfunctions, and therapeutic targets. *Nature reviews Gastroenterology & hepatology.* 2013;10(8):473-486. Available in: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4048923/>
61. Kokacya MH, Copoglu US, Kivrak Y, Ari M, Sahpolat M, Ulutas KT. Increased mean platelet volume in patients with panic disorder. *Neuropsychiatric Disease and Treatment.* 2015;11:2629-2633. Available in: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4610766/>
62. Beattie D. T., Smith J. A. M. Serotonin pharmacology in the gastrointestinal tract: a review. *Naunyn-Schmied Arch Pharmacol* (2008) 377: 181. Available in: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18398601>
63. Yeo A et al. Association between a functional polymorphism in the serotonin transporter gene and diarrhoea predominant irritable bowel syndrome in women. *Gut* 3: 1452-1458. 2004. Available in: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1774243/>
64. Belai A, Boulos PB, Robson T, Burnstock G. Neurochemical coding in the small intestine of patients with Crohn's disease. *Gut.* 1997;40(6):767-774. Available in: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1027202/pdf/gut00039-0081.pdf>
65. Coates, Matthew D. et al. Molecular defects in mucosal serotonin content and decrease serotonin reuptake transporter in ulcerative colitis and irritable bowel syndrome. *Gastroenterology.* June 2004. Volume 126, Issue 7, 1657-1664. Available in: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15188158>
66. Costedio MM, Coates MD, Danielson AB, et al. Serotonin Signaling in Diverticular Disease. *Journal of gastrointestinal surgery: official journal of the Society for Surgery of the Alimentary Tract.* 2008;12(8):1439-1445. Available in: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18491196>
67. Bearcroft CP et al. In vivo effects of the 5-HT₃ antagonist alosetron on basal and cholera toxin-induced secretion in the human jejunum: a segmental perfusion study. *Aliment Pharmacol Ther.* 1997 Dec; 11(6): 1109-14. Available in: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/m/pubmed/9663837/>

68. Turvill JL, Farthing MJ. Effect of granisetron on cholera toxin-induced enteric secretion. *Lancet* 1997 May 3;349(9061): 1293. Available in: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9142066>
69. Houghton LA, Atkinson W, Whitaker RP, Whorwell PJ, Rimmer MJ. Increased platelet depleted plasma 5-hydroxytryptamine concentration following meal ingestion in symptomatic female subjects with diarrhoea predominant irritable bowel syndrome. *Gut*. 2003;52:663–670. Available in: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1773651/>
70. Dunlop SP, et al. Abnormalities of 5-hydroxytryptamine metabolism in irritable bowel syndrome. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2005;3:349–357. Available in: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15822040>
71. Atkinson W, Lockhart S, Whorwell PJ, Keevil B, Houghton LA. Altered 5-hydroxytryptamine signaling in patients with constipation- and diarrhea-predominant irritable bowel syndrome. *Gastroenterology*. 2006;130:34–43. Available in: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16401466>
72. Franke L, et al. Serotonin transporter activity and serotonin concentration in platelets of patients with irritable bowel syndrome: effect of gender. *J Gastroenterol*. 2010;45:389–398. Available in: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19997855>
73. Foley S, et al. Impaired uptake of serotonin by platelets from patients with irritable bowel syndrome correlates with duodenal immune activation. *Gastroenterology*. 2011;140:1434–1443. e1. Available in: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21315720>
74. Bellini M, et al. Platelet serotonin transporter in patients with diarrhea-predominant irritable bowel syndrome both before and after treatment with alosetron. *Am J Gastroenterol*. 2003;98:2705–2711. Available in: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14687821>
75. D'Atri LP, Etulain J, Rivadeneyra L, et al. Expression and functionality of Toll-like receptor 3 in the megakaryocytic lineage. *Journal of thrombosis and haemostasis : JTH*. 2015;13(5):839-850. Available in: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25594115>
76. Anabel AS, Eduardo PC, et al. Human platelets express Toll-like receptor 3 and respond to poly I:C. *Hum. Immunol*. 2014 Dec;75(12):1244-51. Available in: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25315747>
77. Costedio MM, et al. Mucosal serotonin signaling is altered in chronic constipation but not in opiate-induced constipation. *Am J Gastroenterol*. 2010;105:1173–1180. Available in: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2872481/>
78. Lincoln J, Crowe R, Kamm MA, Burnstock G, Lennard-Jones JE. Serotonin and 5-hydroxyindoleacetic acid are increased in the sigmoid colon in severe idiopathic constipation. *Gastroenterology*. 1990;98:1219–1225. Available in: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1691117>
79. Latorre Eva, Alcalde Ana Isabel, Mesonero J. E. Implicación del Transportador de Serotonina (SERT) en las patologías inflamatorias intestinales. Departamento de Farmacología y Fisiología. Universidad de Zaragoza. https://www.researchgate.net/publication/266614913_Implicacion_del_Transportador_de_Serotonina_SERT_en_las_Patologias_Inflamatorias_Intestinales

80. Browning KN. Role of central vagal 5-HT₃ receptors in gastrointestinal physiology and pathophysiology. *Frontiers in Neuroscience*. 2015;9:413. Available in: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4625078/#!po=40.3955>
81. Saik RP. Serotonin as an inhibitor of gastrin. *Scand J Gastroenterol*. 1981 Apr; 16(3):337-40. Available in: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16435473>
82. C. H. Cho, K.H. Lai, C. W. Ogle, et al. The role of histamine and serotonin in gastric acid secretion: A comparative study in gastric and duodenal ulcer patients. *Journal of Gastroenterology and Hepatology*. December 1986, 1: 437-442. Available in: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1440-1746.1986.tb00131.x/abstract>
83. Perez Arellano Jose Luis. *Manual de patología general*. 7ª edición. Elsevier Health Sciences. 2013. Página 291.
84. Dukowicz AC, Lacy BE, Levine GM. Small Intestinal Bacterial Overgrowth: A Comprehensive Review. *Gastroenterology & Hepatology*. 2007;3(2):112-122. Available in: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3099351/>
85. Bures J, Cyrany J, Kohoutova D, et al. Small intestinal bacterial overgrowth syndrome. *World Journal of Gastroenterology : WJG*. 2010;16(24):2978-2990. Available in: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2890937/>
86. Sorayya Kheirouri, Parinaz Kalejahi, et al. Plasma levels of serotonin, gastrointestinal symptoms and sleep problems in children with autism. *Turk. J. Med. Sci*. 2016 Dec 20; 46(6):1765-1772. Available in: <http://journals.tubitak.gov.tr/medical/issues/sag-16-46-6/sag-46-6-27-1507-68.pdf>
87. Ghalichi F., Ghaemmaghani J., Malez A. and Ostadrahimi A. Effect of gluten free diet on gastrointestinal and behavioral indices for children with autism spectrum disorders: a randomized clinical trial. *World J. Pediatr*. 2016 Nov;12(4):436-442. Epub 2016 Jun 10. Available in: <http://www.wjpc.com/UploadFile/436.pdf>
88. Lau NM, Green PHR, Taylor AK, et al. Markers of Celiac Disease and Gluten Sensitivity in Children with Autism. *De Re V, ed. PLoS ONE*. 2013;8(6):e66155. Available in: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3688832/>
89. De Magistris L, Picardi A, Siniscalco D, et al. Antibodies against Food Antigens in Patients with Autistic Spectrum Disorders. *BioMed Research International*. 2013;2013:729349. Available in: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3747333/>
90. Marín Serrano Eva. *Pruebas diagnósticas y Manejo de la Intolerancia a la Lactosa, Sobrecrecimiento Bacteriano e Insuficiencia Pancreática Exocrina*. Saned 2015. Available in: http://formaciones.elmedicointeractivo.com/plantillas/down_ROI/documentos_ROI/122_INTOLERANCIA_ALIMENTARIA.pdf
91. Iglesias Alfonso José y Estévez Báez Mario. *Regulación del Sistema Cardiovascular por el Sistema Nervioso Autónomo*. April 13, 2008. Available in: http://fbio.uh.cu/ginvest/mesna/vfc_docs/RegulacionAutonomicaCardiovascular.pdf
92. Nathalie Cloutier, Alexandre Paré, Richard W. Farndale, et al. Platelets can enhance vascular permeability. *Blood* Aug 2012, 120 (6) 1334-1343. Available in:

<http://www.bloodjournal.org/content/120/6/1334.long?sso-checked=true>

93. Milka Koupenova, Lauren Clancy, Heather A. Corkrey and Jane E. Freedman. Circulating Platelets as Mediators of Immunity, Inflammation, and Thrombosis. *Circulation Research*. 2018;122:337-351. Available in: <http://circres.ahajournals.org/content/122/2/337/tab-figures-data>
94. Jason J. Chen, Zhishan Li, Hui Pan, Dennis L. Murphy, Hadassah Tamir, Hermann Koepsell and Michael D. Gershon. Maintenance of Serotonin in the Intestinal Mucosa and Ganglia of Mice that Lack the High-Affinity Serotonin Transporter: Abnormal Intestinal Motility and the Expression of Cation Transporters. *Journal of Neuroscience* 15 August 2001, 21(16) 6348-6361. Available in: http://www.jneurosci.org/content/21/16/6348?ijkey=da60d13d45f91574ef35ed1a15873216044d463c&keytype=tf_ipsecsha
95. Jorgensen H. S. Studies on the neuroendocrine role of serotonin. *Dan. Med. Bull.* 2007 Nov; 54(4):266-88. Available in: http://faculty.virginia.edu/brain_map/L3F/Untitled.pdf
96. Hedger M. P., Khatab S., Gonzales G, de Kretser D.M. Acute and short-term actions of serotonin administration on the pituitary-testicular axis in the adult rat. *Reprod. Fertil. Dev.* 1995;7(5):1101-9. Available in: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8848577>
97. Ali Farid Mohamed Ali M.D., Baha Fateen, et al. Effect of serotonin in the regulation of postmenopausal gonadotropin. *Elsevier, Obstetrics and Gynecology*, April 2000, Vol. 95, Issue 4, Supplement 1, Page S16. Available in: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0029784400006025>
98. Takayuki Ishiwata. Role of serotonergic system in thermoregulation in rats. *J. Phys. Fitness Sports Med.*, 2014, 3(4):445-450. Available in: https://www.jstage.jst.go.jp/article/jpfsm/3/4/3_445/_pdf
99. Veenstra-VanderWeele J, Muller CL, Iwamoto H, et al. Autism gene variant causes hyperserotonemia, serotonin receptor hypersensitivity, social impairment and repetitive behavior. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2012;109(14):5469-5474. Available in: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3325657/>
100. Devlin B., Cook E.H. Jr., Coon H., Dawson G., et al. Autism and the serotonin transporter: the long and short of it. *Mol. Psychiatry*, 2005 Dec; 10(12):1110-6. Available in: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16103890>
101. Paiseka J.L., Longman R.S., Chambers A.J., et al. Cognitive impairment associated with carcinoid syndrome. *Ann. Surg.* 2014 Feb;259(2):355-9. Available in: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23478527>
102. Tsutsui-Takeuchi M, Ushio H, Fukuda M, et al. Roles of retinoic acid-inducible gene-I-like receptors (RLRs), Toll-like receptor (TLR) 3 and 2'-5' oligoadenylate synthetase as viral recognition receptors on human mast cells in response to viral infection. *Immunologic Research*. 2015;61(3):240-249. Available in: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4336646/>
103. Sarah M. Burke, Thomas B. Issekutz, Karkada Mohan, et al. Human mast cell activation with virus-associated stimuli leads to the selective chemotaxis of natural killer cells by a CXCL8-dependent mechanism. *Blood* Jun 2008, 111 (12) 5467-5476. Available in: <http://www.bloodjournal.org/content/111/12/5467.long?sso->

[checked=true#sec-22](#)

104. Lane R, Soteriou B, Zhang H, Archard L. Enterovirus related metabolic myopathy: a postviral fatigue syndrome. Journal of Neurology, Neurosurgery, and Psychiatry. 2003;74(10):1382-1386. Available in: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1757378/>
105. Chen D.Y., Chen Y.M., Lan J.L., et al. Polymyositis/dermatomyositis and nasopharyngeal carcinoma: the Epstein-Barr virus connection?. J. Clin Virol. 20110 Dec; 49(4):290-5. Available in: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1386653210003574>
106. Cheng Yang, Xiujuan Zhu, Ting Zhang and Qing Ye. EBV-HLH children with reductions in CD4+-T cells and excessive activation of CD8+ T cells. Pediatric Research. 2017. 82. 952-957. Available in: <https://www.nature.com/articles/pr2017178>

