

INMUNOLOGÍA ANTIVIRAL

Julio César Klínger Hernández*,
Ana Lorena Sánchez Bonilla**

Key Words: Antiviral Cytokine, Th1/Th2, Lymphocytes, Virocina, Immunity

ABSTRACT

This writing is about how the immune system fights back viruses, those germs that are unable to grow outside of cells but replicate in the cytoplasm. The main involved cells are the cytotoxic ones: NK cells in innate immunity and CD8 cells in the specific, which are driven by IFN- α - β , and IL-12 from the innate immunity, and IFN- γ , IL-2, TNF from the specific immune system. So that the cellular cytotoxic immune system and Th1 cytokines perform the main way for clearing viruses from the host. All of those immunological cells and molecules could be detected by flowcytometry showing up the immunological status of a host, so that the cytokine chain could be dissected during the different stages of viral infections and reflect disequilibrium that causes the different clinical settings or complications of virus infections. In addition, new evidences show that viruses could imitate cytokine and other leucocyte actions looking for a way to escape from immune system.

INTRODUCCIÓN

Los virus han sido amenaza constante para la humanidad y su conocimiento se ha desarrollado durante el siglo XX, especialmente en los últimos 20 años⁽¹⁾. Entre varios hechos importantes que están transformando la Virología y la Inmunología de destacan: 1- La aparición o emergencia de nuevos y viejos virus en el mundo y su asociación a enfermedades crónicas y malignidad^(1,2,3). 2- El sistema inmune no solo actúa como defensa sino también como

órgano blanco porque varios virus son leucocitotróficos, como por ejemplo el Virus de la Inmunodeficiencia Humana (VIH) y el Virus de Epstein Bar (EBV)^(4,5,6) 3- Los progresos tecnológicos y conceptuales en Biología Molecular permiten mayor profundidad de la fisiología celular (Ejemplo: Reacción en Cadena de Polimerasa: PCR)⁽¹⁾. Este escrito revisa la participación de los diferentes compartimentos del sistema inmune en la defensa antiviral y las interacciones ejercidas por productos virales⁽⁷⁾ en la regulación inmunológica efectuada por las quimiocinas y citoquinas⁽⁸⁾.

* Especialista en Medicina Interna (Unicauca) & Master en Inmunología y Microbiología (U. Of Louisville, Kentucky, USA). Profesor del Departamento de Medicina Interna. Laboratorio de Investigaciones Inmunológicas e Infecciosas. Facultad Ciencias de la Salud- Universidad del Cauca- Popayán- Colombia.

** Estudiante en Internado Rotatorio Hospital San José de Popayán, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad del Cauca

VIROLOGÍA BÁSICA

Un virus es una cinta de información genética envuelta en una o varias proteínas que reconocen su receptor celular (trófismo) para fusionarse con la célula blanco⁽¹⁻²⁾ (generalmente el receptor es una molécula inmunológica). Una vez libre en el citoplasma, el ADN o ARN viral reproducen sus componentes (glicoproteínas, ADN o ARN) para ensamblar nuevos viriones. Los virus son citopáticos y no citopáticos produciendo enfermedades que pueden ser fulminantes, agudas, latentes y persistentes sin conocerse claramente los mecanismos y causas de esta variedad de presentaciones⁽¹⁾.

SISTEMA INMUNE

Es un conjunto de células y moléculas que actúan coordinadamente para la defensa del organismo contra células y moléculas extrañas. Tiene una fase inespecífica o innata efectuada por los macrófagos (Mq), células dendríticas y células citotóxicas naturales (NK) y otra fase específica o adquirida constituida por los sistemas: Humoral compuesto por los linfocitos B y sus secreciones (anticuerpos) e Inmunidad Celular efectuada por los linfocitos T (CD3)^(8,9).

Funcionalmente los linfocitos T se dividen en dos subpoblaciones: T ayudadores (Th) identificados con la molécula CD4 sobre su superficie y linfocitos T supresores/citotóxicos (Ts/c) caracterizados por la proteína CD8^(8,9). Los linfocitos Th son centrales en inmunoregulación porque además de ser efectores, las Células Presentadoras de Antígenos (APC, de la sigla en inglés Antigen Presenting Cells) les presentan los antígenos; determinan el tipo de inmunidad específica que se va a originar (humoral vs celular); determinan la intensidad y tiempo de la respuesta inmune; regulan la inflamación generada en la inmunidad innata y ayudan y dirigen la producción de las diferentes clases y subclases de anticuerpos^(8,9).

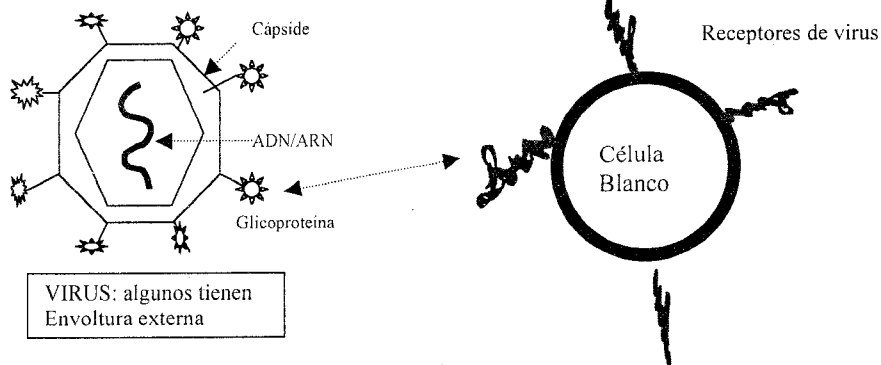


Figura 1.

Esquema de la estructura viral e interacción virus y célula huésped.

COMUNICACIÓN INMUNOLÓGICA E INMUNOREGULACIÓN

Las células inmunes se comunican entre sí específicamente e inespecíficamente por dos vías, contacto célula-célula y factores solubles⁽⁶⁾. Entre las interacciones célula-célula se destaca el sistema de presentación de antígenos por medio de las células presentadoras (APC: macrófagos, células dendríticas y linfocitos B), del sistema innato a los linfocitos Th del específico, induciendo inmunidad adquirida. Ello ocurre porque pequeños fragmentos de péptidos antigénicos (epítopes) son barridos y expuestos sobre la superficie de la célula presentadora o infectada, por las moléculas de histocompatibilidad (MHC)^(8,9,10).

Las moléculas MHC también se denominan HLA y existen dos clases: I y II. Las MHC clase I son Ia y Ib; la clase Ia son A, B, C y la Ib es G^(8,9,11). Ellas son expresadas en todas las células nucleadas del organismo y su misión es sacar de las células proteínas degradadas, mientras que las MHC clase II son D, DR, DP y DQ expresadas constitutivamente en células presentadoras de antígenos (APC: macrófagos, linfocitos B y células dendríticas). Interesantemente las MHC clase Ia son reconocidas y estimulan linfocitos CD8, y las Ib células NK, mientras que las MHC clase II estimulan células Th o CD4^(8,9,10).

La comunicación por factores solubles es muy importante en las respuestas inmunes porque de ella depende la calidad y la intensidad de la respuesta. Estos factores son las Interleukinas o citoquinas, que son un grupo cada vez más grande de péptidos de bajo peso molecular (alrededor de 120 péptidos) inducidas transitoriamente en células inmunes; actúan en rangos picomolares y tienen receptores específicos sobre la membrana superficial de las células, a las cuales se adhieren enviando señales.

estimuladoras o inhibitorias al núcleo para la expresión de genes. Cuando son producidas por los macrófagos se llaman monoquinas y linfoquinas si es por linfocitos^(8,9,12,13).

Actualmente se pueden distinguir cuatro tipos de citoquinas según su función inmune: citoquinas proinflamatorias (generadas por la inmunidad inespecífica⁽¹⁰⁾, citoquinas que actúan en inmunidad humoral⁽¹¹⁻¹²⁾, citoquinas que actúan en Inmunidad celular⁽¹¹⁻¹²⁾ y citoquinas con acciones extra-inmunológicas (hemopoiesis, osteogénesis)^(8,9,13).

RESPUESTA INMUNE ANTI-INFECCIOSA

Se conocen tres grandes grupos de gérmenes de acuerdo al sitio de replicación: gérmenes de crecimiento extracelular o en superficies, aquellos que crecen

intracelularmente en fagosomas y los de crecimiento intracelular libre en el citoplasma⁽⁹⁾. Esto determina que las estrategias para la lucha anti-infecciosa sean diferentes en cada situación.

Los gérmenes extracelulares son las bacterias piógenas cuya defensa innata es fagocitosis y la específica es humoral (anticuerpos y complemento) mientras que la defensa para los de crecimiento intracelular es principalmente inmunidad celular, donde los macrófagos y las células NK son la línea innata y la específica es realizada por linfocitos T. Las 2 sub-poblaciones de células T, CD4 Th y CD8 Tsc, tienen función diferente en la lucha contra gérmenes intracelulares: las células Th CD4 actúan contra aquellos que crecen en fagosomas produciendo Interferón- γ que estimula (entrena) macrófagos para destrucción de los gérmenes presentes en los fagosomas; los linfocitos CD8 son citotóxicos directos contra células infectada por aquellos de crecimiento libre en el citoplasma (virus)⁽⁹⁾.

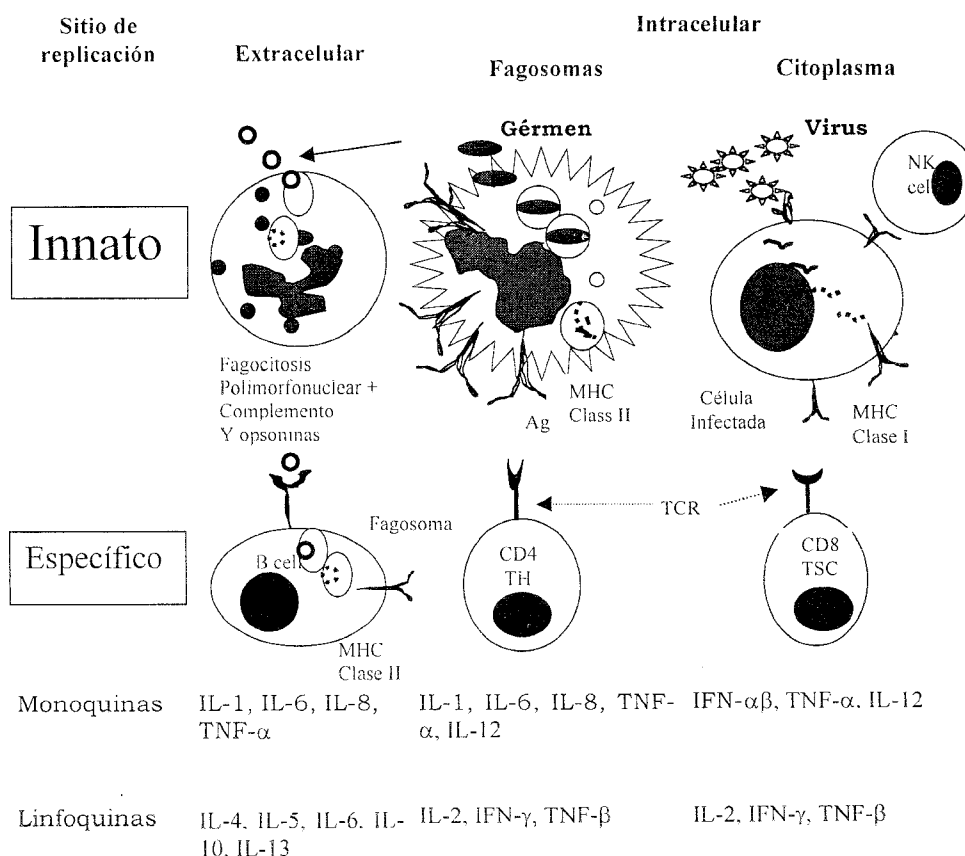


Figura 2.
Tipo de respuesta inmune anti-infecciosa según el compartimiento donde crece el germen.
Adaptado de referencia 9

Respecto a las citoquinas, se ha observado que desde el sistema innato se estimula o se empieza a programar la inmunidad específica hacia humoral vs. celular así: altos niveles de IL-6 estimulan linfocitos B para la presentación de antígenos a los Th desarrollando inmunidad humoral, mientras IL-12 secretada por Mj y células NK estimulan inmunidad celular ^(14,15).

RESPUESTA INMUNE ANTI-VIRAL

Los tres compartimientos del sistema inmune actúan con mayor o menor papel en la defensa antiviral (sistemas innato, celular y humoral), pero la respuesta es eminentemente celular tipo citotóxico (CD8). ^(8,9,16,17,18,19,20)

Los virus al penetrar la célula blanco reproducen sus proteínas y se replican mientras que la célula infectada se defiende impidiendo la producción de los dos componentes virales ADN/RNA y proteínas, así: 1- La célula enferma induce la síntesis de interferones a y b para frenar la síntesis de nuevo DNA o RNA viral y 2- Los péptidos virales son digeridos y presentados a las células NK por MHC clase Ib mientras que las MHC clase Ia presentan los antígenos a los linfocitos CD8 o Ts/c. ^(14,15,16) Interesantemente las MHC clase Ia inhiben la actividad NK mientras que las Ib la estimulan, lo que tiene significado biológico importante porque uno de los mecanismos de escape viral del ataque inmune es reduciendo la expresión de MHC clase Ia. ^(9,20)

La respuesta inmune antiviral se diferencia netamente de la respuesta inmune contra gérmenes de crecimiento también intracelular pero procesados en fagosomas (enfermedades granulomatosas), donde predominan los linfocitos Th a quienes la presentación de los antígenos por las APC se realiza por MHC clase II. ^(9,19,21,22)

Las diferencias en la respuesta inmune anti-viral frente a la de enfermedades granulomatosas y bacterianas perfectamente se ve en la relación CD4/CD8 que normalmente es de 1.5. Esta se reduce e invierte en las enfermedades virales por predominio de linfocitos CD8 ^(9,19,23,24) profundizada muchas veces por linfocitopenia CD4 o Th grave (SIDA) mientras que en las granulomatosas esta relación es estable o discretamente incrementada. ^(9,21,22)

Esta disparidad en las sub-poblaciones de linfocitos T durante las infecciones virales es vista en Citometría de Flujo y correlacionada perfectamente con demos-

tración por otras tecnologías de virus como VIH-SIDA, citomegalovirus (CMV), EBV, Hepatitis B, Hepatitis C, papilomavirus generalizado en piel, sarcoma de Kaposi sin SIDA (de etiología viral).

Los inmunidad humoral también es parte de la inmunidad antiviral porque los anticuerpos neutralizan los viriones extracelulares para que no se fijen a la célula blanco y además colaboran en citotoxicidad mediada por anticuerpos e importantemente los anticuerpos han sido la gran ayuda para el diagnóstico viral durante este siglo ^(8,9,17,18).

ACTIVACIÓN CELULAR

Además de observar diferencias en las sub-poblaciones linfocitarias, la citometría de flujo también informa sobre el estado de activación de los linfocitos T por medio de la expresión de HLA-DR (los linfocitos en reposo no las expresan). Durante todo el transcurso de la infección por VIH se expresa este marcador en 70% a 95% de la células T, reduciéndose pero persistiendo aún largo tiempo después de empezar la terapia con antiretrovirales, aun con mejoría de la relación CD4/CD8 ^(8,26). La anterior situación es contrastada por las enfermedades granulomatosas en las cuales la relación CD4 es estable pero se puede observar importante activación inmunológica por expresión de HLA-DR en 30% a 50% de los linfocitos T.

También otras enfermedades virales no VIH que no inducen tanta activación HLA-DR e incluso algunos como CMV la pueden reducir por inhibición de la síntesis e interferencia en el transporte a la superficie celular ^(3,6,11,20).

Otro marcador importante de activación inmune antiviral es la expresión de CD38 sobre el 90% a 100% de células CD8, mientras que en otro tipo de enfermedad infecciosa como las granulomatosas este porcentaje es de 50% a 70% y en bacterianas muy discreto ⁽²⁸⁾.

CITOQUINAS Y VIRUS

Las interleuquinas actúan en cadenas, realizando la regulación inmune en el sistema innato y en el específico. En esta última el principal papel es del linfocito Th (CD4) el cual secreta las citoquinas que estimulan a los linfocitos B para la síntesis de las diferentes clases de inmunoglobulinas y también las citoquinas que inducen la defensa celular ^(8,9,15,16,17).

El linfocito T maduro y virgen en reposo, denominado Th promotor (Tp), utiliza únicamente IL-2 como factor de crecimiento. Luego de activada la célula es inducida a producir todo el "set o perfil" de citoquinas que estimulan los linfocitos B para la síntesis de inmunoglobulinas (IL-4, IL-5, IL-6, IL-10, IL-13) y simultáneamente produce las citoquinas que activan inmunidad celular (IL-2, IFN- γ y Factor de Necrosis Tumoral TNF- β o linfoxina).

Después de 18 horas, el linfocito Th se polariza hacia inmunidad celular vs humoral porque silencia los genes que producen un perfil de citoquinas mientras estimula el perfil opuesto. Si se induce inmunidad humoral el linfocito se llama Th2 y si es celular Th1. La regulación cruzada se hace porque las citoquinas Th1, específicamente Interferón- γ (IFN- γ) que es el más potente activador de macrófagos es inhibido por IL-4 que es una citoquina antiinflamatoria como la mayoría de las citoquinas Th2 y viceversa ^(8,9,29,30).

La respuesta ideal contra los virus es Th1 porque elimina las células infectadas por gérmenes de crecimiento libre en el citoplasma mientras que la respuesta Th2 no es beneficiosa y puede producir complicaciones como enfermedad de complejos inmunes por exceso de Antígeno-anticuerpo ^(30,31).

La respuesta Th1 esta signada desde la fase inespecífica de la respuesta inmune porque las células NK y los macrófagos inducen la producción de Interleukina 12, la cual estimula la secreción de IFN- γ (la citoquina principal determinante del Th1) líder ^(9,14,15).

La polarización Th1/Th2 está explicando porqué un mismo germen produce dos cuadros clínicos opuestos como por ejemplo: lepra tuberculoide o localizada donde las citoquinas son Th1 mientras que en la lepromatosa predominan las Th2 coincidiendo con hipoactividad de la inmunidad humoral; así esta polarización parece muy importante en el desenlace final de enfermedades virales crónicas como VIH donde hay evidencias crecientes demostrando como el colapso del sistema inmune comienza cuando empieza a perder paulatinamente la producción de citoquinas Th1, mientras sube la producción de citoquinas Th2 ^(4,7,8,12,26,29,30,34,39,41).

Fuera de la polarización Th1-Th2 otros hechos importantes ocurren con las citoquinas durante las enfermedades virales, que día a día cobran más importancia y claridad porque explican mecanismos de enfermedad antes no entendidos como inmunodeficiencia ⁽¹⁷⁾, ca-

quexia, cáncer ^(32,33), autoinmunidad y fibrosis ^(35,36). Los ejemplos más notorios son:

- 1- Algunos virus poseen genes con productos muy similares bioquímica y biológicamente a las citoquinas llamadas viroquinas, las que simulan la acción de las citoquinas del huésped. Un ejemplo de esta situación es el virus de Epstein-Barr (EBV) que tiene un gen similar a IL-10 que es antiinflamatoria antagonizando las citoquinas Th1 y desarmando células citotóxicas antivirales y tumorales (EBV ha sido asociado al desarrollo de linfomas principalmente de células B, especialmente en pacientes con inmunodeficiencias). El virus del herpes humano tipo 8 (HHV-8) posee IL-6 que es uno de los más potentes inductores de la inmunidad humoral, porque es factor de maduración de las células B. Ambos, el virus y la citoquina han sido asociados al desarrollo de mieloma múltiple, mixoma cardíaco y sarcoma de Kaposi en pacientes VIH positivos y negativos. Estas dos citoquinas Th2 están elevadas enormemente en pacientes con infección por VIH avanzada mientras hay déficit extremo de IFN- γ e IL-2 ⁽³⁴⁾.
- 2- "Secuestro" de quemoquinas hechas por las células infectadas por los virus, así las acciones de estas moléculas son inhibidas y la respuesta inmune antiviral deficiente favoreciendo el escape del germen ^(3,6).
- 3- Superantígenos. Descritos para virus fulminantes como el de la Rabia, EBV, Ebola, son moléculas codificadas en gérmenes (bacterianos, virales y parasitarios) que no son procesadas por las células presentadoras de antígenos pero que se asocian a la parte externa (no específica del receptor para el antígeno de las células T, estimulándolas en forma policlonal e inespecífica para producir gran cantidad de todas las citoquinas induciendo gran toxicidad e inflamación sistémica. El prototipo de esta situación es el de las toxinas del choque tóxico estafilocócico ⁽³⁷⁻³⁸⁾.

CONCLUSIONES

La inmunología viral esta cambiando muy rápido gracias a los avances en otras áreas de las ciencias ⁽¹⁾. Específicamente la interacción huésped patógeno es muy importante para el desenlace de la enfermedad. Para entender esto, los avances tecnológicos como la citometría de flujo ⁽³⁹⁾ y la biología molecular colaboran diseccionando el sistema inmune y los gérmenes a nivel

muy íntimo en todas las etapas de la enfermedad, ayudando a entender las estrategias usadas por los "bichos" para subvertir y escapar del sistema inmune y las estrategias de este último para limpiar el organismo del ataque microbiológico.

Quedan todavía muchas preguntas para resolver, pero a la luz de los vertiginosos avances científicos el futuro parece prometedor en virología e inmunología, lo cual permitirá entre otras cosas descubrir virus nuevos o emergentes, explicar mecanismos de enfermedades tales como cáncer y autoinmunes, hacer mejores vacunas y mejores terapias.

BIBLIOGRAFIA

- 1- Wang, F., E. Kieff. Medical Virology. In Harrison's Principles of Internal Medicine. Fauci, Braunwald, et al (Editors), volume 1, chapter 182. 1065-1080. (1998) MacGraw-Hill.
- 2- Mesnard, J.M. and Devaux C. Multiple control levels of cell proliferation by human T-cell Leukemia virus type 1 tax protein. *Virology* 257:277-284. 1999.
- 3- Sweet, Clive. The pathogenicity of Citomegalovirus. *FEMS Microbiology reviews*. 23:457-482. 1999.
- 4- Mathé, G., Colasanté U. and cols. Will killing the last HIV1 particle cure AIDS patients? II: Second part. Decrease of viral load and T-suppressor cells, and increase of the cytotoxic cells, without effect on CD4, after the use of 10 virostatics applied in 3 or 4 drug combinations of different sequences. The time for CD4 immunotherapy? *Biomed & Pharmacother*. 50: 473-479. 1996.
- 5- Makino, M., Shimokubo S. and cols. The role of human T-Lymphotropic virus Type 1 (HTLV-1)-Infected dendritic cells in the development of HTLV-1-Associated myelopathy/tropical spastic paraparesis. *Journal of virology*. 73:4575-4581. 1999.
- 6- Abducción de chemoquinas elements by herpesviruses. *Seminars in Virology* 8, 377-385 (1998)
- 7- Romagnani, S., R. Del Prete, R. Mannetti, A. Ravina, F. Anunziato, M. De Carli, R. Mazzetti, P. Piccinni, M. M. De lios, P. Parronchi, S. Sampognaro & G. Maggi. Role of Th1/Th2 Cytokines in HIV Infection. *Immunological Reviews*. N° 140:73-92. 1994
- 8- Haynes, B. F. Disorders of the immune system. In Harrison's Principles of Internal Medicine. Fauci, Braunwald, Isselbacher, et al (Editors). 14 th edition. Chapter 305:1753-1776. McGrawHill. 1998
- 9- Janeway, Ch. A., and P. Travers. Host defense against infection. In Immunobiology. The Immune System in Health and Disease. Second Edition. Chapter 9. Churchill-Livingstone. Current Biology Publishers. 1996.
- 10- Carpenter, Ch. B. The mayor histocompatibility gene complex. In Harrison's Principles of Internal Medicine. Fauci, Braunwald, Isselbacher, et al (Editors). 14 th edition. Chapter 306:1777-1983. McGrawHill. 1998.
- 11- Hviid, T. V. F., and Morling Neils. Survival of fetuses and viruses: universal mechanisms of Coexistence with an immunological potent host. *Amer. J. of Reproduct Immunol*. 41:353-355. 1999
- 12- Mossman, T. R., R. L. Coffmann. Th1 and Th2 cells: different patterns of lymphokine secretion lead to different functional properties. *Ann. Rev. of Immunology*. 7:145. 1989
- 13- Arai, K., F. Lee., A. Miyajima, S. Myyatake, N. Arai., T. toota. Cytokines: Coordinators of the Immune and inflammatory responses. *Annual review of Biochemistry* 59:783-836. 1990.
- 14- Biron, C. A., K. B. Nguyen., G. C. Pien, L. P. Cousens, T. P. Salazar- Mather. Natural Killer cells in antiviral defense: function and regulation by innate cytokines. *Annu. Rev. Immunol*. 17:189-220 1999
- 15- Biron, C. A., J. S. Orange. IL-12 in acute viral infectious diseases. In Immunoregulation by interleukin 12. 62 Forum of immunology. Viena-Austria 1996
- 16- Fauci, A. S. & H. C. Lane. Human Immunodeficiency syndrome virus (HIV) disease: AIDS and related disorders. In Harrison's Principles of Internal Medicine. Fauci, Braunwald, Isselbacher, et al (Editors). 14 th edition. Chapter 306:1777-1983. McGrawHill. 1998.
- 17- Brudler, M. A., P. Aichele., M. Bachmann., D. Kitamura., K. Rajewski. And R. M. Zinkernagel. Immunity on B cell deficient-mice: influence of the antibodies on virus persistence and on T cell memory. *European Journal of Immunology*. 26:2257. 1996.
- 18- Lin, M. T., D.R. Hinton., N. W. Marten, C. C. Bergmann., and S. A. Stohlman. Antibody prevents virus reactivation within the central nervous system. *Journal of Immunology*. 162:7358-7368. 1999
- 19- Morrison, L. A., Lukacher, A. E. Braciale,

- V. L. Fan, and T. J. Braciale. Differences in antigen presentation to MHC class I and class II restricted influenza virus specific cytolytic T lymphocyte clones. *J. Exp. Med* 1986, 163:903
- 20- Zinkernagel, Rolf M., and Hengartner. Antiviral Immunity. *Immunology Today* 258:18:6:258-59. 1997
- 21- Xing, Z., Wang J. and cols. Protection by CD4 or CD8 T cells against pulmonary Mycobacterium bovis Bacillus Calmette-Guérin Infection. *Infection and Immunity*. 66: 5537- 5542.1998.
- 22- Orme, I., M., P. Andersen, and W. H. Boom. T cell response to Mycobacterium tuberculosis. *J. of Infect. Diseases*. 167:1481-1497. 1993.
- 23- Jaye, A., A. F. Magnusen, A. D. Sadiq, T. Corrah., H. C. White. E-vivo analysis of cytotoxic T lymphocytes to measles antigens during infection and after vaccination in gambian children. *Journal of clinical Investigon*. 102;11:1969-1977. 1998
- 24- Cooper, D. A., B. Tindall., E. J. Wilson., A. A. Imrie, R. Peny. Characterization T lymphocyte response during primary infection with human immunodeficiency virus. *J. Infect. Dis*. 157:889-96. 1988
- 25- Abducción de chemoquinas elements by herpesviruses. *Seminars in Virology* 8, 377-385 (1998)
- 26- Romagnani, S., R. Del Prete, R. Manneti, A Ravina, F. Anunziato, M. De Carli, R. Mazzetti, P. Piccinni, M. M. De'lios, P. Parronchi, S. Sampognaro & G. Maggi. Role of Th1/Th2 Cytokines in HIV Infection. *Immunological Reviews*. Nº 140:73-92. 1994
- 27- Mackewics, C. E., H.W. Ortega, J. A. Levy. CD8+ cell anti-VIH activity correlates with the clinical state of the infected individual. *Clinical Investigation*. 1462-1466. 1991.
- 28- Ho, NN, L. E. Hultin, R. T. Mitsuyasu, et al. Circulating HIV-specific CD8+ cytotoxic T cells express CD38 and HLA-DR antigens. *Journal of immunology*. 150:3070. 1993
- 29- Fernandez Botran-, R., V. M. Sanders., T. R. Mossman, E. S. Viteta. Lymphokine mediated regulation of the proliferative response of clone t helper 1 and Th 2 cells. *Journal of Experimental Medicine*. 168:543-548. (1988).
- 30- Fitzgerald, T. J. The Th1/Th2-like switch in syphilitic infection: is it detrimental?. *Infection and immunity* 60:3475-34789
- 31- Khana, S. R. Burrows, J. D. Moss. Immune regulation in Epstein-Barr virus-asasociated diseases. *Microbiological Reviews*. 59:3:387405. 1995.
- 32- Hamilton-Dutoit, S. J., M. Raphael, J. Audoin, I. Lisse., C. Pedersen., et al. In situ demonstratio of Epstein-Barr virus smal RNA (EBER 1) in acquired immunodeficiency syndrome-related lymphomas: correlation eith tumor morphology and primary site. *Blood* 82:61. 1993
- 33- Gariglio, P., Benitez L., and cols. Therapeutic uterine-cervix cancer vaccines in humans. *Archives of Medical research*. 29:279-284.1998.
- 34- Emilie, D., R. Fior., L.Llorente., a. Margaiing-Koka., M. Puchmaur., B. Jarrouse, J. Wijdenes., F. Boue., P. Galanud. Cytokines from lymphoid organs of HIV-infected patients: production and role in the immune disequilibrium of the disease and the development B lymphomas. *Immunological Reviews*.140:5-34 1994.
- 35- Pascual, M., R.D. Swinford, J. R. Ingelfinger., W. W. Williamms., A. B. Cosimi., N. Tolckoff-Rubin. Chronic rejection and chronic cyclosporin toxicity in renal allografts. *Immunology Today*. 19;11:514-518 1998
- 36- Durandy, A., D. Emilie., M. Pechmauer, M., Forveille, M. Clement., C. Widjnes, and A. Fisher. (1994) Role of IL-6 in promoting growth of human EBV-induced B cell tumors in SCID mice. *Journal of Immunology*.
- 37- Posnet, D. N. Viral superantigens in humans. A potential role in HIV and CMV infection: In Superantigens: structure , biology and relevance to human diseases. D. Y. M. Leung, B. Huber, P. Schlievert (eds). New York, Marcel Deckker, Marvel:503. 1997
- 38- Bernal, A., T. Proftn Frase, J. D., and D. Posnett. Superantigens in Human Disease. *Journal of clinical immunology* 19:3: 1999
- 39- Prussin, Calman. Cytokine flow cytometry: understanding cytokine biology at the single cell level. *Journal of Clinical imunology*. 17;3:195-204.1997
- 40- Elson, L. H., T. B. Nutman., D. D. Metcalf., C.Prussinj. Flow cytometric analysis for cytokine production identifies t helper 1, T helper , and Thelper 0 within the human CD4+CD27- lymphocyte subpopulation. *Journal of immunology*. 154(9):4294-4301. 1995
- 41- Shearer, G., and M. Clericci. Protective Immunity against VIH infection: has done nature the experiment for us? *Immunology Today*. 17 ; 1:21-24. 1996