



EL SABER DE MIS HIJOS
HARA MI GRANDEZA

UNIVERSIDAD DE SONORA UNIDAD REGIONAL SUR

DEPARTAMENTO DE CIENCIAS QUIMICO BIOLÓGICAS
Y AGROPECUARIAS

“PROTEINAS NSP1 Y NSP3 DE ROTAVIRUS Y SU RELACION CON INFECCIONES SISTEMICAS”

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

QUÍMICO BIÓLOGO CLÍNICO

PRESENTAN

**ALMA LOURDES LÓPEZ VÁZQUEZ
SERVANDO HORACIO CANTU BERNAL**

Universidad de Sonora

Repositorio Institucional UNISON



"El saber de mis hijos
hará mi grandeza"



Excepto si se señala otra cosa, la licencia del ítem se describe como openAccess

APROBACIÓN

Los miembros del jurado asignados para revisar la Tesis Profesional de Alma Lourdes López Vázquez y Servando Horacio Cantú Bernal, la han encontrado satisfactoria y recomiendan que sea aceptada como requisito parcial para obtener el título de Químico Biólogo con especialidad en Análisis Clínicos.



cDra. Guadalupe González Ochoa
Directora



Q.B. Silvia Elena Rodríguez Márquez
Secretario

Q.B. Juan José Bojórquez Guardado
Vocal



M.C. Rosa Amelia Vázquez Curiel
Suplente

DECLARACIÓN INSTITUCIONAL

Se permite y agradece las citas breves del material contenido en este trabajo de Tesis Profesional sin permiso especial de los autores, siempre y cuando se dé crédito correspondiente a los autores y a la Universidad de Sonora, Unidad Regional Sur.

La publicación es comunicación científica o de divulgación popular de los datos contenidos en este trabajo de tesis, deberá dar créditos a la Universidad de Sonora, previa aprobación escrita del manuscrito en cuestión del Director de Tesis.

A handwritten signature in blue ink, consisting of several loops and a long horizontal stroke, positioned above a solid horizontal line.

M.C. Ramona Icedo García

Jefe del Departamento de Ciencias Químico Biológicas

AGRADECIMIENTOS

A nuestros padres. En especial a Yanet Bernal, porque quiero que sienta que este logro también es tuyo.

A Alma Vázquez por estar siempre a mi lado, apoyándome.

A nuestros amigos. Por su muy sincera amistad que ha sido construida a base de respeto y cariño. Gracias por sus consejos que han marcado huella en este recorrido.

A nuestros maestros. Por sus enseñanzas y apoyo durante el tiempo que compartimos. En especial a la cDra. Guadalupe González Ochoa por todo el apoyo brindado, tiempo y dedicación a este proyecto.

Dedicatoria

A mi fiel compañero, en esta larga travesía.

CONTENIDO

Sección	Pág.
OBJETIVOS	I
RESUMEN	II
INTRODUCCIÓN	iii
JUSTIFICACIÓN	V
1. Generalidades de Rotavirus	1
1.1 Historia	1
1.2 Estructura	2
1.2.1 Características de la partícula viral	2
1.2.2 Características del Genoma viral	5
1.2.3 Proteínas estructurales	5
1.2.4 Proteínas no estructurales	6
1.3 Clasificación de los Rotavirus	8
1.3.1 Clasificación por grupos	8
1.3.2 Clasificación por serotipos	9
1.3.3 Clasificación por genotipos	9
1.4 Epidemiología	13
1.5 Vacunas	16
2. Patogénesis viral	18
2.1 Fisiología del intestino delgado	18
2.2 Ciclo replicativo y su relación con alteraciones histopatológicas	23
2.3 Fisiopatología de la infección por Rotavirus	26
2.4 Síntomas	28
3. Respuesta Inmune contra Rotavirus	29
3.1 Respuesta inmune celular contra rotavirus	30
3.1.1 Inmunidad innata	31
3.1.1.1 Función del interferon de tipo I en infecciones virales	32
3.1.2 Inmunidad adaptativa	33

3.1.2.1 Inmunidad humoral	33
3.1.2.2 Inmunidad celular	35
4. Infección sistémica por Rotavirus	37
4.1 Características de las infecciones localizadas y sistémicas	37
4.2 Antigemia y viremia	38
4.3 Incidencia de infecciones sistémicas	40
4.4 Manifestaciones clínicas y complicaciones	43
4.5 Proteínas celulares y virales que participan en la diseminación del virus	43
4.6 Mecanismos de diseminación extraintestinal	45
5. Estrategias de rotavirus para la evasión del sistema inmune celular y su relación con infecciones sistémicas	46
5.1 Variabilidad Genética: Recombinación y rearrreglos genéticos	46
5.2 Participación de la proteína NSP1 en la evasión del sistema inmune y diseminación viral	49
6. Diagnóstico clínico	52
7. Tratamiento	55
8. Conclusiones y perspectivas	59
BIBLIOGRAFIA	61
ANEXOS	69

LISTA DE TABLAS

Sección	Pág
Tabla 1: Proteínas y sus genotipos de Rotavirus.	12
Tabla 2: Diversidad de Genotipos y cepas recombinantes.	48

LISTA DE FIGURAS

Sección	Pág.
Figura 1: Representación de la estructura de Rotavirus.	4
Figura 2: Imagen esquemática de rotavirus donde se representa cada uno de los segmentos de ARN y la proteína que codifica.	7
Figura 3: Clasificación de Rotavirus en base a sus características antigénicas y genotípicas.	11
Figura 4: Frecuencia de genotipos G/P aislados en diferentes partes de Latinoamérica.	15
Figura 5: Descripción anatómica del intestino delgado.	19
Figura 6: Morfología de las vellosidades intestinales y subcapas del intestino delgado.	20
Figura 7: Representación de los elementos que compone el tejido linfoide asociado a intestino.	22
Figura 8: Ciclo de replicación de Rotavirus.	25
Figura 9: Respuesta inmune contra Rotavirus.	36
Figura 10: Mecanismos de evasión de la inmunidad innata por Rotavirus.	51

OBJETIVO GENERAL

Analizar la actividad de NSP1 y NSP3 en relación con procesos infecciosos sistémicos causados por rotavirus.

OBJETIVOS ESPECIFICOS

- Describir la patogénesis de rotavirus.
- Describir la actividad de NSP1 en relación con infecciones sistémicas.
- Describir la actividad de NSP3 en relación con infecciones sistémicas.

RESUMEN

Rotavirus se ha descrito como el principal agente causal de gastroenteritis en niños menores de 5 años. Al año se reportan 111 millones de casos de hospitalización causada por rotavirus, de los cuales aproximadamente 10,000 casos se reportan con manifestaciones de una infección sistémica, tal infección se presenta cuando el virus escapa del intestino a otros órganos, causando complicaciones como encefalopatía, meningitis y problemas en vías respiratorias, entre otras. Existen factores involucrados en la diseminación extra intestinal del virus los cuales pueden ser virales o inmunológicos. Un factor inmunológico involucrado en tal diseminación es la baja respuesta de Linfocitos T que se presenta en los menores de 5 años al momento de una infección por rotavirus. En cuanto a factores virales se han propuesto las proteínas NSP1 y NSP3, las cuales se han asociado con la diseminación del virus. Dado que la proteína NSP1 tiene la capacidad de interferir con la respuesta inmune innata suprimiendo la expresión del interferon de tipo I y procesos de señalización de las vías Jak-STAT, y mediante este mecanismo se ha propuesto que rotavirus puede llegar a circulación e invadir otros órganos, con lo que respecta a la proteína NSP3 variaciones en el gen que codifica para esta proteína han sido asociados como una determinante de diseminación viral en modelos animales. Por tal motivo, es importante considerar y estudiar la actividad de NSP1 y NSP3 como factores de patogénesis de rotavirus asociados a infecciones sistémicas.

INTRODUCCIÓN

Los rotavirus son de distribución mundial y representan aproximadamente el 70% de las etiologías causantes de diarrea, con 114 millones de episodios de casos por año. Los niños menores de 2 años son el grupo más susceptible en todo el mundo, ya que es la principal causa de hospitalización y la causa más importante de muertes por diarrea en los niños de hasta cinco años de edad en el mundo, siendo responsable de 75 000 hospitalizaciones y 15 000 muertes anuales en América Latina. En países en vía de desarrollo los rotavirus explican del 10 - 20% de muertes asociadas con gastroenteritis (OMS, 2007; Esparza-Aguilar *et al.*, 2009).

Actualmente se han identificado 7 grupos de rotavirus de la A-G, de los cuales sólo los grupos A, B y C se han correlacionado a gastroenteritis en humanos y la mayoría de los casos se han asociado a cepas del grupo A (Yukihiko *et al.*, 2010). Se ha identificado a rotavirus todo el año con incidencia mayor en otoño e invierno. Su mecanismo de transmisión es fecal oral, aunque también se ha sugerido la vía respiratoria. El contagio de persona a persona a través de las manos parece ser responsable de diseminar el virus en ambientes cerrados, como hogares y hospitales (Domínguez *et al.*, 2009).

El principal sitio de infección de rotavirus son los enterocitos maduros en las vellosidades de la parte superior del intestino delgado, donde este se replica y trayendo como consecuencia una reducción en la superficie de absorción del intestino, cambios en la permeabilidad osmótica, una gran pérdida de agua como también de electrolitos (Raming, 2004).

Ante tal infección el sistema inmunológico actúa activando una serie de mecanismos efectores como lo es la producción de selectinas e integrinas para atraer a los linfocitos T CD4+/CD8+ los cuales se encargaran de destruir las células infectadas por rotavirus, otro mecanismo involucrado es la activación de linfocitos B y la producción de IgG e IgA, las cuales actúan como agentes neutralizantes de las proteínas involucradas en el proceso de adsorción como la VP4 y VP7 (Malik *et al* 2008). La producción de interferones de tipo 1 es quizás el mecanismo más importante ante una infección viral ya que estas citocinas son fundamentales para la protección antiviral de las células. El interferon α/β activa a las vías de señalización JAK-STAT e IRF las cuales tienen entre otras funciones la activación de factores de transcripción como la producción de RNAasas y DNAasas donde estas son transportadas al citoplasma y actúan sobre el genoma viral (Qin *et al.*, 2011).

En los últimos años la infección por rotavirus ha tomado mayor relevancia, puesto que se han presentado casos de niños donde la infección ha pasado de ser localizada a una infección sistémica observándose antígenos y viremia en corazón, pulmones, hígado y líquido cefalorraquídeo, dando como resultado complicaciones aun más graves que la misma diarrea producida por tal infección (Crawford *et al.*, 2006; Sugata *et al.*, 2008). Debido a lo anterior, es de suma importancia conocer los mecanismos asociados a la evasión del virus ante la respuesta inmune y determinar factores inmunológicos como virales relacionados con procesos infecciosos sistémicos causados por rotavirus.

JUSTIFICACIÓN

Rotavirus es un importante patógeno intestinal, se considera el segundo agente etiológico más frecuente de gastroenteritis en niños menores de 5 años alrededor del mundo. A rotavirus se le asocia a una elevada tasa de morbilidad y mortalidad en la población infantil. En personas infectadas rotavirus se replica en los enterocitos maduros del intestino delgado, provocando una destrucción de estas células, cambios histológicos y fisiológicos en la mucosa del intestino delgado, lo cual trae como consecuencia una mala absorción de nutrientes como carbohidratos, así como también una secreción excesiva de electrolitos y agua, aumento de permeabilidad paracelular en el epitelio intestinal lo cual lleva a una diarrea osmótica. La mortandad infantil se asocia comúnmente a estados de deshidratación severa por consecuencia de la diarrea por rotavirus. Sin embargo existen evidencias de que las infecciones por rotavirus no siempre son localizadas. En algunos casos la antigenemia y la viremia en niños infectados con rotavirus parecen indicar casos de infecciones sistémicas. Y aunque hasta la fecha se han descrito pocos estudios concernientes a infección sistémica por rotavirus, algunos de estos respaldan la diseminación del virus, como lo es, la frecuencia de detección de partículas virales en sangre, casos donde la infección está asociada a complicaciones extraintestinales, además de los datos obtenidos en estudios realizados en modelos animales donde se ha confirmado la diseminación del virus. Por lo tanto, es importante describir los factores virales asociados a estas infecciones.

1. GENERALIDADES DE ROTAVIRUS

1.1 Historia

Hasta antes de 1972 y gracias al uso del microscopio electrónico se describieron partículas virales redondas tipo reovirus en heces de becerros y en algunos otros animales relacionados con la ganadería; así mismo, virus con la misma morfología fueron identificados en numerosas especies y asociados con infecciones gastrointestinales. Al proseguir con estudios estructurales y antigénicos de las partículas virales se descubrió que se trataba de partículas distintas a los reovirus descritos previamente (Mathan, 1977). Entre las características de éstos virus se describió una capa esférica externa de proteínas y con proyecciones en forma de espícula a las que se les denominó rotavirus, cuya traducción del latín significa rueda (Parashar *et al.*, 1998).

Posteriormente en 1973 Bishop y colaboradores describieron, también mediante el uso de microscopio electrónico, algunas partículas virales semejantes a rotavirus en cortes histológicos de intestino delgado de niños con gastroenteritis. Un año después de este hallazgo, rotavirus pudo ser detectado y aislado de heces en niños con gastroenteritis, lo cual facilitó en gran medida la detección del virus (Bishop, 2009).

Hoy en día se sabe que rotavirus afecta a diferentes mamíferos y algunas aves. En humanos, rotavirus ha sido reconocido como el principal agente etiológico de las gastroenteritis virales en niños menores de 5 años, y siendo el responsable de 600

000 muertes anuales y aproximadamente del 40% de las hospitalizaciones por diarrea en niños (OMS, 2007; Hernández-Cortez *et al.*, 2011).

1.2. Estructura

Los rotavirus pertenecen a la familia *Reoviridae*. Son virus de ARN de cadena doble su estructura está conformada por tres cápsides, una externa, intermedia e interna o core que envuelve el genoma viral. Su genoma se caracteriza por estar fragmentado en 11 segmentos de ARN viral de doble cadena. Cada segmento representa un gen que codifica para cada una de las 12 proteínas, 6 proteínas estructurales (VP) y también 6 proteínas no estructurales (NSP) del virus. Mediante microscopia electrónica se han caracterizado como partículas icosaédricas, morfológicamente similares a una rueda, de 70-100 nm de diámetro (Estes, 2001).

Al igual que el resto de la familia *Reoviridae*, rotavirus replica en el citoplasma, puede formar viroplasmias y la liberación de la progenie vírica ocurre por lisis celular o mediante transporte vesicular no convencional en células epiteliales polarizadas (Desselberger *et al.*, 2009).

1.2.1 Características de la partícula viral

La partícula viral completa recibe el nombre de TLC's (triple-layered particle, por sus siglas en ingles) (Fig. 1). La cápside externa está compuesta por dos proteínas virales de superficie, una glicoproteína llamada VP7 y otra proteína, la cual es sensible a la proteasa, conocida como VP4. Estas dos proteínas son las responsables de la generación de anticuerpos neutralizantes y están involucradas con la inmunidad protectora (Rojas *et al.*, 2008).

Las partículas virales que solo presentan la cápside intermedia e interna se conocen como DLP's (double-layered particle, por sus siglas en inglés), estas partículas no se consideran infecciosas. La cápside media de la partícula viral está constituida por la proteína VP6, siendo esta la proteína más abundante del virus y posee propiedades antigénicas que caracterizan los grupos de rotavirus.

La capa interna forma el core que engloba el genoma viral, a ésta la constituyen las proteínas VP1 (una ARN polimerasa dependiente de ARN), VP2 y VP3 (una guanilil transferasa y metilasa), las cuales son enzimas encargados de la replicación del ARN (Surendran, 2008).

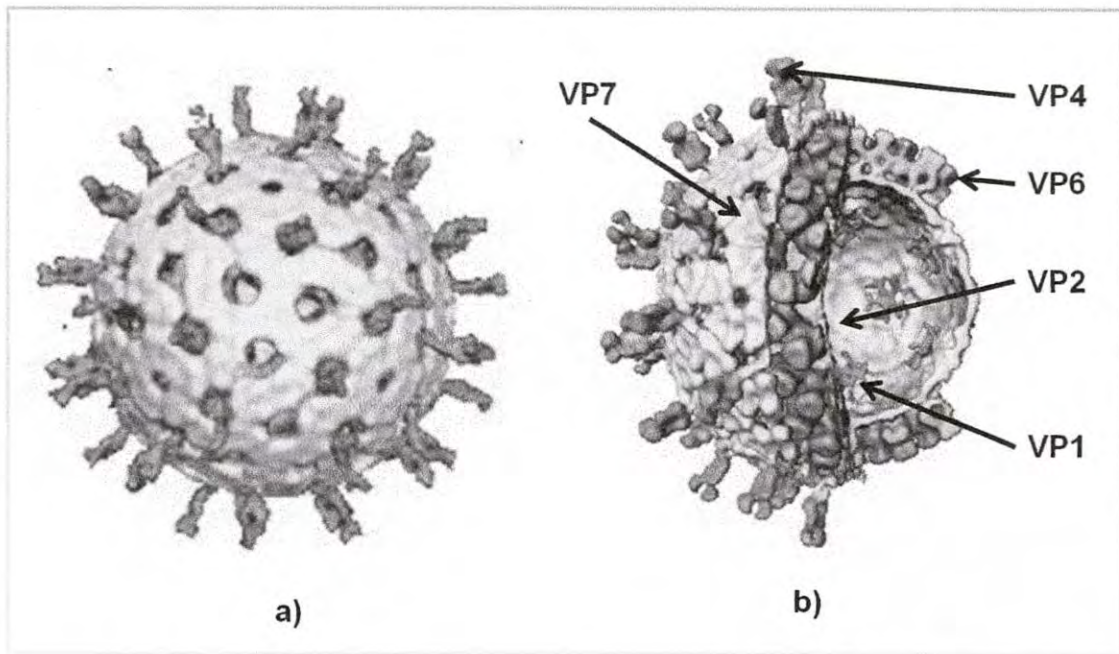


Fig. 1 Representación de la estructura de Rotavirus a) Imagen completa de la partícula viral. b) Corte transversal de la partícula viral que muestra su capa externa (en amarillo VP4, VP7) su capa intermedia (en azul, VP6), y capa interna (en verde, VP1, VP2, VP3) (Pachón del Amo *et al.*, 2006).

1.2.2 Características del genoma viral.

El genoma viral constituye el 16% de las moléculas del virus y está organizado en 11 segmentos de ARN de cadena doble que se encuentran localizados en el core del virión. Los genes 1, 2, 3, 4, 6 y 9 codifican para las proteínas VP1, VP2, VP3, VP4, VP6 y VP7 respectivamente. Los 5 genes restantes (segmentos 5, 7, 8, 10 y 11) codifican para las 6 proteínas no estructurales (NSP1- NSP6) cada proteína es codificada por un segmento único, excepto para las proteínas no estructurales NSP5 y NSP6 codificadas por un fragmento de lectura de un solo segmento que se superpone en el gen 11 (Ramig, 2004) (Fig 2). Los fragmentos de ARN de cadena doble no son infectivos en ausencia de las proteínas virales, indicando que necesitan de la replicasa viral y que esta se encuentra incluida en el virión (Estes, 2001).

1.2.3 Proteínas estructurales.

Las proteínas estructurales (VP1, VP2, VP3, VP4 y VP6) forman parte de las tres capas proteicas que cubren al genoma viral. Cada una de ellas tiene funciones específicas que pueden asociarse a la interacción celular, al ingreso del virus a la célula o al proceso replicativo del mismo. Las proteínas estructurales son de gran importancia en el estudio de la inmunogenicidad de rotavirus, las proteínas como VP4, VP6 y VP7 son las responsables de la antigenicidad de la partícula viral e inducen la respuesta inmune tanto humoral como celular, siendo las proteínas que generan la producción de anticuerpos neutralizantes, con las que pueden contrarrestar la infectividad del virus a la célula huésped (Ruiz *et al.*, 2009).

1.2.4 Proteínas no estructurales.

Las proteínas no estructurales (NSP) de rotavirus, NSP1 a NSP6, son codificadas por los segmentos 5, 7, 8, 10 y 11, donde el segmento 11 codifica para 2 proteínas no estructurales. Como su nombre lo indican, estas proteínas no forman parte de la estructura del virion, si no que son sintetizadas en el citoplasma de la célula durante la infección. Estas proteínas tienen funciones relacionadas con el control de la expresión de proteínas virales, en la replicación, transcripción del genoma, empaquetamiento de los genes virales y la maduración de la partícula viral en el interior de la célula (Hu *et al.*, 2012).

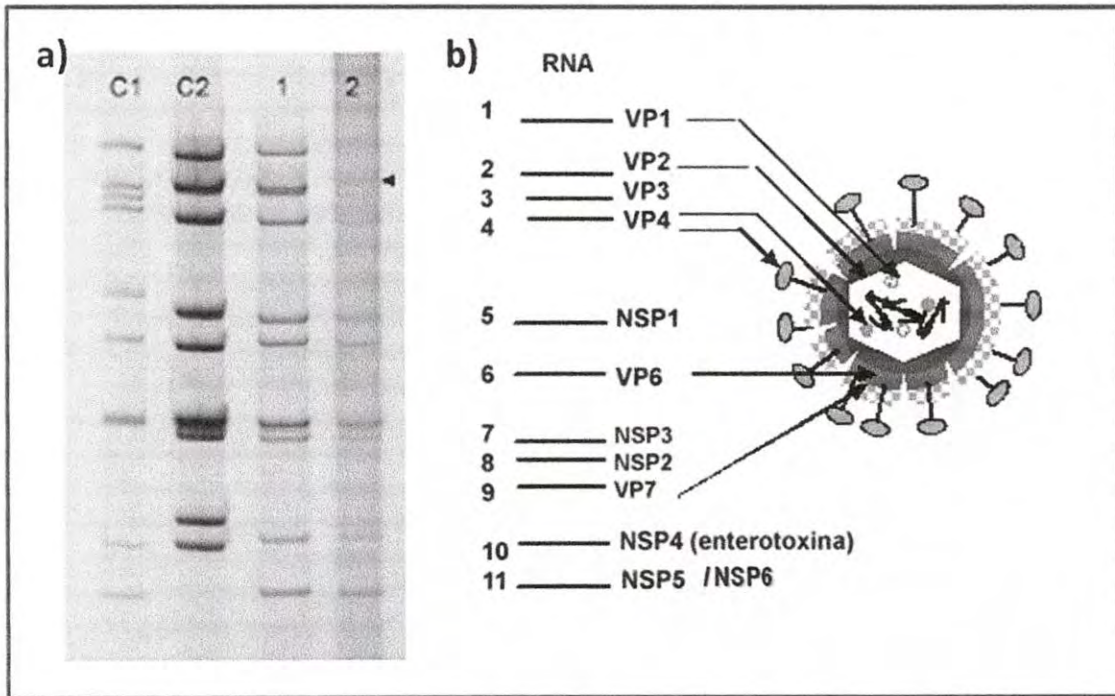


Fig. 2 Esquema que muestra la distribución del genoma de rotavirus de acuerdo al tamaño de cada uno de los segmentos de su genoma. a) Fotografía de un gel poliacrilamida que muestra un corrimiento electroforético de los 11 segmentos de ARN b) Imagen esquemática de rotavirus donde se representa cada uno de los segmentos de ARN y la proteína que codifica (Parashar *et al.*, 1998)

1.3 Clasificación de los rotavirus

1.3.1 Clasificación por grupos

Los rotavirus se clasifican en grupos, subgrupos y serotipos según las características antigénicas de la proteína VP6, hasta ahora se han descrito siete serogrupos o grupos antigénicos. Cada uno de estos grupos han sido identificados por una letra de la A – G (Fig. 3). Los grupos A, B y C han sido aislados tanto en humanos como en animales, mientras que los grupos D, E, F y G han sido aislados únicamente de animales. Los rotavirus asociados a infecciones en humanos son comúnmente identificados como rotavirus del grupo A, mismos que afectan principalmente a niños, mientras tanto los rotavirus de los grupos B y C se han aislado esporádicamente en brotes de rotavirus en adultos (Panchón del Amo *et al.*, 2006).

En la proteína VP6 también se han identificados diferentes epitopes que permiten diferenciar al grupo A de rotavirus en distintos subgrupos específicos (SG) dependiendo de la ausencia o presencia de dos epitopes reconocidos por los anticuerpos monoclonales: SGI, SGII, SGI+II, o SG ni I, SG ni II que pueden ser distinguidos de acuerdo a la reactividad frente a los anticuerpos monoclonales. El SG II es el más frecuente entre las cepas humanas, mientras que el SG I es el de mayor incidencia en cepas animales (Matthijnssens *et al.*, 2008).

Los grupos de rotavirus también se clasifican en subgrupos, cada subgrupo se establece a partir de dos patrones de migración electroforética de sus genes (patrón corto y largo). El electroferotipo corto es resultado de un fenotipo de duplicación parcial en el gen 11 y por lo tanto la migración en gel de este gen será mas corta y lenta. El electroferotipo largo (SG II) es caracterstico de las cepas de rotavirus que

afectan a humanos y el electroferotipo corto (SG I) es el más frecuente en animales (Iturriza *et al.*, 2002; Gentsh *et al.*, 2005; Meneses *et al.*, 2007).

1.3.2 Clasificación por serotipos

Los rotavirus del grupo A también han sido caracterizados mediante ensayos de neutralización definiéndose así diferentes serotipos. Las proteínas implicadas en esta clasificación serológica son la glicoproteína VP7, que define los serotipos G (por ser una glicoproteína), y la hemaglutinina VP4, que define los serotipos P (Por ser sensible a la proteasa), ambas proteínas forman parte de la cápside externa de rotavirus. Así los rotavirus del grupo A se clasifican mediante un sistema binario que distingue los distintos serotipos de las proteínas antes mencionadas. Hasta el momento se conocen 23 serotipos G y 31 serotipos P (Desselberger-Huppertz, 2011).

Debido a que se ha demostrado que la caracterización serológica de VP4 y VP7, se ha observado que es poco fiable pues se ha presentado una gran variedad antigénica a causa de acumulación de mutaciones puntuales, es posible que también VP6 pueda sufrir cambios antigénicos similares, resultando en una pobre reactividad serológica en ensayos de serotipificación. Por ello, en algunos casos existen cepas las cuales no se han podido tipificar ya que no existen tantos sueros disponibles para la gran variedad de cepas existentes (Iturriza *et al.*, 2002).

1.3.3. Clasificación por genotipos

Otra forma de clasificar a los rotavirus es por genotipos, ésta clasificación se realiza mediante el análisis de secuencias de ADN o por RT-PCR (transcriptasa reversa y reacción en cadena de la polimerasa). La clasificación por genotipos es

comúnmente utilizada para identificar cepas de rotavirus en base a las proteínas VP4 (Genotipo P) y VP7 (genotipo G) (Fig. 3).

La RT-PCR posee mayor sensibilidad y permite la caracterización precisa y completa de las cepas además de la identificación de nuevas cepas recombinantes, en comparación con las técnicas serológicas utilizadas para la genotipificación (Iturriza *et al.*, 2004). Por medio de RT-PCR se distinguen 35 genotipos P en relación a la proteína VP4, de los cuales solo 9 causan infecciones en humanos, en cuanto a los genotipos G se han identificado 27 en base a la proteína VP7 (Domínguez *et al.*, 2009; Matthijssens *et al.*, 2011). La nomenclatura de los rotavirus del grupo A se expresa de forma que en primer lugar se describe el serotipo G y posteriormente el serotipo P y/o el genotipo P entre corchetes. Sin embargo, actualmente el análisis y comparación de la secuencia parcial o completa de los 11 segmentos (Tabla 1), es utilizado para la implementación de un nuevo sistema de clasificación para los rotavirus, que permite la determinación directa de las relaciones genéticas, mediante el análisis filogenético y comparación en los patrones de evolución. Este tipo de clasificación permite identificar genotipos, rearrreglos y relación genética entre cepas de rotavirus animal y humano (Matthijssens *et al.* 2008).

Algunas cepas de rotavirus son resultado de rearrreglos entre cepas humanas y animales, algunos serotipos pueden tener origen animal, por ejemplo, las cepas G3 y G4 en México tienen secuencias de la proteína VP7 más similares a las cepas de animales que la de las cepas de humanos. Las cepas de G9 son ampliamente distribuidas, el rango de la cepa G9 se encuentra entre el 1% y el 18% en países como México, Brasil, Argentina y Paraguay (Castelo *et al.*, 2004).

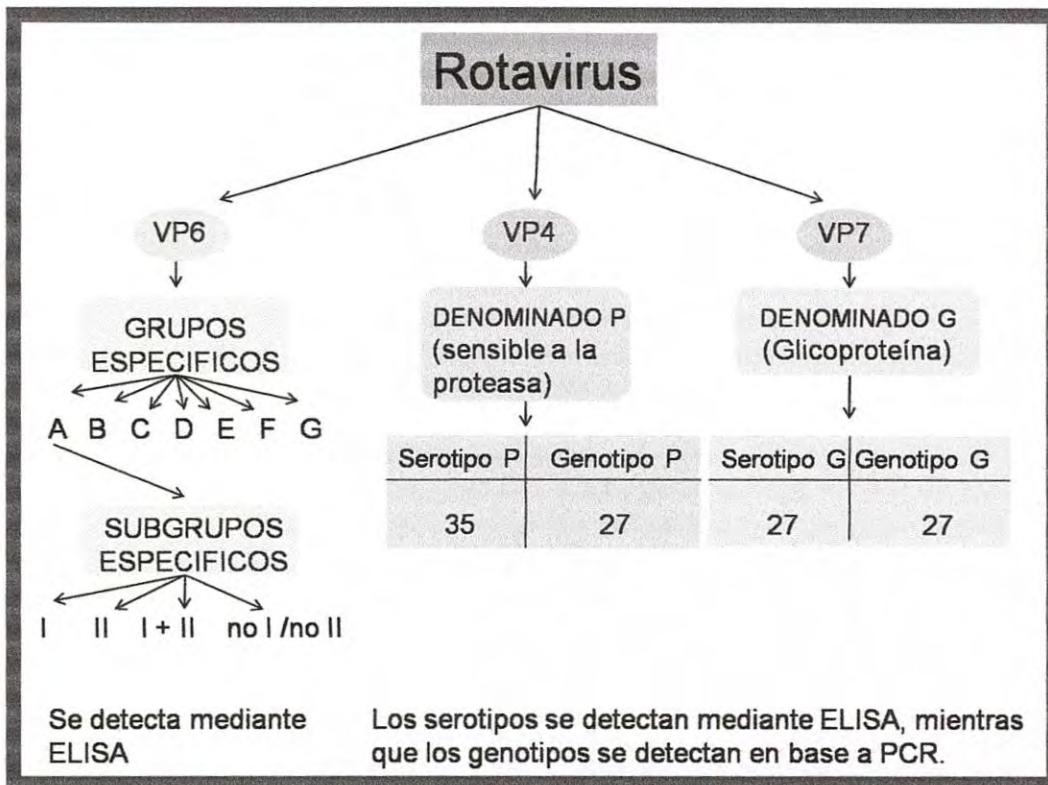


Figura 3. Clasificación de rotavirus en base a las características antigénicas y de secuencia del gen (genotipo) en base a las proteínas VP6, VP4 y VP7 (Organización Mundial de la Salud., 2006).

Proteína	Genotipos	Características
VP7	27G	Glicosilada
VP4	35P	Sensible a la Proteasa
VP6	11I	Capa interna
VP1	4R	ARN polimerasa
VP2	5C	Proteína de capa interna
VP3	6M	Metil-transferasa
NSP1	14A	Antagonista de Interferones
NSP2	5N	NTPasa
NSP3	7T	Inhibidor de traducción
NSP4	15E	Enterotoxina
NSP5	6H	Fosfoproteína

Tabla 1. Describe cada uno de los genes de rotavirus, el número de genotipos encontrados para cada gen y la abreviación del gen; así mismo se describen las características con respecto a la función de cada una de las proteínas virales que en algunos de los casos da origen a la abreviación del genotipo (Matthijnssens *et al.*, 2008; Matthijnssens *et al.*, 2011).

1.4 Epidemiología

Rotavirus es la principal causa de gastroenteritis aguda en menores de 5 años, cada año causa 114 millones de episodios de gastroenteritis, 24 millones de consultas, 2.4 millones de hospitalizaciones y 600 000 muertes infantiles alrededor del mundo. Este virus afecta principalmente a los menores de 2 años pero también puede causar infecciones en adultos, pero la severidad de la infección es mayor en los niños. La incidencia es similar en países desarrollados y en vía de desarrollo, de modo que las condiciones sanitarias y de higiene han demostrado no influir en el control de la infección (OMS, 2007; Esparza-Aguilar *et al.*, 2009).

Se considera que la mayoría de los niños han experimentado una o más infecciones por rotavirus durante los 2 primeros años de vida, siendo la máxima incidencia de infección entre los 6 y 24 meses de edad (Mota-Hernández *et al.*, 2001). Se ha identificado a rotavirus todo el año con mayor incidencia en otoño e invierno. Su mecanismo de transmisión es fecal oral, aunque también se ha sugerido la vía respiratoria. El contagio de persona a persona a través de las manos parece ser responsable de diseminar el virus en ambientes cerrados, como hogares, guarderías y hospitales (Domínguez *et al.*, 2009).

La epidemiología del grupo A de rotavirus es compleja, pues han surgido diferentes cepas de tipo G y P en varias regiones del mundo. Aproximadamente el 95% de las cepas de mayor incidencia son G1-G4, y de estos G1P[8] es la cepa más frecuentemente aislada en la mayoría de los casos (Figura 4) (Desselberger *et al.*, 2009). Recientemente la cepa G9 ha presentado una incidencia importante en países como India, Australia y México, en los cuales se ha asociado con

gastroenteritis severa (Desai *et al.*, 2011, Reyna-Figueroa *et al.*, 2012). Por otro lado, los rotavirus del grupo B se les ha asociado con epidemias anuales de diarrea en adultos en China y en la India, así como también el rotavirus del grupo C se han detectado en casos esporádicos con diarrea, mientras que los virus de los grupos D, E, F, y G han sido encontrados solo en animales (Estes, 2001; Gentile *et al.*, 2006).

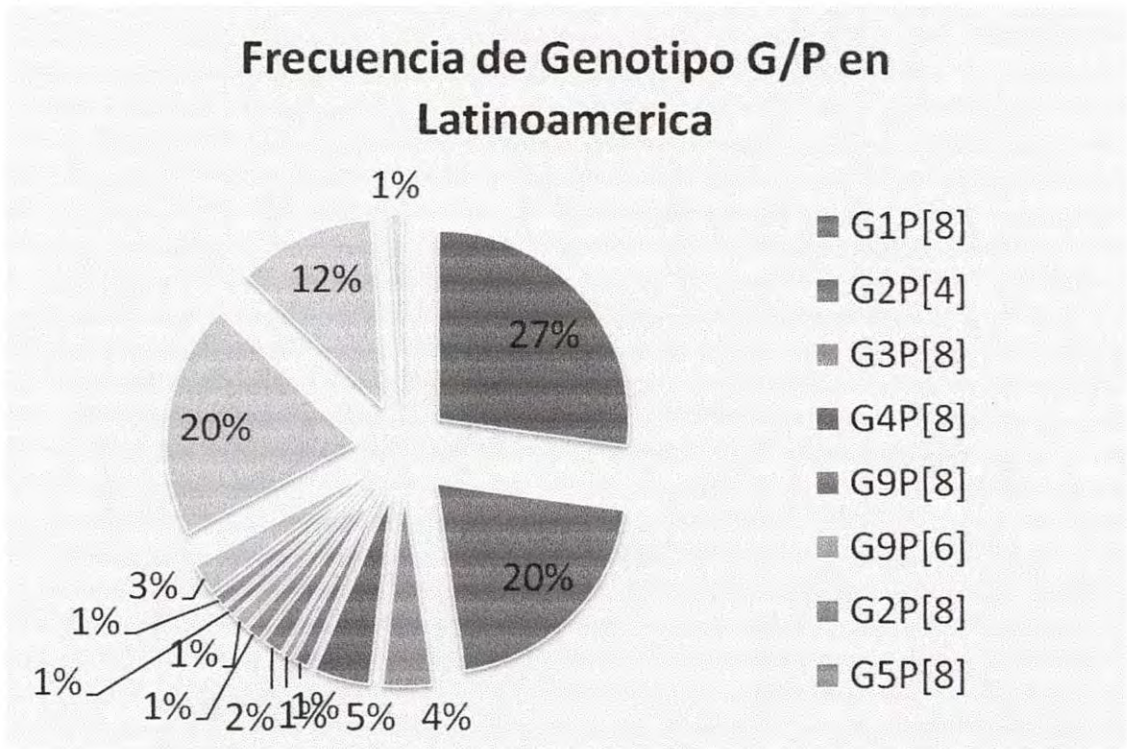


Figura 4. Frecuencia de genotipos G/P aislados en diferentes partes de Latinoamérica, donde se observa que la cepa G1P[8] es la de mayor incidencia con respecto a las demás cepas (Tomado de Castello et al., 2004).

1.5 Vacunas

Las investigaciones para desarrollar una vacuna segura y eficaz contra rotavirus, se iniciaron a mediados de 1970, cuando los investigadores demostraron que la infección previa con cepas de rotavirus de origen animal protegía a los animales de experimentación de una infección por rotavirus. Por ello, los investigadores pensaron que las cepas de rotavirus animales (atenuadas para el humano) podrían ser utilizadas en humanos para crear una respuesta inmune leve y así proteger a los niños contra una infección severa (Dennehy, 2008).

Las proteínas virales de mayor interés para el desarrollo de nuevas vacunas son VP6, NSP4, VP4 y VP7. Donde VP6 es la proteína más abundante y determinante del grupo de la cepa de rotavirus; NSP4 es una proteína no estructural, se caracteriza como enterotoxina. Así también, VP4 y VP7 son consideradas importantes para el desarrollo de vacunas ya que son las principales en generar anticuerpos neutralizantes y así crear inmunidad protectora (Dennehy, 2008).

Algunas de las vacunas utilizadas en humanos contienen una cepa atenuada con genes recombinados de VP7 y VP4 derivados de cepas humanas, sin embargo los genes restantes pertenecen a una cepa atenuada de origen animal. Estas cepas de virus, se han desarrollado recombinando genes para ser utilizadas como posibles vacunas, las cuales podrían inducir una respuesta inmunológica en humanos contra antígenos de la capa externa del virus, conformada por las proteínas estructurales VP4 y VP7 (Chen *et al.*, 2012).

En la actualidad existen en el mercado dos vacunas Rotateq y Rotarix, ambas han demostrado tener una eficacia del 85%-90% previniendo la gastroenteritis severa,

además se ha observado una inmunidad heterotípica y homotípica con ambas vacunas (Desselberg *et al.*, 2011).

Rotateq es una vacuna pentavalente de virus vivos atenuados, la cual contiene cinco cepas víricas reordenadas, aisladas tanto de humanos como animales bovinos, que contienen serotipos de las proteínas G1, G2, G3, G4 y P1A (genotipo [8]) y los RNA's que codifican a estas (Desai *et al.*, 2011). Por su parte, Rotarix es una vacuna obtenida originalmente de un niño con infección por rotavirus, el cual fue atenuado y aislado. Esta vacuna contiene cepas atenuadas del serotipo G1P[8], la cepa con más frecuencia aislada y causante de gastroenteritis, fue autorizada y aplicada por primera vez en México y Republica Dominicana en 2004, unos años después en Estados Unidos y fue aprobada en más de 90 países del mundo. La vacuna ha sido probada en América Latina, y los primeros resultados de estos ensayos multinacionales fueron reportados en México, Brasil y Venezuela, donde la eficacia contra la enfermedad grave por rotavirus fue del 86% (Chen *et al.*, 2012).

En México se aíslan los serotipos G1, G2, G3, G4, P1, P2 y la mayor frecuencia es en invierno (Esparza-Aguilar *et al.*, 2009). En Enero del 2004, las autoridades sanitarias mexicanas aprobaron el uso de la vacuna monovalente de rotavirus humano atenuado (Rotarix, GlaxoSmithKline) en el territorio nacional y se lanzó al mercado en enero del 2005. En febrero del 2006, la Secretaria de Salud incorporó en una primera fase la vacuna contra el rotavirus al programa nacional de vacunación, en esta fase, la vacuna se aplico a la población más susceptible y en 2007 se universalizó su aplicación en el país. Con la aplicación de la vacuna, la hospitalización por diarrea de cualquier causa se redujo un 42% y la protección contra gastroenteritis grave fue del 70% y se espera que la vacunación contra

rotavirus reduzca la mortalidad en un 60% en América Latina (Esparza-Aguilar *et al.*, 2009; Jankovic *et al.*, 2011).

2.0 PATOGÉNESIS DE ROTAVIRUS

Rotavirus presenta un tropismo celular específico hacia enterocitos maduros, sugiriendo que estas células tienen receptores específicos para el virus. En estudios *in vitro* rotavirus se une a una gran variedad de líneas celulares como lo son células de origen de riñón, conductos biliares (Mossel *et al.*, 2003).

2.1 Fisiología del intestino delgado

El intestino delgado tiene la forma de un tubo alargado, el cual, en el adulto mide aproximadamente de 5 a 8 m, y tiene un diámetro de 2,5 cm. Este se divide en 3 partes: duodeno, yeyuno e íleon. De los cuales, rotavirus afecta principalmente al yeyuno pero también se disemina hasta el íleon (Figura 5) (Morris y Estes, 2001; OMS, 2007). Las vellosidades del intestino delgado son proyecciones de la mucosa en forma de "dedos", cada vellosidad está recubierta por una capa de células epiteliales columnares denominadas *enterocitos* y en la base de las vellosidades se encuentran las criptas. Las microvellosidades de los enterocitos forman el "borde en cepillo", que está compuesto por microvellosidades finas de aproximadamente 1 μm de longitud por 0,1 μm de ancho (Figura 6) (Riverón, 1999).

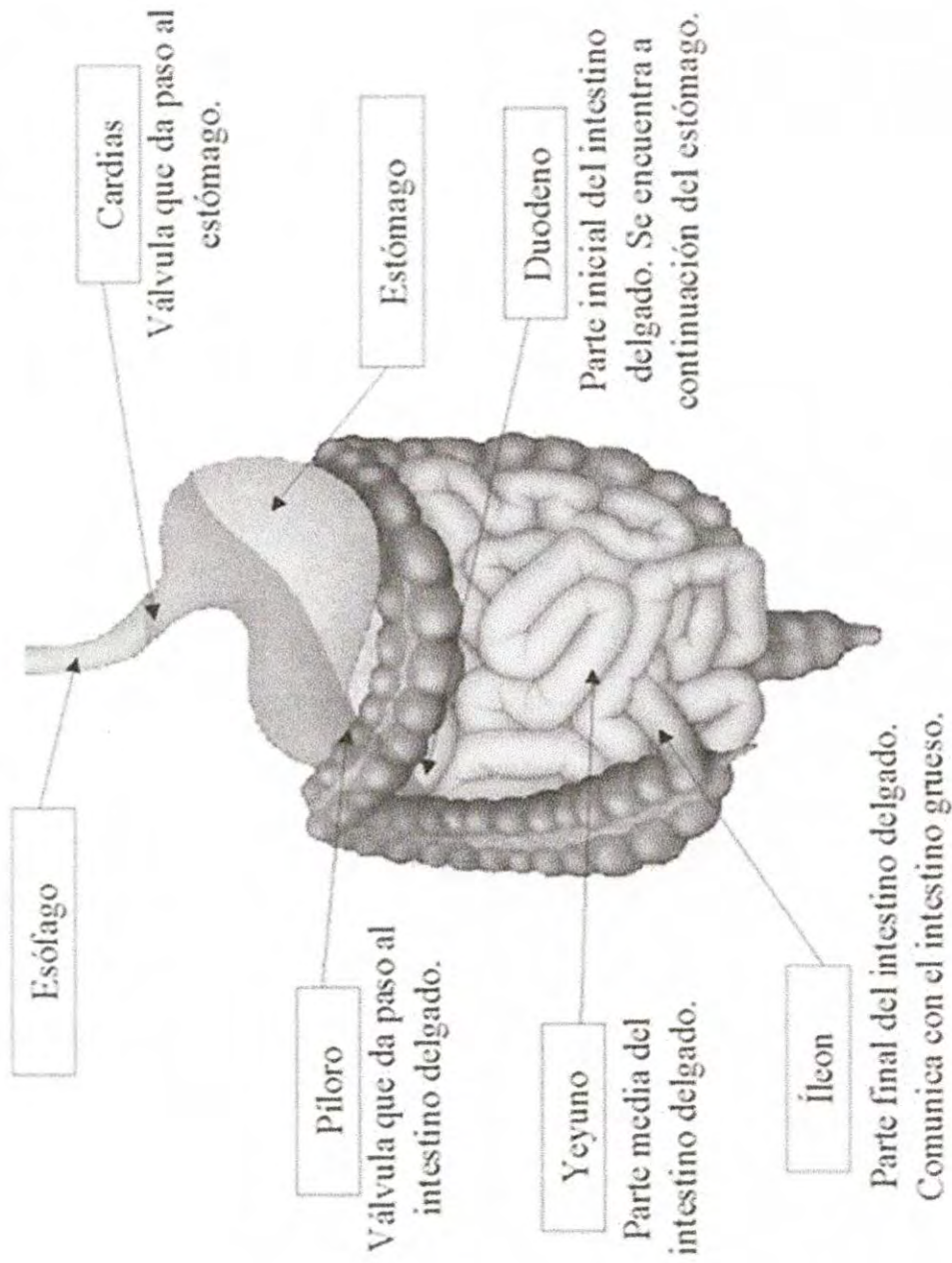


Figura 5. Descripción anatómica del intestino delgado.
(Riverón, 1999)

VELLOSIDADES INTESTINALES, MICROVELLOSIDADES Y ENTEROCITOS

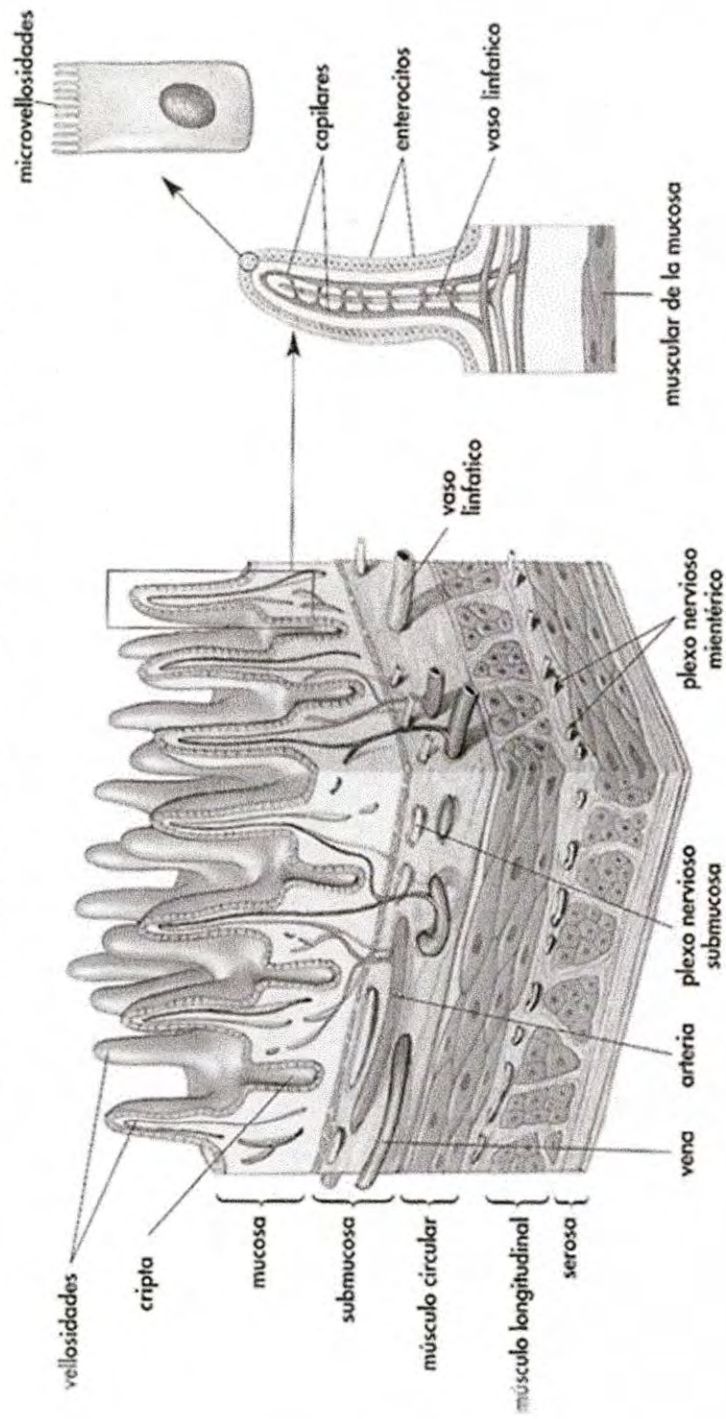


Figura 6. Morfología de las vellosidades intestinales y subcapas del intestino delgado. (Riverón, 1999)

Los enterocitos que cubren las extremidades y la parte media de las vellosidades son células epiteliales y tienen como función la absorción, mientras que los enterocitos localizados en las criptas de las vellosidades son células epiteliales cuboideas con función secretoria (Riverón, 1999).

Junto a todos estos componentes del intestino delgado, existe también el tejido linfoide asociado al intestino (GALT por sus siglas en ingles Gut-Associated Lymphoid Tissue) (Figura 7). Siendo el mecanismo de defensa que posee el intestino para limitar el acceso a toxinas y patógenos al organismo.

El tejido linfoide asociado al intestino está formado por las placas de peyer, las cuales son agregados de poblaciones linfoides que se encuentran hacia el lumen intestinal, separado del lumen por los enterocitos. Otro mecanismo de defensa intestinal son los ganglios linfáticos mesentéricos que se localizan en el mesenterio intestinal, poseen folículos ricos en células B y células dendríticas así como también de linfocitos T (Ramiro-Puig *et al.*, 2008).

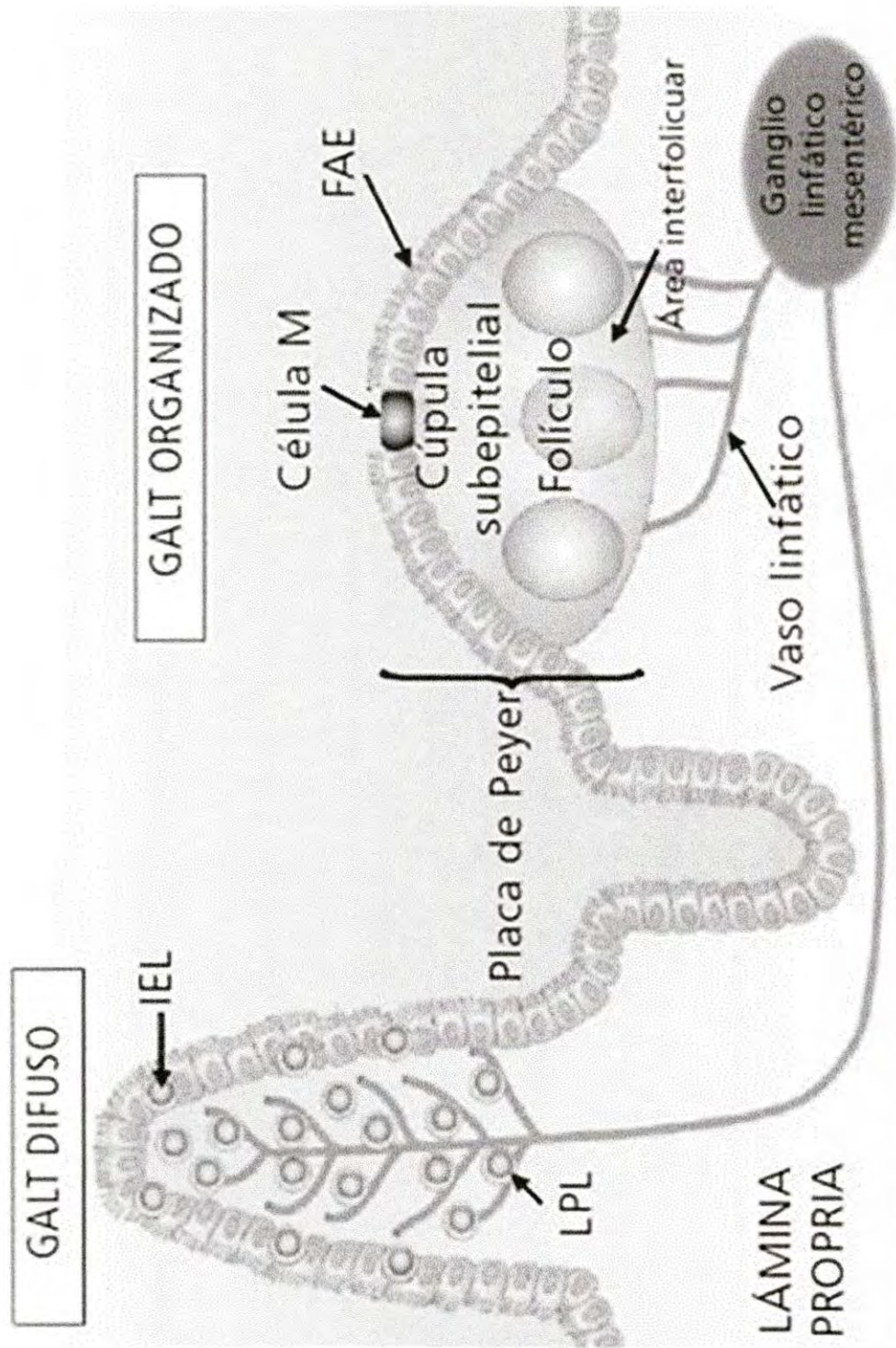


Figura 7. Representación de los elementos que componen el tejido linfóide asociado a intestino: placas de peyer, ganglios linfáticos y lámina propia (Fuente: Ramiro-Puig *et al.*, 2008).

2.2 Ciclo replicativo y su relación con alteraciones histopatológicas

Durante el proceso de entrada, la partícula viral pierde las proteínas de la capa externa y se activa la transcripción que depende de la ARN polimerasa viral (VP1). El paso inicial es el contacto del virus con el enterocito y su posterior ingreso al citoplasma, para esto se han descrito dos maneras, por las cuales rotavirus puede ingresar al enterocito: por endocitosis o por penetración directa (Estes., 2001; Sánchez-San Martín *et al.*, 2004).

En el primer caso, la endocitosis, la proteína VP4 juega un papel muy importante ya que una vez activada, es la que reconocerá al receptor de membrana en los enterocitos humanos. Y en el segundo caso, mediante el mecanismo de penetración directa, el virus ingresa a través de la membrana con su cápside interna y el core, cabe mencionar, que la proteína VP 7 se queda localizada en la membrana. Al ingresar el virus por endocitosis se forman endosomas, conteniendo al virus, los cuales se fusionan con los lisosomas vertiendo, éstos últimos, sus enzimas proteolíticas en los primeros causando hidrólisis de la capa proteica (VP 6), dejando libre en el citoplasma al core viral (Gutierrez *et al.*, 2010). Para que se inicie la replicación viral es necesaria la activación de la ARN polimerasa viral (Transcriptasa) que es la VP1 contenida en el core viral. Esta va a producir RNA mensajeros, los cuales tienen dos funciones: una de ellas es dirigir la síntesis de proteínas estructurales y no estructurales del virion, y por otra parte, servirán como plantados para la síntesis de la cadena negativa (complementaria al ARNm) para dar lugar al ARN de cadena doble (ARNcd) que constituye el genoma viral (Rojas *et al.*, 2008).

Una vez que se acumula una masa crítica de proteínas virales, se forman en el citoplasma celular estructuras llamadas viroplasmatas, en donde se ha propuesto que se lleva a cabo la replicación del genoma viral (Figura 8). En estas estructuras se ensamblan las partículas de doble capa que posteriormente geman al interior del retículo endoplásmico, también se van sintetizando proteínas no estructurales, como la NSP 1 y la NSP3, que se acumularan en el citoesqueleto, adquiriendo durante este proceso la tercera capa proteica, dando lugar a la partícula madura o también conocido como core. Cabe mencionar que las proteínas NSP2 y NSP5 son esenciales para la formación de los viroplasmatas, ya que en ausencia de cualquiera de ellas, no se forman estas estructuras y el ciclo replicativo del virus se interrumpe (Gonzalez *et al*, 1982).

Al mismo tiempo, se lleva a cabo el ensamblaje de la proteína VP6, que va a conformar una capsida, a la cual se denomina partícula "Inmadura". Estas partículas virales inmaduras van a migrar desde el viroplasma hacia el R.E.R. donde van a completar su maduración, simultáneamente se sintetizan las proteínas VP 7 y la NSP 4 en R.E.R, esta última proteína, se asocia a una proteína chaperona, Calnexina, la cual servirá como un receptor de virus inmaduros translocándolos al interior del R.E.R. Y es aquí, en R.E.R. donde rotavirus termina de madurar, se ha visto que ciertas proteínas chaperonas GRP 78 y GRP 94 cumplen un papel fundamental en dicho proceso. La proteína VP7 se constituirá posteriormente, conjunta a la proteína VP4, en la cápsida externa del rotavirus completando de esta manera su maduración. Y por último, el ciclo de replicación termina cuando el virus es liberado al lumen intestinal por lisis celular, dañando los enterocitos (Patton *et al*, 2007).

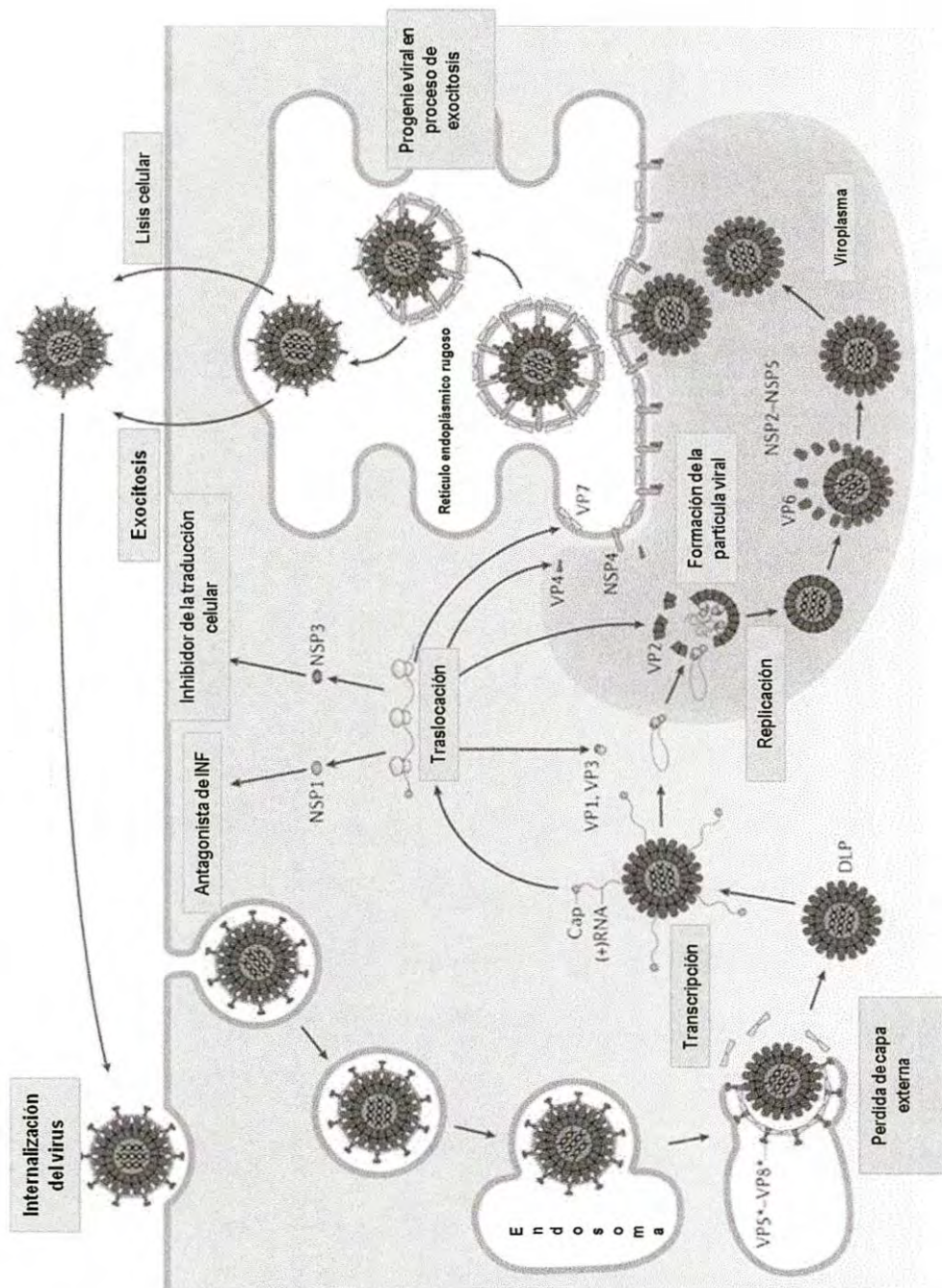


Figura 8. Ciclo de replicación de Rotavirus, donde se muestran algunas de las funciones de las proteínas estructurales y no estructurales en el proceso de replicación viral. (Trask et al., 2012)

2.3 Fisiopatología de la Infección por Rotavirus

La infección por rotavirus causa cambios histológicos y fisiológicos en la mucosa del intestino delgado, que van desde mayores en niños a escasos o ausentes en adultos. Es decir, la superficie del epitelio intestinal sufre atrofia a causa de la vacuolización del virus, las células en las puntas de las vellosidades se ven afectadas debido a la destrucción celular y se presenta un aumento en número de células inmunológicas, así como presencia de anticuerpos en la lamina propia (Raming, 2004). La severidad de la infección por rotavirus varía entre especies, un aspecto importante es que conforme a la edad y las reinfecciones, la severidad de la infección disminuye, además de esto existen casos donde la infección es asintomática (Desselberger-Huppertz, 2011).

La patogénesis de la infección del tracto gastrointestinal por rotavirus no es clara y se le atribuye a diferentes causas, por esto, se han realizado numerosos esfuerzos para determinar los mecanismos involucrados en las infecciones por rotavirus (Morris *et al.*, 2001). La diarrea inducida por rotavirus se atribuye a tres mecanismos diferenciados, que deben contribuir a la diarrea producida por rotavirus en diferentes momentos de la infección vírica: a) Una reducción en la superficie de absorción del intestino delgado, que determina una disminución de la capacidad absorbente de agua. b) Cambios en la permeabilidad osmótica de la mucosa intestinal y c) Cambios en la secreción de fluidos y electrolitos (Raming, 2004; Lorrot *et al.*, 2007).

Se ha considerado que la diarrea es producto de una malabsorción secundaria a la destrucción del enterocito. La malabsorción produce el tránsito de disacáridos,

carbohidratos, ácidos grasos y proteínas no digeridos hacia colón, cuando este bolo no digerido llega a colón, este órgano no puede absorber suficiente agua produciendo una diarrea osmótica (Hodges *et al.*, 2010).

Los cambios en la permeabilidad paracelular pueden contribuir a la enfermedad, alterando la secreción intestinal y la absorción; permitiendo la penetración de la mucosa por sustancias potencialmente tóxicas e inflamatorias; estos hallazgos pueden tener implicaciones importantes para la patogénesis de la diarrea (Tafazoli *et al.*, 2001).

Recientemente se ha propuesto que la proteína no estructural NSP4 está involucrada en la inducción de diarrea, ya que durante el proceso de infección y replicación de rotavirus en enterocitos maduros del intestino delgado se produce un aumento de calcio intracelular en donde la proteína NSP4 se encuentra implicada (Gibbons *et al.*, 2011). Este aumento de calcio intracelular en la célula infectada activa un gran número de procesos intracelulares, incluyendo la desestabilización de la estructura del citoesqueleto celular, la disminución de la expresión de enzimas digestivas en la parte apical de las células y la inhibición de los sistemas de cotransporte de solutos acoplados a Na⁺ (Ramig, 2004).

La proteína NSP4 es secretada de las células infectadas antes de que ocurra la lisis celular e interacciona con las células adyacentes no infectadas, produciendo un incremento de calcio intracelular por medio de la activación de la fosfolipasa C (Ramig, 2004; Gibbons *et al.*, 2011). Este incremento de calcio intracelular provoca la salida de iones cloruro y agua al medio extracelular. Al mismo tiempo, la proteína NSP4, actuaría desestabilizando las uniones célula-célula provocando cambios en la

permeabilidad en el epitelio intestinal (Tafazoli *et al.*, 2001). Finalmente la proteína NSP4 o alguna otra molécula efectora, secretada por las células infectadas actuarían activando el sistema nervioso entérico, siendo esta activación la responsable de más del 60% del total de los episodios diarreicos por rotavirus (Morris *et al.*, 2001; Rodríguez-Díaz *et al.*, 2005).

2.4 Síntomas

La enfermedad diarreica aguda por rotavirus se caracteriza por la presencia de síntomas y signos de mayor intensidad que en los pacientes con diarrea no rotavirica (Mota-Hernández *et al.*, 2001). La infección por rotavirus es muy común, se ha observado que a la edad de 5 años, el 95% de los niños ya han sido infectados, el espectro clínico de la infección va desde una infección asintomática hasta un cuadro de gastroenteritis aguda grave. El pico de incidencia de la enfermedad se presenta en niños de entre 6 a 24 meses, pues son los que tienen un alto riesgo de sufrir una diarrea severa que requiera de hospitalización, mientras que la infección en adultos es por lo regular asintomática, habiendo sus excepciones en pacientes inmunocomprometidos y en adultos de la tercera edad (Morris *et al.*, 2001).

Los síntomas de una infección por rotavirus aparecen entre 1 y 3 días después de la exposición al virus, la sintomatología típica lo constituye la fiebre, vómitos de carácter alimenticio-postprandial o mucosos, empieza temprano en el curso de la infección y es seguido de evacuaciones acuosas, amarillentas o verdosas. La diarrea se mantiene hasta por 5 a 7 días con una frecuencia de 10 evacuaciones por día, la presencia de moco, sangre y leucocitos es variable (Gentile *et al.*, 2006).

Debido a la diarrea y a los vómitos, la pérdida de líquidos se vuelve importante y deriva en un cuadro de deshidratación, por lo cual la recomendación es rehidratar y mantener el balance de electrolitos, aunque en muchos casos los padres deciden dejar la rehidratación pensando que es lo más efectivo para la disminución del vomito, como síntoma en específico (Glass *et al.*, 2005).

Las manifestaciones clínicas de la gastroenteritis por rotavirus tienen un rango de duración de entre 3 y 9 días. En el 62% de los casos la enfermedad es leve, en el 35% moderada y entre el 3-7% de los niños requieren hospitalización. En general se trata de un proceso autolimitado, con escasa incidencia de secuelas, siendo la más frecuente, la intolerancia transitoria a la lactosa, en relación con la lesión de la mucosa intestinal producida por el virus (Pachón *et al.*, 2006).

3.0 RESPUESTA INMUNE CONTRA ROTAVIRUS

Debido a que en humanos es complicado estudiar la respuesta inmune directamente en la mucosa Intestinal por su dificultad al momento de tomar la muestra, la mayoría de los estudios realizados son en modelos animales y otros en adultos y niños, en los que se caracterizan los linfocitos circulantes específicos de rotavirus y la producción de anticuerpos (Jaimes *et al.*, 2002).

Los modelos animales más utilizados en el estudio de rotavirus son el murino, tanto en ratones lactantes como en adultos; el porcino y el de los primates no humanos conocidos como monos Rhesus (Raming, 2007). Estos estudios sugieren que tanto

la respuesta humoral como la mediada por células son importantes en la resolución de la infección en curso así como también en infecciones posteriores. Sin embargo, ninguno de ellos reproduce la enfermedad ni la respuesta inmune de modo similar al humano (Chen *et al.*, 2012).

Estudios epidemiológicos han demostrado que niños que adquieren la infección por rotavirus desarrollan inmunidad a posteriores infecciones, donde el efecto protector aumenta con las reinfecciones (Velázquez, 2009). Así también se ha observado que las infecciones asintomáticas confieren una protección similar a las inducidas por una infección con síntomas (Angel *et al.*, 2012).

3.1 Respuesta inmune celular específica contra rotavirus.

Rotavirus se replica en los enterocitos del intestino delgado generando una respuesta inmune a nivel de mucosas intestinal. Sin embargo, la presencia de antigenemia y viremia, descritas recientemente en modelos animales y en niños con gastroenteritis por rotavirus; sugieren la posibilidad de que rotavirus escapa del intestino, induciendo una respuesta inmune sistémica (Blutt *et al.*, 2007a).

Se considera que la Placa de Peyer es el principal sitio de inducción de la respuesta inmune en el intestino. Las partículas virales en la superficie de la mucosa intestinal se unen a Células M y a través de ellas, los antígenos virales son transportados a las Celular Presentadoras de Antígenos (Ag) de la Placa de Peyer (PP) y del Nódulo Linfoide Mesentérico (NLM). Los antígenos presentados por las células presentadoras de antígenos (CPA) inducen la activación de LT CD4+ seguido por la

expansión de linfocitos B y LT CD8+. Desde los NLM los linfocitos efectores salen para llegar al conducto torácico y desembocar en la circulación sanguínea para migrar luego de regreso a la lámina propia y las Placas de Peyer. Esta migración al intestino está mediada por la integrina $\alpha 4\beta 7$ y el CCR9 en la membrana de los linfocitos, que interactúan respectivamente con MadCAM1 y TECK del endotelio de las vénulas postcapilares del intestino. Los linfocitos B se sitúan en la lamina propia y secretan IgA hacia el lumen intestinal para neutralizar partículas virales en mucosas y así impedir su diseminación hacia otros sitios como Placas de Peyer (Malik *et al.*, 2008).

Se ha observado en algunos casos que la presencia de antígeno viral diseminado es capaz de inducir la activación de linfocitos B y células presentadoras de antígeno en bazo (Malik *et al.*, 2008). El resultado de tal infección es la presencia de anticuerpos IgA e IgG a nivel local y sistémico. En niños con gastroenteritis por rotavirus o asintomáticos se ha observado una correlación de niveles séricos de IgA con la presencia de síntomas menos graves (Desselberg *et al.*, 2011).

3.1.1. Inmunidad innata

Ante una infección por rotavirus, la inmunidad innata es la primera línea de defensa del organismo frente a la infección y replicación viral, antes de la generación de una protección mas específica como la inmunidad adaptativa (Holloway *et al.*, 2009). En la respuesta inmune innata existen mecanismos para detectar componentes específicos como ARN o ADN viral o productos intermedios por medio de patrones moleculares asociados a patógenos (PAMP's); así como también se producen

mediadores solubles secretados como IL-8, IL-1, INF- α , INF- γ , entre otros secretados por enterocitos y otras células (Rollo *et al.*, 1999; Koyama *et al.*, 2008).

Para modular la respuesta inmune, rotavirus tiene varios mecanismos para regular negativamente la síntesis de citocinas de la respuesta innata temprana. Entre estos mecanismos, se encuentran, la degradación en el proteasoma de los factores de transcripción IRF3, IRF5 e IRF7, involucrados en la síntesis de IFN- α (Patton *et al.*, 2007), la inhibición de la señalización de IFN-I e IFN-II en las células blanco mediante bloqueo de la traslocación de STAT1 y STAT2 al núcleo (Holloway *et al.*, 2009) y la inhibición de la síntesis de IFN- β mediante retención de NF- κ B en el citoplasma (Liu *et al.*, 2009). Lo cual podría estar asociado con la inflamación leve de la mucosa intestinal característica de la infección por rotavirus (Ramig, 2004).

3.1.1.1 Función de interferón de tipo I en infecciones virales.

Muchas de las infecciones causadas por virus se asocian a la producción de Interferón de tipo I (INF α/β) por las células infectadas. Los Interferones de tipo I juegan un papel importante en el control de un gran número de infecciones virales, estos INF's pueden estimular la expresión de genes que interfieren directamente con el ciclo de replicación viral. Esta capacidad de proveer un estado antiviral por medio de la supresión de la replicación viral es un factor crucial de la respuesta inmune del huésped para el control de la diseminación viral (Koyama *et al.*, 2008; Liu *et al.*, 2009).

Los INF's de tipo I son inducidos por una infección viral y tienen actividad autocrina y paracrina, lo que significa que pueden actuar en la misma célula donde se sintetizaron pero también tienen efectos sobre las células cercanas a la célula infectada por el virus (Bonjardim *et al.*, 2009).

Los principales productores de $INF\alpha$ son células dendríticas y los fagocitos mononucleares, mientras que el $INF\beta$ es producido por fibroblastos. La inducción de INF tipo I en respuesta a una infección viral consiste en 2 fases: la fase del reconocimiento del ARN de doble cadena por receptores intracelulares conocidos como Patrones moleculares asociados a patógenos (PAMP's), generalmente mediado por miembros de receptores RIG-I (Receptor inductor de ácido retinoico) o receptores tipo toll (TLR), con lo cual, se lleva a cabo la inducción del INF de tipo I, y la fase de generación de la señalización que resulta en la activación de las vías JAK-STAT y de factores de transcripción como lo son los IRF3 e IRF7 para ser traslocados al núcleo, donde serán transcritos en enzimas como ARNasas y ADNasas las cuales serán transportadas al citoplasma y actuarán sobre el genoma viral, proporcionando un estado antiviral que degrada al ARN mensajero y, por lo tanto, detiene la síntesis de proteínas. (Samuel, 2001; Patton *et al.*, 2009).

3.1.2 Inmunidad adaptativa

3.1.2.1 Inmunidad humoral

En humanos, la infección aguda por rotavirus induce la producción de anticuerpos IgM séricos los cuales serán reemplazados por IgG e IgA a medida que transcurre la

producción de anticuerpos específicos, estas últimas se han observados tanto en el sitio de infección local como a nivel sistémico (Blutt *et al.*, 2002). La mayoría de estos anticuerpos están dirigidos contra diferentes proteínas virales, como lo es VP4 y VP7 que tiene efecto inmunógeno, pero también se han observado anticuerpos contra VP6, NSP1, NSP4 (Blutt *et al.*, 2007a; Angel *et al.*, 2012).

El efecto protector de la inmunidad mediada por anticuerpos IgG e IgA ha sido ampliamente estudiado, demostrando ser la principal medida efectora a largo plazo contra la infección por rotavirus (Liu *et al.*, 2009). En México, se realizó un estudio en 200 niños, en el cual se les analizaron los niveles de IgA e IgG, donde se observó una significativa correlación entre los niveles de estos anticuerpos y la severidad de la infección, observándose que se logra una mayor protección a medida que las reinfecciones vayan siendo más recurrentes pudiéndose alcanzar una protección total después de 2 infecciones consecutivas, independientemente de si estas fueron sintomáticas o asintomáticas (Velázquez, 2009). Por ello, los mecanismos efectores de la inmunidad humoral contra la infección por rotavirus se pueden resumir en tres puntos:

- Los anticuerpos específicos anti-VP4 y anti-VP7 juegan un papel importante en la prevención, interfiriendo en la absorción y penetración del virus (Blutt *et al.*, 2007a).
- Además, en el modelo murino se ha observado que la IgA anti-VP6 puede inhibir la replicación viral durante su tránsito hacia el lumen intestinal (Liu *et al.*, 2009; Desselberger-Huppertz, 2011).
- La presencia de anticuerpos en el lumen del intestino delgado son la principal resistencia contra la infección por rotavirus (Estes, 2001).

3.1.2.2 Inmunidad celular

En cuanto a la inmunidad celular contra la infección por rotavirus, se ha estudiado ampliamente en humanos y en modelos animales. Estudios sobre la importancia de los linfocitos T CD8+ y CD4+ en respuesta frente a la infección por rotavirus han sido limitados, debido a la dificultad de obtener una cantidad adecuada de linfocitos T de sangre periférica (Greenberg, 2012). En adultos infectados por un brote de rotavirus, se observó que tal infección induce una baja respuesta de linfocitos CD8+ específicos, mientras que en niños se detectó una menor cantidad en comparación con la de adultos (Jaimes *et al.*, 2002).

La respuesta mediada por células inmunes puede proteger contra las reinfecciones a través de la producción de citocinas, secretadas principalmente por linfocitos T y macrófagos durante la activación y fases efectoras de la inmunidad innata y específica (Malik *et al.*, 2008). Las citocinas como el INF- γ y el TNF (factor de necrosis tumoral) son importantes para la protección del huésped, como se ha demostrado en estudios *in vitro*, donde el INF- γ inhibe la entrada de rotavirus en células intestinales de humanos CaCo-2 y HT29 (Rollo *et al.*, 1999).

Conocer los mecanismos de la respuesta inmune frente a rotavirus es importante, sobre todo cuando se presentan casos donde existen problemas de inmunodeficiencia, ya que en los pacientes que padecen de inmunodeficiencia severa rotavirus ocasiona infección crónica, síntomas prolongados e infección extraintestinal (Blutt *et al.*, 2007a; Malik *et al.*, 2008).

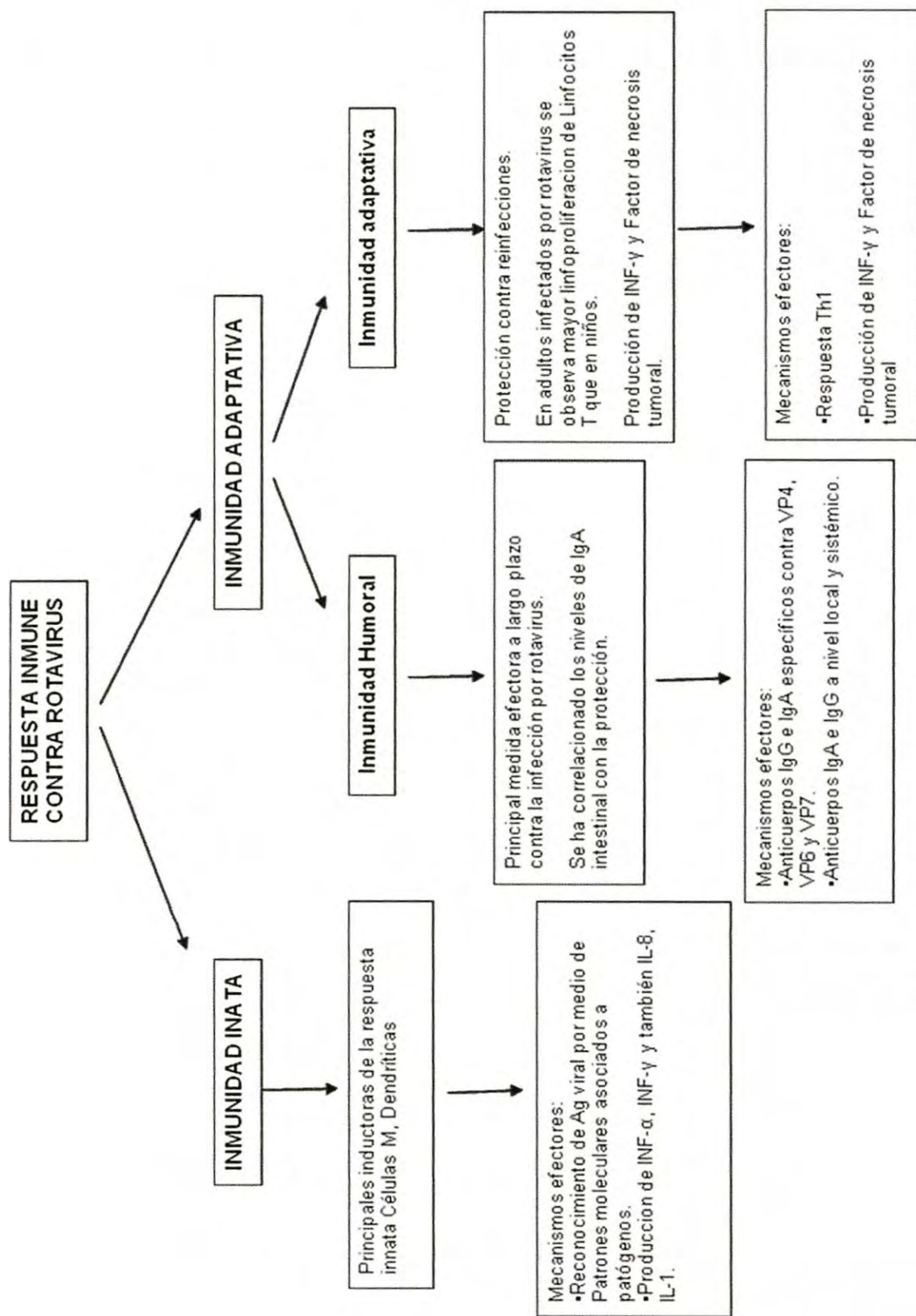


Figura 9. Mecanismos de la respuesta inmune contra rotavirus

4.0 INFECCIÓN SISTÉMICA POR ROTAVIRUS

4.1. Características de las Infecciones Localizadas y Sistémicas

Desde su identificación en 1973, la infección por rotavirus se ha considerado limitada a las células epiteliales del intestino delgado, siendo los enterocitos el principal sitio de replicación viral, donde causa alteraciones histopatológicas en las puntas de las vellosidades intestinales, atrofia y destrucción de los enterocitos. Además, a consecuencia de todo esto se produce un desbalance entre los mecanismos de absorción y secreción de nutrientes entre ellos agua y electrolitos, un aumento de la permeabilidad paracelular, produciendo una diarrea osmótica, donde participa la proteína NSP4 en los procesos que conllevan a tal padecimiento, ya que esta proteína no estructural actúa induciendo un incremento intracelular de calcio y desestabilizando el citoesqueleto celular y promoviendo un desequilibrio en los mecanismos de la célula huésped (Díaz *et al.*, 2008).

Recientemente, se han presentado casos donde la infección por rotavirus esta asociada con síntomas sistémicos (infección sistémica), afectando órganos extraintestinales como hígado, riñón, pulmones y corazón (Blutt *et al.*, 2007a). Estos casos sugieren la existencia de un posible mecanismo de diseminación extraintestinal por rotavirus en humanos (Blutt *et al.*, 2007b).

La infección sistémica por rotavirus se caracteriza por presentar complicaciones en órganos extraintestinales, como encefalopatías, problemas en vías respiratorias, meningitis aséptica, complicaciones neurológicas, hepatitis y nefritis (Crawford *et al.*, 2006; Dalgıç *et al.* 2010). En la mayoría de los casos se observa la presencia de

proteínas virales en suero (antigenemia) y viremia, demostrando así el posible escape de rotavirus del intestino hacia otro órganos (Blutt *et al.*, 2006).

Un estudio ha demostrado que las proteínas y ARN de rotavirus pueden ser comúnmente detectadas en suero de niños infectados con rotavirus, contrastando con lo especulado por otros autores, donde la infección extraintestinal se le atribuía a niños inmunodeficientes y al tipo de cepa infectante de rotavirus (Blutt *et al.*, 2006). Mientras que la viremia en infecciones por rotavirus está relacionada con la presencia de antigenemia, independientemente de si exista o no diarrea (Blutt *et al.*, 2007b).

Por lo tanto, la frecuencia de detección de antigenemia y/o viremia en niños infectados por este virus, así como los casos reportados por varios autores donde la infección se asocia con síntomas sistémicos y complicaciones en otros órganos, y tomando en cuenta la información existente de diseminación extraintestinal de rotavirus en modelos animales, podemos fundamentar la posibilidad que existe un mecanismo involucrado en la diseminación del virus hacia otros órganos donde pudiese llevar a cabo la replicación e infección viral (Blutt *et al.*, 2007a).

4.2 Antigenemia y Viremia

Comúnmente se ha reportado que rotavirus permanece en el intestino delgado durante el curso de la infección, se ha reportado la presencia de antigenemia en un 67% de niños inmunocompetentes con gastroenteritis causada por rotavirus (Blutt *et al.*, 2003). Algunas investigaciones en animales, han reportado la presencia de antígenos virales en suero pero también en múltiples órganos, incluyendo estomago,

intestino, hígado, pulmón, bazo, riñón, páncreas, timo (Sugata *et al.*, 2008). En humanos, los antígenos de rotavirus se han detectado en bazo, corazón, hígado, riñón, además en secreciones del tracto respiratorio, líquido cefalorraquídeo y también en monocitos y leucocitos de niños y adultos que padecen gastroenteritis (Blutt *et al.*, 2007a).

La detección de antigenemia en humanos es difícil, por el hecho que diversos factores afectan su detección, entre los cuales, el tiempo entre la toma de la muestra y el comienzo de la enfermedad, la presencia de anticuerpos (IgG) en suero y también la edad del niño (Blutt *et al.*, 2007b).

La antigenemia es frecuentemente observada en el suero de pacientes durante la fase aguda de la infección, pero los niveles de antígenos virales en suero disminuyen dramáticamente con el comienzo de la enfermedad (Sugata *et al.*, 2008). Para que se presente la antigenemia se requiere que haya replicación viral porque se ha observado que al utilizar cepas inactivadas e inocularlas, la antigenemia no se presenta, además puede haber presencia de antigenemia sin haber excreción viral en heces o manifestaciones clínicas de diarrea, y esta sucede a menudo en infecciones causadas por rotavirus y se correlaciona con la replicación viral en el intestino, pero no en sitios extraintestinales (Blutt *et al.*, 2006; Ramani *et al.*, 2010).

En lo que respecta a la presencia de viremia (partículas infectantes virales en suero), existen estudios realizados en modelos animales que demuestran la presencia de partículas infecciosas virales en sitios extraintestinales, sugiriendo que la posible viremia es parte del curso natural de la infección por rotavirus (Ramani *et al.*, 2010).

La presencia de ARN en circulación proporciona evidencia de que la partícula infectante pueda escapar del intestino hacia circulación sanguínea e invadir y

replicar en otros sitios provocando graves complicaciones. La detección de ARN viral en suero ha sido corroborada en ratas, cerdos y en niños con gastroenteritis causada por rotavirus, donde la detección de viremia ha sido directamente relacionada a la presencia de antigenemia, lo cual podría confirmar la presencia del virus en circulación, siendo así el virus podría tener acceso a diferentes sitios por medio del contacto de la sangre con los diferentes órganos (Blutt *et al.*, 2006; Ramani *et al.*, 2010). El origen del virus en la circulación sanguínea es desconocido, sin embargo, la replicación extraintestinal pudiese ser la fuente de las partículas infecciosas de rotavirus en sangre (Blutt *et al.*, 2007a).

El ARN viral se ha detectado en distintos sitios como hígado, riñón, sistema nervioso central y líquido cefalorraquídeo, células endoteliales de niños infectados por rotavirus, demostrando que durante la infección rotavirus puede escapar del intestino e infectar otros órganos (Blutt *et al.*, 2007b).

4.3 Incidencia de Infecciones Sistémicas

La información acerca de la frecuencia con la que se presentan casos donde se observa antigenemia y viremia durante la fase aguda de la infección asociada a manifestaciones clínicas extraintestinales, sugieren que la infección por rotavirus no solamente es una infección localizada en el intestino, sino que también se puede considerar que rotavirus puede causar una infección sistémica. Se especula que de los 111 millones de casos de hospitalizaciones por gastroenteritis causada por rotavirus al año, aproximadamente 10,000 (0.01%) de ellos provoca manifestaciones de enfermedad sistémica (Raming, 2007).

Nuevas evidencias nos indican que la presencia de antigenemia y viremia es mas común de lo que se pensaba, ya que se han reportado estudios clínicos donde la presencia de antigenemia fue del 67% (22/33) de los casos de niños con infección por rotavirus y donde además, en 3 de 6 muestras se les detectó la presencia de ARN viral en suero (Blutt *et al.*, 2003). Esto también fue confirmado por Fisher y colaboradores en 2005, en un estudio donde el 43% (30/70) presentaron antígenos virales en la fase aguda de la infección, un 82% (9/11) fue positivo para ARN viral además de esto, encontraron partículas virales de rotavirus en tejidos y en suero de 2 niños que murieron.

Otro estudio realizado en India por Ramani y colaboradores en 2010 detectó antígenos virales de VP6 de rotavirus en suero de 56 de un total de 111 niños con diarrea por rotavirus. También en 7 de 44 niños a los cuales no se les detecto presencia de rotavirus en heces por medio del método de ELISA.

En 2008, Sugata y colaboradores reportaron la detección de antígenos virales, asociándolos a manifestaciones extraintestinales en niños con gastroenteritis causadas por rotavirus del grupo A. En éste estudio se describe que la antigenemia llega a su nivel máximo a los 2 días de la infección, después de esto disminuyen gradualmente hasta no ser detectados cerca del día 6 de la infección. En este estudio el nivel de antígenos virales detectados después del día 2 de la infección son significativamente altos comparados con los niveles detectados en el primer día de la infección, sugiriendo que la diseminación de rotavirus del grupo A puede necesitar de al menos 2 días para llegar al torrente sanguíneo. Así mismo, también demostró que la cuantificación de los niveles de antígenos virales en pacientes que presentaban fiebre fueron significativamente elevados en comparación con los

pacientes que no presentaron fiebre, lo cual indica que la presencia de fiebre se correlaciona con la presencia de antigenemia, sugiriendo que la presencia de antígenos virales puede relacionarse con síntomas más severos de la infección. Tal observación concuerda con un estudio en Italia donde se detectó ARN viral en 9 niños positivos a rotavirus, correlacionando así la presencia de antigenemia con fiebre superior a los 38.5 grados (Ramig, 2007).

En 2010, Fujita y colaboradores realizaron un estudio para identificar la presencia de antígenos virales y ARN viral en niños con gastroenteritis causada por rotavirus. Ellos observaron en sus estudios que el 75% (12/16) de sus pacientes presentaron antigenemia mientras que el 81.3% (13/16) presentó ARN viral en suero de pacientes con gastroenteritis causada por rotavirus. Donde también analizaron el suero de infantes menores de 6 meses de edad, los cuales resultaron negativos para antígenos virales de rotavirus del grupo A, pero positivo para la presencia de ARN viral; sugiriendo que en la infección por rotavirus del grupo A, la presencia de antigenemia no puede ser siempre un indicador de la presencia de partículas virales infecciosas.

La presencia de ARN viral en líquido cefalorraquídeo ha sido documentada en 2 estudios donde se detectó por medio de RT-PCR. El primer estudio fue realizado por Lynch y colaboradores (2001) donde se les detectó ARN en líquido cefalorraquídeo en 2 pacientes (incluso en 1 paciente se le detectó en 2 ocasiones 3 semanas después) con gastroenteritis por rotavirus, los cuales desarrollaron encefalopatía por lo tanto, representa una asociación entre la infección por rotavirus y las complicaciones sistémicas, aunque no se descartó la posibilidad de que la muestra de LCR haya sido contaminada por rotavirus al momento de la punción lumbar.

Además, se concluyó que por lo menos, 4% de las infecciones por rotavirus pueden desarrollar síntomas en sistema nervioso central. En el segundo estudio el ARN fue detectado en una niña de 4 años de edad con encefalitis e inflamación cerebral, en quien la rotavirus A fue detectada en sangre y LCR (Thompson *et al.*, 2012).

4.4 Manifestaciones Clínicas y Complicaciones

Un aspecto importante de la infección por rotavirus es su diseminación extraintestinal y la asociación con manifestaciones sistémicas, tales como: compromiso hepático (hepatitis transitoria), respiratorio (neumonía), de piel (exantema), y neurológicos (encefalitis, meningitis, convulsiones); incluso en muchos estudios se han detectado antígenos virales o ARN viral en secreciones respiratorias y líquido cefalorraquídeo de los pacientes afectados (Crawford *et al.*, 2006; Thompson *et al.*, 2012).

4.5 Proteínas celulares y virales que participan en diseminación del virus

En las infecciones por rotavirus se ha estudiado la función antiviral, lo cual ha demostrado que los niveles de interferón de tipo 1 se encuentran elevados en niños, y también que la administración exógena de INF- α tiene un efecto significativo en la severidad de la diarrea en animales de experimentación (Greenberg *et al.*, 2009). Sin embargo, la deficiencia de STAT1, un transductor importante de señalización de INF, se ha correlacionado con el aumento de excreción viral en ratones durante la infección por rotavirus (Vancott *et al.*, 2003). Además, la alteración en señalización del INF en ratones por la acción de la NSP1, se ha asociado a la diseminación extraintestinal de la infección por rotavirus y al desarrollo de enfermedades

sistémicas, tales como atresia biliar y pancreatitis, lo que sugiere que el interferon de tipo I tiene un rol importante en la restricción de la infección (Barro *et al.*, 2005).

Se ha propuesto que la proteína no estructural NSP3 de rotavirus está involucrada en la diseminación extraintestinal y se especula que un rearrreglo en el segmento 7 pudiese ser un factor importante en la diseminación. Tal segmento codifica para la proteína no estructural 3 (NSP3) y un rearrreglo genético en este, pudiera mostrar cambios significativos, con una mayor capacidad de replicación viral y diseminación en otros tejidos (Ramig, 2007). Estos se pueden evidenciar en un estudio realizado por Mossel y colaboradores en 2002, donde compararon la capacidad de diseminación de dos cepas de rotavirus RRV, SA11-CL4 hacia el hígado. Ambas replicaron en las células intestinales, aunque con diferente cinética, SA11-CL4 tuvo un rápido aumento y desapareció; mientras que RRV estuvo presente a lo largo de la infección, ambas cepas expresaron niveles significativos de NSP3, sugiriendo que el escape de rotavirus pudiese correlacionarse con estos niveles de NSP3 en el intestino.

En un estudio en 2003 realizado por Mossel y colaboradores se utilizó un modelo de ratón, en este trabajo se examinó el mecanismo de diseminación intestinal de rotavirus inoculados de forma oral, y observó que la cepa RRV presentó una progresión temporal desde el intestino hacia el íleon terminal y también hacia ganglios linfáticos, pero no fue así con la cepa SA11-CL4. Concordando con los resultados de un estudio realizado en 2002 por este mismo autor, en el cual la cepa RRV, presentó un rearrreglo en el segmento 7 que codifica para NSP3, en donde se encontró ser una determinante para la diseminación hacia hígado, por presentar

niveles significativa de expresión de esta proteína, sugiriendo que estos cambios pueden afectar la capacidad de diseminación del virus (Mossel *et al.*, 2002).

4.6 Mecanismos de diseminación extraintestinal

Para contrarrestar la respuesta inmune innata, la mayoría de los virus han desarrollado mecanismos para subvertir la señalización de INF, incluyendo los rotavirus. Estos antagonizan la inducción de INF a través de la acción de la proteína no estructural NSP1, que induce la degradación proteosomal de uno o más factores de transcripción necesarios para la expresión eficaz de INF tipo I (Patton *et al.*, 2009). Por ello, el grado de diseminación extraintestinal y replicación de rotavirus, puede deberse en parte a la capacidad de una cepa de rotavirus para inhibir el sistema de INF en células específicas (Patton *et al.*, 2005; Angel *et al.*, 2012).

El primer paso para el escape de rotavirus del intestino delgado es a través de las células migratorias las cuales se encuentran en la parte de las microvellosidades del intestino delgado, estas células endocitan al virus para la presentación de antígeno a las células inmunes. Se ha observado que rotavirus infecta células dendríticas, y se replica en células B y macrófagos en modelos animales, y así llegar hasta placas de peyer o algún otro órgano (Feanux *et al.*, 2006; Ramig, 2007). Por otra parte, estudios realizados Mossel y colaboradores en 2003, sugieren que existe una asociación entre la expresión de la NSP3 y la diseminación extraintestinal, la cual puede ocurrir a través del sistema linfático hasta llegar a nódulos linfáticos mesentéricos, y así migrar hacia circulación periférica u otros órganos.

Un mecanismo alternativo de cómo rotavirus entra en circulación periférica está asociado con los efectos producidos por la NSP4 en los enterocitos, la cual

desestabiliza las uniones célula-célula, provocando una mayor permeabilidad intestinal, y proporcionando una vía por la que el virus podría alcanzar la superficie basolateral de las células adyacentes, también podría cruzar la membrana basal y entrar en circulación periférica (Ramig, 2007).

5. ESTRATEGIAS DE ROTAVIRUS PARA LA EVASIÓN DEL SISTEMA INMUNE CELULAR Y SU RELACIÓN CON INFECCIONES SISTÉMICAS

5.1 Variabilidad Genética: Recombinación y rearrreglos genéticos

El genoma de rotavirus del grupo A posee 11 segmentos de doble cadena de ARN, que puede visualizarse por medio de la técnica de electroforesis en gel de poliacrilamida (PAGE), estos exhiben un patrón típico donde se observan cuatro grupos de segmentos bien definidos de acuerdo a su peso molecular. Sin embargo algunos rotavirus muestran patrones de ARNcd inusuales en las que los segmentos de tamaño estándar, se sustituyen por formas mas grandes lo cual pudiese representar un rearrreglo genético y/o mutación (Troupin *et al.*, 2010).

El rotavirus tiene una alta capacidad de mutación por varios factores, primero la enzima responsable de su replicación, ARN polimerasa tiene baja fidelidad; por otro lado debido a su organización segmentada que muestran sus genes, se pueden presentar una gran combinación y diversidad en las cepas de este virus (Palombo, 2001).

Existen otros mecanismos que provocan variabilidad genética: la capacidad de recombinación y los rearrreglos genéticos, los cuales se manifiestan en las coinfecciones (introducción de cepas de rotavirus animal a la población humana) con

diferentes cepas de rotavirus. Sin embargo, de estos mecanismos el más importante en la generación de nuevas variedades es la denominada recombinación por rearreglos genéticos (Infante-Ramírez *et al.*, 2007).

Por lo tanto, se ha propuesto que las variaciones genéticas son importantes en la evolución y propagación del virus. Estas variaciones provocan alteraciones considerables de las porciones de los segmentos individuales del genoma, a veces deleciones y con frecuencia una duplicación parcial de la secuencia del segmento, en la mayoría de los casos ocurre después del codón de término (Troupin *et al.*, 2010; Taniguchi *et al.*, 2012). Diversas variantes con segmentos reordenados y fenotipos han sido aislados en niños inmunocompetentes principalmente durante la infección crónica (Schnepf *et al.*, 2001; Taniguchi *et al.*, 2012)

El genoma segmentado de rotavirus proporciona una alta probabilidad de generar diversidad genética, a través de rearreglos genéticos entre diferentes cepas de rotavirus (mismo grupo o especie) durante las infecciones mixtas *in vivo*, en las cuales un alto porcentaje de los virus de la progenie resultante poseerán genomas reordenados, generando así muchas combinaciones de genotipos G y P diferentes y por lo tanto, el surgimiento de una nueva cepa viral (Tabla 2) (Gray *et al.*, 2008; Yi *et al.*, 2011).

Genotipos de Rotavirus	Origen posible de las cepas
G1P[8] G2P[4] G3P[8] G4P[8]	Genotipos comunes en humanos
G1P[4] G2P[8] G4P[4]	Genotipos recombinados entre cepas humanos
G1P[9] G4P[6] G9P[8] G12P[8]	Genotipos recombinados entre cepas humanas y animales
G9P[6] G9P[11] G10P[11] G12P[6]	Posible introducción zoonótica

Tabla 2. Diversidad de Genotipos y cepas recombinadas
(Fuente Gray *et al.*, 2008)

5.2 Participación de la proteína NSP1 en la evasión del sistema inmune y diseminación viral

La proteína NSP1 es de 55-kDa esta codificada por el gen 5 del genoma de rotavirus. El gen que codifica para NSP1 es el que presenta mayor grado de variabilidad en la secuencia de nucleótidos que cualquiera de las demás genes de rotavirus, con una similitud por debajo del 40% de entre las cepas del grupo A (Bagchi *et al.*, 2010).

La capacidad de NSP1 para interferir con el establecimiento de un estado antiviral, sugiere que esta proteína es un factor importante en la diseminación viral (Barro *et al.*, 2004). Para ello, los rotavirus han desarrollado mecanismos específicos para evadir la respuesta antiviral por medio de la supresión de la producción de Interferones de tipo I (figura 10), utilizando por lo menos uno o varios mecanismos (Sherry., 2009; Quin *et al.*, 2011), mismos que se mencionan a continuación:

- Induciendo la degradación proteosomal de los factores de transcripción de interferon (IRF3, IRF5, IRF7), para prevenir la inducción de INF.
- Inhibiendo la activación del factor nuclear- $\kappa\beta$ (NF- $\kappa\beta$) por medio de la degradación de β -TrCP, lo que resulta insuficiente para la inducción de INF.
- Secuestrando NF- $\kappa\beta$ en viroplasma.
- Previniendo la acumulación nuclear de STAT1 y STAT2.

Rotavirus puede inducir la degradación proteosomal de los factores de transcripción de interferon (INFR's) mediante la acción de la NSP1. Dos de ellos, IRF3 e IRF7 son importantes para la expresión de interferon de tipo I. Ambos, IRF3 e IRF7 se encuentran en forma inactiva en el citoplasma, pero son activados a través

de la fosforilación de residuos de serina en el carbono terminal. Las formas activas de estas moléculas son dimerizadas y translocan hacia el núcleo donde interactúan con promotores específicos, estimulando la expresión de INF- α e INF- β (Barro *et al.*, 2005). Es importante destacar que la activación de IRF7 tiene mayor efecto en la inducción de la expresión de interferones de tipo I que IRF3 (Barro *et al.*, 2011). Por lo tanto, la capacidad de NSP1 para inducir la degradación pudiese permitirle a rotavirus desplazarse a través de la barrera intestinal, permitiendo que el virus se replique en células como macrófagos y células dendríticas que expresan mayormente IRF7 (Liu *et al.*, 2009).

Una estrategia más de algunos virus es la activación de NF- $\kappa\beta$, ya que este inhibe la apoptosis y promueve la proliferación celular, beneficiando al virus en su proceso de replicación (Liu *et al.*, 2011). Estudios recientes por Graff (2009) han demostrado que NSP1 también inhibe la activación de NF- $\kappa\beta$ y lo hace por medio de un nuevo mecanismo, la degradación proteosomal mediada por el inhibidor de $\kappa\beta\alpha$ ($\text{I}\kappa\beta\alpha$) necesario para la activación de NF- $\kappa\beta$, estos datos demuestran que la fosforilación $\text{I}\kappa\beta\alpha$ es estable en la infección por rotavirus, porque la infección induce la degradación proteosomal de β -TrCP.

Por otra parte, en un estudio realizado por Holloway y colaboradores (2009), también se demostró que las cepas RRV y Wa pueden antagonizar la respuesta antiviral mediante la inhibición de la acumulación nuclear no solo de NF- $\kappa\beta$, sino también de STAT1 y STAT2 que es una estrategia más por la cual rotavirus puede evadir la respuesta inmune.

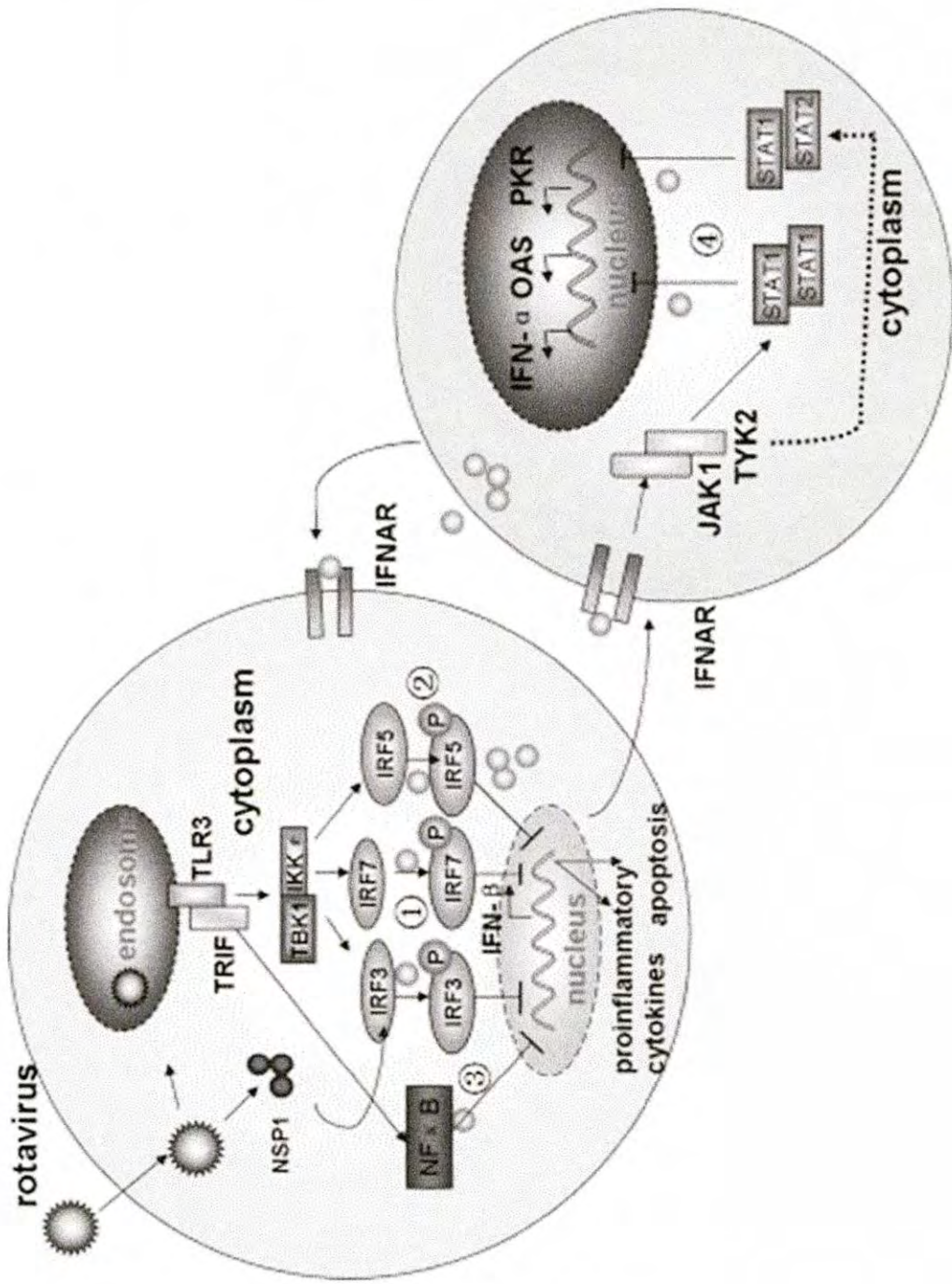


Figura 10. Mecanismos de evasión de la inmunidad innata de rotavirus (Fuente Liu *et al.*, 2009).

6. DIAGNÓSTICO CLINICO

La diarrea aguda por rotavirus, es autolimitada, de comienzo brusco, con vómitos y fiebre (1 a 2 días), deposiciones líquidas, abundantes y frecuentes, generalmente ácidas y de color amarillo, que duran de 5 a 7 días y terminan abruptamente. Cabe mencionar, que basándose en el cuadro clínico, es difícil diagnosticar la gastroenteritis por rotavirus de otras causas de gastroenteritis aguda y es por eso que la confirmación de esta infección es requerida mediante el laboratorio.

Considerando la alta incidencia de esta infección, surge la necesidad de utilizar métodos rápidos y confiables para el diagnóstico de rotavirus, a fin de asegurar una terapia adecuada (Fariña *et al.*, 2008). Existen diversos métodos disponibles, de tal manera que la técnica de elección depende del equipo y reactivos con que se disponga.

Los métodos de diagnóstico viral se basan en:

- Detección del agente viral completo o sus componentes: por aislamiento viral con observación del efecto inducido por el virus vivo propagado en un huésped biológico, visualización de la partícula viral total o parcial, por la detección de sus componentes macromoleculares (antígenos virales o ácidos nucleicos) (Rivera *et al.*, 1995).
- Detección de la respuesta inmune del huésped mediante el estudio de anticuerpos antivirales (serología) (Rivera *et al.*, 1995).

Los métodos más usados para la identificación del rotavirus o de su antígeno son: microscopia electrónica, inmunoensayos (Elisa) y aglutinación en latex (Fariña *et al.*, 2008).

Microscopia electrónica: Fue el primer método usado para la identificación del virus y es actualmente el método de referencia. Detecta 10^6 partículas de rotavirus por ml /heces. Este procedimiento no distingue grupo o serotipo. Se utilizan dos tinciones especiales con sales de metales pesados, el uranio y el tungsteno. La primera es la tinción negativa donde el acetato de uranilo forma un molde viral que permite detallar la estructura del virus. La segunda tinción es la del sombreado, donde las partículas virales se ponen en un ángulo donde el metal que se utiliza en ella se deposita sobre el virus pero no sobre su sombra y se visualiza lo que no se ha cubierto con el metal, esta técnica no revela las estructuras internas del virus sino su forma y dimensiones. El uso de equipo especializado, el elevado nivel técnico y la baja sensibilidad, hacen que este sistema sea poco usado (Flewet *et al.*, 1974).

El método de ELISA: Puede detectar 10^6 partículas virales por gramo de heces, lo cual lo hace más sensible que el microscopio electrónico. Existe una gran cantidad de métodos de ELISA comerciales, los cuales solamente detectan rotavirus del grupo A (usan anticuerpos anti VP6). La finalidad de este método es el diagnóstico de la infección por rotavirus mediante el uso de anticuerpos monoclonales que detectan la existencia de antígeno vírico VP6 (cápside interna del virión) en muestras de heces. Con esta técnica se pueden procesar una gran cantidad de muestras clínicas en forma

rápida y sencilla. Las ventajas de este método son, la fácil manipulación, emplea pocos reactivos, proporciona información diagnóstica rápida (Nusetti *et al.*, 2001).

Aglutinación de Látex: Las partículas de látex son esferas de poliestireno que unen fácilmente al fragmento cristizable de moléculas de inmunoglobulina G (IgG) o inmunoglobulina M (IgM), esta última es mucho más eficiente en aglutinar partículas naturales. Los fragmentos de unión del anticuerpo quedan expuestos y son capaces de unirse al antígeno que se encuentra en la muestra. Cuando los antígenos tienen varios epitopes, los anticuerpos multivalentes acoplados a múltiples partículas de látex se unen al antígeno y se produce un entramado de las partículas de látex que dan como resultado una aglutinación visible. Ventajas de esta técnica, es fácil de realizar, requiere unos minutos y no necesita equipo (Serio, 2009).

Reacción en cadena de la polimerasa: Mediante esta técnica se pueden encontrar cantidades mínimas del ácido nucleico del rotavirus en muestras de heces fecales gracias a la amplificación selectiva y repetitiva de una secuencia de nucleótidos de un microorganismo determinado que hace un proceso de síntesis de ADN. Sirve para serotipificar el virus en base a las diferencias del gen que codifica VP7, tiene una sensibilidad de 1000 a 10000 veces más que ELISA (Yolken *et al.*, 1994). Esta técnica consta de 3 pasos: a) La desnaturalización del ADN en la muestra, lo que se logra al someterlo a altas temperaturas para lograr la separación de las cadenas, b) La hibridización de los cebadores, que son fragmentos cortos de ADN complementarios a los extremos 5 y 3 de las secuencias por amplificar y a partir de los cuales se inicia la síntesis y c) la extensión de estos cebadores por la enzima ADN polimerasa

termoestable que produce dos bandas de ADN que son idénticas a la banda de blanco original, así que en cada ciclo de estos pasos, se duplica el material genético hasta que se evidencia en un gel de agarosa y se confronta con una sonda específica para confirmar la identificación final de material encontrado (Rodríguez *et al*, 2004).

Las técnicas más recomendadas para el diagnóstico son las basadas en inmunocromatografía, porque precisan menor cantidad de muestras, requieren menor entrenamiento previo del personal que la realiza y son más rápidas. La RT-PCR, se ha convertido en un instrumento diagnóstico utilizado principalmente en los estudios epidemiológicos (Faraña *et al.*, 2008).

7. TRATAMIENTO

No existe un tratamiento específico para la gastroenteritis causada por rotavirus. El principal objetivo va encaminado a prevenir y tratar la deshidratación secundaria al proceso infeccioso y, una vez realizado esto, la recuperación nutricional (Santosham, 1997). Para ello se indica el inicio de forma precoz del aporte de líquidos en forma de solución de rehidratación oral y el comienzo de la alimentación habitual del niño para favorecer la nutrición y la recuperación funcional del enterocito. (Pachón del Amo *et al.*, 2006).

- Rehidratación
- Las soluciones de rehidratación oral se basan en su contenido de glucosa y sodio y en que el transporte de ambos estimula la absorción de agua. El

estándar de las soluciones de rehidratación oral, de acuerdo a la organización mundial de la salud, es la siguiente: Sodio 90 mmol/L, cloro 10 mmol/L, potasio 20 mmol/L, citrato 10 mmol/L, glucosa 111 mmol/L. (Alam *et al.*, 1996).

La disponibilidad actual de soluciones de rehidratación oral adecuadas hace que su administración sea el método de elección en el tratamiento de la deshidratación. Respecto a la técnica, se aconseja la administración del líquido de forma fraccionada en pequeños volúmenes de 5 a 10 ml cada 2-3 minutos, para una mejor tolerancia, de acuerdo a la tolerancia el volumen irá en aumento. Cabe mencionar que la rehidratación se realiza durante 4 horas (Román *et al.*, 2008).

- Planes de rehidratación A, B, C.

El primer paso es establecer el grado de deshidratación a partir de los signos presentes, para elegir el tratamiento más apropiado. El niño debe ser evaluado y tratado según las reglas y planes de prevención y manejo de diarreas, disponibles en los manuales de AIEPI (Atención Integrada a las Enfermedades Prevalentes de la Infancia) de la OPS:

Plan A: Es para los casos sin signos de deshidratación. Se recomienda dar al niño más líquidos que de costumbre y alimentarlo adecuadamente para prevenir la deshidratación y la malnutrición; es aconsejable llevar el niño al servicio de salud si no mejora en tres días o si presenta signos de gravedad, como vómitos repetidos, fiebre, numerosas deposiciones o resistencia a comer o beber. (Organización Panamericana de la Salud, 2007).

Plan B: Es una terapia de rehidratación oral que comienza en el servicio local de salud y luego continúa en el hogar (Organización Panamericana de la Salud, 2007).

Plan C: Es el tratamiento indicado para los casos más graves —cuando el niño bebe poco o no es capaz de beber, se presenta con ojos hundidos, mucosas muy secas, o letárgico o inconsciente— y es necesaria la rehidratación por vía venosa (Organización Panamericana de la Salud, 2007).

- Realimentación precoz.

Se ha observado que la instauración de la alimentación completa habitual del niño tras 4 horas de rehidratación oral conduce a una mayor ganancia de peso y no conduce a una mayor duración de la diarrea. Además aumenta el bienestar del niño al poder comer libremente, los alimentos varían desde leche materna, fórmula, leches especiales y dietas mixtas (Saulsbury *et al.*, 1980).

- Tratamiento farmacológico.

No existe tratamiento específico antiviral de eficacia probada, pero se pueden considerar algunos medicamentos para el manejo de los pacientes. Racecadotril, inhibidor específico de la encefalinasa, inhibe la hipersecreción y disminuye la duración de la enfermedad. Agentes probióticos, como el *Lactobacillus*, se usan de manera temporal y pueden acortar la duración de la enfermedad (Desselberger *et al.*, 2009).

Leche materna con anticuerpos rotavirales se ha utilizado de manera exitosa con niños inmunodeficientes. El uso de antibióticos está reservado para casos en los que se

demuestre coinfección bacteriana o parasitaria, ya que de cualquier otra manera, el uso de estos es inapropiado (Davidson, 1996).

8. CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS

En algunos estudios se ha demostrado que la presencia de antigenemia y viremia se ha asociado con procesos sistémicos, con una incidencia de aproximadamente el 60% de antigenemia, mientras que la viremia pudiera o no estar presente, por lo tanto, la replicación extraintestinal pudiera ser la que da origen a estas mismas. La infección sistémica por rotavirus es un proceso que se da frecuentemente en niños inmunocomprometidos, pero cabe mencionar que se han observado casos, en donde los niños presentan signos de una diseminación del virus hacia otros órganos. En estos casos rotavirus afecta órganos como hígado, riñón, pulmones y corazón, provocando complicaciones como encefalopatías, problemas en vías respiratorias, meningitis aséptica, complicaciones neurológicas, hepatitis y nefritis. Un factor involucrado en la diseminación viral hacia otros órganos es la capacidad de rotavirus de infectar y replicar en macrófagos y células dendríticas, utilizando este medio para llegar a tejido linfoide y dirigirse a nódulos linfáticos mesentéricos para después entrar a torrente sanguíneo, lo cual se ha observado en modelos murinos en animales de experimentación. Por otra parte, la participación de la proteína NSP3 es importante en el proceso de diseminación, ya que en dicho estudio se observó que la cepa RRV fue capaz de diseminarse hacia el hígado, tal cepa presentó niveles significativos de NSP3 al momento de la infección viral, sugiriendo que el segmento 7 posee gran importancia y es un factor involucrado en la diseminación viral. El proceso de la diseminación del virus no está del todo establecido, pero se consideran que algunas proteínas están involucradas en este proceso, una de ellas es la NSP1, la cual tiene la capacidad de interferir en la respuesta inmune innata por medio de la supresión de la inducción del

interferon de tipo I y también interferir en el proceso de señalización de las Vías Jak-STAT y prevenir su traslocación al núcleo. Esta supresión de la respuesta inmune innata pudiera ser una alternativa utilizada por rotavirus para su diseminación extraintestinal, concluyendo así que el gen 5 es un importante factor de virulencia del virus. Debido a que rotavirus puede asociarse a un mayor número de infecciones sistémicas del que se consideraba previamente; es importante estudiar los factores asociados a éste proceso, considerando la respuesta inmune de la persona infectada y los factores virales como NSP1 y NSP3 con la finalidad de elucidar los mecanismos que conllevan a una infección sistémica.

BIBLIOGRAFIA

- Angel, J. Franco, MA. Greenberg, HB. (2012) Rotavirus immune responses and correlates of protection. *Current opinion in virology* 2012, 2:419-425
- Barro, M., and J. T. Patton. 2005. Rotavirus nonstructural protein 1 subverts innate immune response by inducing degradation of IFN regulatory factor 3. *Proc Natl Acad Sci U S A* 102:4114-4119.
- Bishop, R. (2009). Review: Discovery of rotavirus: Implication for children health. *Journal of Gastroenterology and Hepatology* 24 (2009) Suppl. 3; S81–S85
- Blunt, SE, Warfield, KL. Lewis, DE. Conner, ME. (2002) Early response to rotavirus infection involves massive B cell activation. *Journal of immunology. J. Immunology* 2002; 168:5716-5721.
- Blutt SE, Kirkwood CD, Parreno V, et al. (2003). Rotavirus antigenaemia and viraemia: a common event? *Lancet* 2003; 362:1445–1449.
- Blutt, SE. Connor, ME. (2007a). Rotavirus: to the gut and beyond!. *Current Opinion in Gastroenterology* 2007, 23:39–43
- Blutt, SE. Fenaux, M. Warfield, KL. Greenber, HB. Conner, ME. (2006). Active viremia in rotavirus-infected mice. *JOURNAL OF VIROLOGY*, July 2006, p. 6702–6705 Vol. 80, No. 13. doi:10.1128/JVI.00329-06
- Blutt, SE. Matson, DO. Crawford, SE. Staat, MA. Azimi, P. Bennett, BL. Piedra, P. Conner, ME. (2007b). Rotavirus antigenemia in children is associated with viremia. *PLoS Medicine* | www.plosmedicine.org. April 2007, Volume 4, Issue 4, e121.
- Bonjardim, CA. Ferreira P. Kroon, EG. (2009). Interferons: signaling, antiviral and viral evasion. *Immunology Letters* 122 2009 1–11
- Castello, A. Arvay, M. Glass, R. Gentsch, J. (2004). Rotavirus Strain Surveillance in Latin America: A Review of the Last Nine Years. *The Pediatric Infectious Disease Journal* • Volume 23, Number 10, October 2004
- Chen, S. Tan, LB. Huang, LM. Chen, KT. (2012). Rotavirus infection and the current status of rotavirus vaccines. *Journal of the Formosan Medical Association* (2012) 111, 183e193

- Crawford, SE. Patel, DG. Cheng, E. Berkova, Z. Hyser, JM. Ciarlet, M. Finegold, MJ. Conner, ME. Estes, MK. (2006). Rotavirus viremia and extraintestinal viral infection on the neonatal rat model. *JOURNAL OF VIROLOGY*, May 2006, p. 4820–4832 Vol. 80, No. 10
- Dalgıç, N. Hasim, Ö. Pullu, M. Sancar, M. Kadafar, I. Yulmaz, A. (2010) Is rotavirus diarrhea a systemic viral infection. *Çocuk Enf Derg* 2010; 4: 48-55
- Dennehy, P. (2008). Rotavirus vaccines: An overview. *CLINICAL MICROBIOLOGY REVIEWS*, Jan. 2008, p. 198–208.
- Desai, R. de Oliveira, LH. Parashar, UD. Lopman, B. et al. (2011). Reduction in morbidity and mortality from childhood diarrhoeal disease after species A rotavirus vaccine introduction in Latin America – A Review. *Mem Inst Oswaldo Cruz*, Rio de Janeiro, Vol. 106(8): 907-911, December 2011
- Desselberger, U. Huppertz, HI. (2011). Immune responses to rotavirus and vaccination and associated correlates of protection. *The Journal of Infectious Diseases* 2011;203:188–195
- Desselberger, U. Manktelow, E. Li, W. Cheung, W. et al. (2009). Rotaviruses and rotavirus vaccines. *British Medical Bulletin* 2009; 90:37–5 DOI:10.1093/bmb/ldp009
- Díaz, Y. Chemello, ME. Peña, F. Aristimun, OC. Zambrano, L. Rojas, H. Bartoli, F. Salazar, L. et al. (2008). Expression of nonstructural rotavirus protein NSP4 mimics Ca^{2+} homeostasis changes induced by rotavirus infection on cultured cells. *JOURNAL OF VIROLOGY*, Nov. 2008, p. 11331–11343 Vol. 82, No. 22 doi:10.1128/JVI.00577-08
- Domínguez, A. Godoy, P. Torner, N. Cardeñosa, N. y Martínez, A. (2009). La Gastroenteritis víricas: un problema de salud pública. *Rev Esp Salud Pública* 2009; 83: 679-687 N.º 5 - Septiembre-October 2009
- Esparza-Aguilar, M. Bautista-Márquez, A. González-Andrade, MC. Richardson-López-Collada, VL. (2009). Mortalidad por enfermedad diarreica en menores, antes y después de la introducción de la vacuna contra el rotavirus. *Salud Publica Mex* 2009;51:285-290.
- Estes, MK. Kang, G. Zeng, CQ. Crawford, SE. et al (2001). Pathogenesis of rotavirus gastroenteritis. Division of molecular virology and microbiology, Baylor college of medicine. Novartis Foundation symposium 2001; 238:26-37.
- Fariña, N. Galeano, ME. Martínez, M. Ferrerira, R. Vega, M. et al., (2008) Sensibilidad y especificidad del método inmunocromatografico utilizado para el diagnostico de rotavirus. *Mem. Inst. Investig. Cienc. Salud*. Vol 4(2) Diciembre 2008.

- Feng, BK. Feanux, M. Nguyen, H. Omary, MB. Greenberg, HB. (2008). Role of Interferon in Homologous and Heterologous Rotavirus Infection in the Intestines and Extraintestinal Organs of Suckling Mice. *JOURNAL OF VIROLOGY*, Aug. 2008, p. 7578–7590 Vol. 82, No. 15
- Fischer, TK. Ashley, D. Kerin, T. Reynolds-Hedmann, E. Gentsch, J. et al (2005). Rotavirus Antigenemia in patients with acute gastroenteritis. *Journal of infectious diseases* 2005; 192:913-9 Septiembre.
- Flewett, TH. Bryden, AS. Davis, H. Diagnostic electron microscopy of faeces, the viral flora of the faeces as seen by electron microscopy. *Journal Clinical Pathology.*, 1974, 27, 603-614.
- Fujita, H. Liu, B. Kohira, R. Fuchigami, T. Mugishima, H. Izumi, H. Kuzuya, M. Fujii, R. Hamano, M. Ogura, H. (2010). Rotavirus antigenemia and genomia in children with rotavirus gastroenteritis. *Jpn. J. Infec. Dis.*, 63, 83-86 2010.
- Glass, RI. Bresee, JS. Turcios, R. Fischer, TK. Parashar UD. (2005) Rotavirus Vaccines: Targeting the developing world. *Journal of infectious diseases* 2005; 192:2160-6
- Graff, J. W., Ettayebi, K., & Hardy, M. E. (2009). Rotavirus NSP1 inhibits NF κ B activation by inducing proteasome-dependent degradation of β -TrCP: a novel mechanism of IFN antagonism. *PLoS pathogens*, 5(1), e1000280.
- Gray, J. Vesikari, T. Van Damme, P. et al. (2008). Rotavirus *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*
- Greenberg, H. B., and M. K. Estes. 2009. Rotaviruses: from pathogenesis to vaccination. *Gastroenterology* 136:1939-1951.
- Gentile, A. Bruno, M. Del Pont, JM. Ellis, A. Russ, C. et al (2009) Gastroenteritis por rotavirus y su prevención. *Arch Argent Pediatr* 2006; 104(6):554-559
- Gentsch, JR. Laird, AR. Bielfelt, B. et al (2005). Serotype diversity and reassortment between human and animal rotavirus strains: implications for rotavirus vaccine programs. *Journal infectious diseases* 2005: 192:S146-159.
- Gibbons, TF. Storey, SM. Williams, CV. McIntosh, A. Mitchel, D. Parr, RD. Schoeder, ME. Schoeder, F. Ball, JM. (2011). Rotavirus NSP4: Cell type dependent transport kinetics to the exofacial plasma membrane and release from intact infected cells. *Virology Journal* 2011, 8:278
- Hagbom, M. Sharma, S. Lundgren, O. Svensson, L. (2012). Towards a human disease model. *Current Opinion in Virology* 2012, 2:1–11

- Hernandez, C. Aguilera, MG. Castro, G. (2011). Situacion de las enfermedades gastrointestinales en México. *ENF INF MICROBIOL* 2011 31 (4): 137-151
- Hodges, K. Gill, R. (2010). Infectious diarrhea Cellular and molecular mechanisms. *Gut Microbes* 1:1, 4-21; January/February 2010; Landes Bioscience
- Holloway, G. Truong, T.Coulson, SB. (2009) Rotavirus Antagonizes Cellular Antiviral Responses by Inhibiting the Nuclear Accumulation of STAT1, STAT2, and NF-B. *JOURNAL OF VIROLOGY*, May 2009, p. 4942–4951 Vol. 83, No. 10
- Hu, L. Crawford, SE. Hyser, MH. Estes, MK. Prasad, V. (2012). Rotavirus non-structural proteins: structure and function. *Current Opinion in Virology* 2012, 2:380–388
- Infante-Ramírez, R., Miranda, D. G., Reyes, A. B. T., Cisneros, H. E., & CORDERO, J. F. C. (2007). Rotavirus y vacunas.
- Iturriza, M. Wong, C. Bome, S. Desselberger, U. Gray, J. (2002). Molecular Characterization of VP6 Genes of Human Rotavirus Isolates: Correlation of Genogroups with Subgroups and Evidence of Independent Segregation. *JOURNAL OF VIROLOGY*, July 2002, p. 6596–6601 Vol. 76, No. 13
- Jaimes, M.C. Rojas, O.L. Gonzalez, A.M. Cajiao, I et al (2002) Frequencies of Virus Specifici CD4 and Cd8 T lymphocytes secreting gamma interferon after acute natural rotavirus infection in children and adults. *Journal of virology*, May 2002, p. 4741-4789 Vol. 76, No. 10 Doi. 10.1128/jvi/76.1004741 -4789
- Jankovic, D. Martin, R, Goel, A. Mulders, M. et al (2011). Increased transmission and outbreaks of measles European region. *Centers for disease control and prevention weekly/ Vol. 60/ No.47.*
- Koyama, Sh. Ishii, KJ. Coban, C. Akira, Sh. (2008) Minireview: Innate immune response to viral infection. *Cytokine* 43 (2008) 336–341
- Liu, K. Yang, X. Wu, Y. Li, J. (2009). Review: Rotavirus strategies to evade host antiviral innate immunity. *Immunology Letters* 127 (2009) 13–18
- Lynch, M, Lee, B. Azimi, P. Gentsch, J. et al (2001) Rotavirus and central nervous system symptoms: cause or contaminant? Case reports and review. *Infectious diseases society of America* 2001; 33:932-8
- Lorrot, M. Vasseur, M. (2007). Review How do the rotavirus NSP4 and bacterial enterotoxins lead differently to diarrhea? *Virology Journal* 2007, 4:31 doi:10.1186/1743-422X-4-31
- Malik, J. Maharaj K. Ray, B. (2008). Natural Immunity to Rotavirus Infection in Children, pp. 219-228.

- Marcelin, G. Miller, MD. Blutt, SE. Conner, ME. (2011). Immune Mediators of Rotavirus Antigenemia Clearance In Mice. *JOURNAL OF VIROLOGY*, Aug. 2011, p. 7937–7941 Vol. 85, No. 15 doi:10.1128/JVI.00844-10
- Matthijnsens, J. Ciarlet, M. Rahman, M. *et al* (2008). Recommendations for the classification of group A rotaviruses using all 11 genomic RNA segments. *Arch Virol.* 2008 ; 153(8): 1621–1629.
- Matthijnsens, J. Ciarlet, M. McDonald, SM. *et al.* (2011) Uniformity of rotavirus strain nomenclature proposed by the rotavirus classification working group (RCWG). *Archi Virology* 2011;156:1397-1413.
- Meneses, T. Moreno, L. (2007). Rotavirus. *Cuad. - Hosp. Clín.*, 2007, vol.52, no.1, p.97-106. ISSN 1652-6776
- Morris, A. P. y Estes, M. K. (2001). Microbes and microbial toxins: paradigms for microbial-mucosal interactions. VIII. Pathological consequences of rotavirus infection and its enterotoxin. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 281, G303-10.
- Mossel, EC.Raming, RF. (2002). Rotavirus Genome Segment 7 (NSP3) Is a Determinant of Extraintestinal Spread in the Neonatal Mouse. *JOURNAL OF VIROLOGY*, July 2002, p. 6502–6509 Vol. 76, No. 13
- Mossel, E. Raming, RF. (2003). A lymphatic Mechanism of rotavirus extraintestinal spread in the neonatal mouse. *Journal of Virology*. Nov. 2003, p. 12352-12356 Vol. 77. No. 22 10.1128/jvi.77.22.
- Mota-Hernández, F. Gutiérrez-Camacho, C. Villa-Contreras, S. Calva-Mercado, J. Arias, CF. Padilla-Noriega, L. Guiscafré-Gallardo, H. (2001). Pronóstico de la diarrea por rotavirus. *Salud pública de México / vol.43, no.6, noviembr e-diciembre de 2001*
- Nuseti, SY. Maldonado, AJ. Bastardo JW. (2001) Comparacion de tres métodos diagnósticos para la deteccion de rotavirus en heces de niños diarreicos. *Universidad de oriente*, Vol. 13. Num 1:38-41 (2001).
- Organización Panamericana de la salud. (2007). *Vigilancia epidemiológica de diarreas causadas por rotavirus: Guía práctica*
- Palombo, E. (2001). Genetic Analysis of Group A Rotaviruses: Evidence for Interspecies Transmission of Rotavirus Genes. *Virus Genes*, January 2002, Volume 24, Issue 1, pp 11-20
- Panchón del amo, I. Martínez, MV. Suarez, B. Sánchez, A. Salemerón, F. Soler, M. (2006). Situación epidemiológica de las gastroenteritis producidas por rotavirus
- Parashar, UD. Bresse, JS. Gentsch, JR. Glass, RI. (1998) Rotavirus. *Centers for disease control and prevention*. Vol. 4, No. 4, October-December 1998.

- Patton, JT. Barro, M. (2007) Rotavirus NSP1 inhibits expression of type I interferon by antagonizing the function of interferon regulatory factors IRF3, IRF5 and IRF7. *Journal of virology*. May 2007, Vol. 81, No. 9 p. 4473-4481. Doi:10.1128/JVI.02498-06
- Patton, JT. Michelle, MA. (2009) Review: rotavirus antagonism of the innate immune response. *Viruses* 2009, 1, 1035-1056; doi:10.3390/v1031035
- Qin, L. Ren, L. Zhou, Z. Lei, X. Chen, L. Xue, Q.Liu, X. Wang, J. Hung, T. (2011). Rotavirus nonstructural protein 1 antagonizes innate immune response by interacting with retinoic acid inducible gene I. *Virology Journal* 2011, 8:526
- Ramani, S. Paul, A. Saravanabavan, A. Menon, VK. Arumungam, R. et al., (2010). Rotavirus in indian children with rotavirus gastroenteritis and asymptomatic infections. *Clinical Infectious Diseases* 2010; 51(11):1284–1289
- Ramig, RF. (2004). Minireview. Pathogenesis of Intestinal and Systemic Rotavirus Infection. *JOURNAL OF VIROLOGY*, Oct. 2004, p. 10213–10220 Vol. 78, No. 19
- Ramig, RF. (2007). Systemic Rotavirus Infection. *Expert Reviews Anti-infective Therapy*. 2007; 5 (4): 591-612.
- Ramiro-Puig, E. Pérez-Cano, FJ. Castellote, C. Franch, A. et al (2008) El intestine: pieza clave del sistema inmunitario. *Revista española de enfermedades digestivas* Vol. 100. No. 1. Pp. 29-34 (2008).
- Reyna-Figueroa, J. Sanchez-Urbe, E. Esteves-Jaramillo, A. et al (2012). *Rev. Panam. Salud Publica*. 2012; 31 (2): 142-7.
- Rivera, M. Vial, PA. Potin, M. Prado, P. Amarales, P. et al., (1995) Evaluacion de cuatro métodos para detección de rotavirus en deposiciones en niños chilenos. *Rev. Chil. Pediatría*. 66(3); 150-155. Vol 66, Num 3 (1995).
- Riverón, RL. (1999) Fisiopatología de la diarrea aguda. *Revista cubana pediátrica* 1999; 71(2): 86-115.
- Rodríguez-Díaz, J., Banasaz, M. Istrate, C. Buesa, J. Lundgren, O. Espinoza, F. Sundqvist, T. Rottenberg, M and Svensson, L. (2005). Nitric oxide production during clinical and experimental infection with rotavirus. *Journal of Virology* 2005 submitted (JVI00211-05).
- Rodriguez, IP. Barrera, HA. (2004) La reacción en cadena de la polimerasa a dos décadas de su invención. *Ciencia UANL/ Vol. 7 Num. 3, julio-septiembre 2004*.
- Rojas, M. Ayala-Breton, C. López, S. (2008). *Biología Molecular de Rotavirus: Una mirada a través de la interferencia de ARN*. Mensaje bioquímico, Vol. XXXII (2008).

- Rollo, EE. Kumar, P. Reich, NC. Cohen, J. et al (1999). The epithelial cell response to rotavirus infection. *Journal of immunology* 1999:163; 4442-4452.
- Ruiz, MC. Leon, T. Díaz, Y. Michelangeli F. (2009). Molecular Biology of Rotavirus Entry and Replication. *TheScientificWorldJOURNAL* (2009) 9, 1476–1497 ISSN 1537-744X; DOI 10.1100/tsw.2009.158
- Sánchez-San Martín, S. Lopez, T. Arias, CF. Lopez. S. (2004) Characterization of Rotavirus Cell Entry. *JOURNAL OF VIROLOGY*, Mar. 2004, p. 2310–2318 Vol. 78, No. 5
- Samuel, Ch. (2001). Antiviral actions of interferons. *Clinical microbiology reviews*, DOI: 10.1128/CMR.14.4.778–809.2001 Oct. 2001, p. 778–809 Vol. 14, No. 4.
- Schnepf, N. Deback, C. Dehee, A. Gault, E. et al., (2008). Rearrangements of Rotavirus Genomic Segment 11 Are Generated during Acute Infection of Immunocompetent Children and Do Not Occur at Random. *JOURNAL OF VIROLOGY*, Apr. 2008, p. 3689–3696 Vol. 82, No. 7
- Serio, G. (2009). Rotavirus latex. www.biotecnica.ind.br. Consultado el día 15 de Marzo del 2013.
- Sugata, K. Taniguchi, K. Yui, A. Miyake, F. Suga, S. Asano, Y. *et al.* (2008). Analysis of Rotavirus Antigenemia and Extraintestinal Manifestations in Children With Rotavirus Gastroenteritis. *Pediatrics* 2008;122;392 DOI: 10.1542/peds.2007-2290
- Surendran, S. (2008). Rotavirus infection: molecular changes and pathophysiology. *EXCLI Journal* 2008;7:154-162 – ISSN 1611-2156
- Tafazoli, F. Zeng, CQ. Estes, MK. Magnusson, KE. Svensson, L. (2001). NSP4 enterotoxin of rotavirus induces paracellular leakage in polarized epithelial cells. *J. Virol.* 2001, 75(3):1540. DOI: 10.1128/JVI.75.3.1540-1546.2001.
- Taniguchi, K. Komoto, S. (2012). Genetics and reverse genetics of rotavirus. *Current Opinion in Virology* 2012, 2:399–407
- Thompson, MJ. Gowdie, PJ, Kirkwood, CD. Doherty, RR. Fahey, M. (2012). Case report Rotavirus cerebellitis: New aspects to an old foe. *Pediatric Neurology* 46 (2012) 48e50 doi:10.1016/j.pediatrneurol.2011.10.002
- Trask, S. D., McDonald, S. M., & Patton, J. T. (2012). Structural insights into the coupling of virion assembly and rotavirus replication. *Nature Reviews Microbiology*, 10(3), 165-177.

- Troupin, C. Dehé. A. Schnuriger, A. Vende, P. et al., (2010). Rearranged Genomic RNA Segments Offer a New Approach to the Reverse Genetics of Rotaviruses. *JOURNAL OF VIROLOGY*, July 2010, p. 6711–6719 Vol. 84, No. 13
- Vancott, J. L., M. M. McNeal, A. H. Choi, and R. L. Ward. 2003. The role of interferons in rotavirus infections and protection. *J Interferon Cytokine Res* 23:163-170.
- Velazquez, R. (2009). Protective Effects of Natural Rotavirus Infection. *Pediatr Infect Dis J* 2009;28: S54–S56)
- Yolken, R. Wilde, J. Assays for detecting human rotavirus. In. Kapikian AZ. Ed. *Viral infections of the gastrointestinal tract*. New York: marcel Dekker; 1994; 251-278.
- Yi, J. Liu, C. (2011). Detection of a porcine rotavirus strain with VP4, VP7 and NSP4 genes of different animal origins. *Arch Virol* (2011) 156:2045–2052

ANEXOS

Glosario

ADNasa	Enzima encargada de degradar ácido desoxirribonucleico.
Análisis filogenético	Estudio de la diversidad de una especie.
Antigenemia	Presencia de antígenos en suero.
Antigenicidad	Facultad del antígeno, para modificar el comportamiento inmunológico.
ARNasa.	Enzima encarga de degradar acido ribonucleico.
Core	Cápside donde se encuentra el material genético de un virus.
Electroferotipo	Cada uno de los segmentos del genoma que se separan por medio de una electroforesis.
Endocitosis	Movimiento de materiales hacia el interior de una célula.
Endosoma	Es un tipo de transporte en la captación de partículas.
Enterocito	Células epiteliales de la mucosa intestinal.
Enterotoxina	Producto del metabolismo de un agente patógeno que posee un grado de toxicidad para el organismo.
Epítope	Determinante antigénico reconocido por el sistema inmunológico.
Fibroblasto	Célula mas común del tejido conjuntivo.
Fosfoproteína	Proteína unida a una sustancia que contiene acido fosfórico.
Glicoproteína	Molécula compuesta por uno o varios glúcidos.
Hemaglutinina	Glucoproteína antigénica.

Inmunogenicidad	Capacidad de inducir respuesta inmune.
Lisosoma	Vesícula que contiene enzimas hidrolíticas.
Proteasa	Enzima especializada en romper enlaces peptídicos.
Proteínas Chaperonas	Conjunto de proteínas, cuya función es estabilizar las proteínas desplegadas para su translocación.
Tropismo	Capacidad de un patógeno para infectar selectivamente un órgano.
Viremia	Presencia de RNA en torrente sanguíneo y/u órganos.
Virion	Virus con capacidad para infectar células.
Viroplasma	Vesícula que contiene proteínas virales y donde se lleva a cabo la replicación.

LISTA DE ABREVIATURAS

Ag	Antígeno
ADN	Acido desoxirribonucleico
ARN	Acido ribonucleico
ARNcd	Acido ribonucleico de doble cadena
CPA	Célula presentadora de antígeno
IgA	Inmunoglobulina A
IgG	Inmunoglobulina G
IL	Interleucina
INF α	Interferon alfa
INF β	Interferon beta
IRF	Factor regulador de interferon
Jak	Quinasa Janus
LCR	Liquido cefalorraquídeo
NLM	Nódulos linfáticos mesentéricos
NSP	Proteína no estructural
PCR-RT	Reacción en cadena de la polimerasa con transcriptasa inversa
PP	Placa de peyer
R.E.R.	Retículo endoplásmico rugoso
RRV	Cepa Rhesus Rotavirus
SA11-CL4	Cepa animal de Rotavirus
STAT	Transductor de señal y activador de la transcripción
VP	Proteína estructural