

Respuesta inmune a infecciones virales

María Teresa Rugeles, M.Sc., Ph.D.

Laboratorio de Virología, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia.

Resumen

Las infecciones virales inducen una respuesta inmune (RI) tanto de tipo natural como adquirida, la cual en la mayoría de los casos controla la infección antes de que se haya ocasionado un daño significativo, dando como resultado infecciones subclínicas o muy leves. Sin embargo, en algunas ocasiones y tanto por características del huésped como del virus, el sistema inmune no es capaz de controlar la infección inicial permitiendo el progreso de la misma. Algunos virus pueden llegar a ser letales para ciertos huéspedes, otros establecen infecciones persistentes y en algunas ocasiones la respuesta inmune es la responsable del daño a los tejidos y órganos vitales (procesos inmunopatogénicos). Entre los componentes de la inmunidad innata más importantes en el control de las infecciones virales, se destacan: las barreras naturales, que previenen la entrada de los virus; las células asesinas naturales o NK que lisan las células infectadas en forma directa, liberando gránulos citolíticos o por el mecanismo de citotoxicidad celular mediada por anticuerpos (ADCC); y los interferones, los cuales ejercen su efecto antiviral a través de múltiples mecanismos, entre los que se destacan la inhibición de la replicación viral y el aumento de la presentación antigénica. Tanto la producción de anticuerpos como la inmunidad celular son elementos necesarios para el control de las infecciones virales. Los anticuerpos se unen al virus neutralizándolo, opsonizándolo y favoreciendo la fagocitosis de las partículas virales, o promoviendo su destrucción a través del complemento o de la ADCC. Los linfocitos T CD8+ son las células citotóxicas más importantes en el control de las infecciones virales. Su función es dependiente de la ayuda de los linfocitos T CD4+, los cuales a su vez potencian la producción de anticuerpos a través de mediadores solubles como las citoquinas. Los anticuerpos son los elementos principales de control durante las reinfecciones, ya que se siguen sintetizando durante muchos años después de la infección primaria. Los linfocitos T de memoria se generan rápidamente durante la infección primaria pero su persistencia es variable dependiendo del tipo de infección viral.

Introducción

Durante el contacto inicial de un individuo con un virus, el sistema inmune (SI) del hospedero interactúa con los antígenos virales, los cuales inducen diferentes clases de respuestas que cumplen la función fundamental de eliminar el virus y de prevenir la reinfección.

La respuesta inmune (RI) que se genera ante las infecciones virales puede ser tan rápida y efectiva que logra eliminar el agente infeccioso antes de que haya producido un daño sustancial en el huésped, presentándose entonces una in-

fección muy leve o inclusive subclínica; éstas son las formas de presentación más comunes de las infecciones virales. En otras ocasiones, y dependiendo de múltiples factores, el sistema inmune no es capaz de controlar rápidamente la infección permitiendo el progreso de la misma (1).

En el caso de los virus citopáticos, aquellos que lisan la célula hospedera al completar su ciclo replicativo, se presenta un daño directo a los tejidos y órganos del hospedero y por lo tanto son los responsables de la sintomatología que se presenta. En los virus no citopáticos es generalmente la respuesta inmune la responsable en

gran medida del daño que se produce (2). De otro lado e independiente de la naturaleza citopática de los virus la respuesta inmune puede potenciar la infección viral a través de algunos de sus componentes (3).

La RI anti-viral, al igual que la respuesta inmune a cualquier agente infeccioso es de dos tipos: la RI innata, natural o inespecífica y la respuesta inmune adquirida o específica. En la RI innata se incluye barreras naturales, células asesinas naturales o NK, interferones, granulocitos, fagocitos mononucleares y complemento. En la respuesta inmune específica participan los linfocitos B y los linfocitos T.

Respuesta inmune innata

Se caracteriza por ser la primera línea de defensa contra las infecciones, no es específica de antígeno, y lo que es más importante no genera memoria inmunológica. Entre los elementos de este tipo de inmunidad que participan en la respuesta inmune antiviral se destacan:

Barreras naturales (4):

- a. Piel: es una barrera mecánica bastante eficiente para evitar la invasión del hospedero por virus. Se requiere de una herida, un trauma, una intervención quirúrgica o un vector tipo artrópodo para que los agentes infecciosos - puedan entrar al organismo a través de la piel.
- b. Lágrimas: a través de ellas se pueden expulsar los gérmenes que entran en contacto con los ojos.
- c. Mucosa del tracto respiratorio: las células ciliadas y la producción del moco representan barreras mecánicas importantes similares a la piel, que previenen la entrada de microorganismos.
- d. Mucosa del tracto gastrointestinal: el pH del estómago es de una acidez tal que destruye la mayoría de los virus. Sin embargo, algunos agentes virales como rotavirus, enterovirus, etc., resisten este pH. De otro lado, muchas de las enzimas del jugo pancreático e intestinal, tienen una actividad viricida importante. El peristaltismo intestinal es un buen mecanismo de expulsión de gérmenes. La bilis disuelve la membrana de los virus envueltos haciéndolos no infecciosos.
- e. Tracto genitourinario: la expulsión de la orina constituye un factor mecánico de barrido que logra expulsar muchos microorganismos.

Células NK

Las células NK son linfocitos grandes granulares pertenecientes a un linaje celular que se caracteriza por la expresión en su membrana de moléculas como la CD16 y la CD56. No tienen un receptor de antígeno conocido, pero poseen la capacidad de lisar células tumorales e infectadas con virus. La naturaleza de ésta selectividad no se conoce. Representan un mecanismo importante de defensa temprana ya que su actividad se incrementa durante el primer y el segundo día de las infecciones virales, inducida por mediadores solubles como IL-2 e interferón (5). El mecanismo principal a través del cual las células NK destruyen las células infectadas con virus es la liberación de sus gránulos citoplasmáticos, los cuales contienen varias proteínas con capacidad citolítica, una de ellas es la perforina, molécula que tiene la capacidad de producir poros en las células infectadas, las que finalmente mueren por un desequilibrio osmótico (6).

Aunque las células NK hacen parte de la inmunidad innata, su actividad es altamente potenciada por mediadores solubles producidos durante la RI específica, en particular citoquinas como la IL-2 y los interferones. Además, a través de los anticuerpos, las células NK pueden lisar las células por un mecanismo adicional como es la citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos (ADCC) (7). Las deficiencias congénitas de células NK se caracterizan por una susceptibilidad aumentada a los herpesvirus.

Interferón (IFN)

Existen dos tipos de interferones: el tipo I, en el que se incluye los IFN- α e IFN- β y el tipo II, o IFN- γ . Los interferones tipo I son producidos por una gran variedad de células ante diferentes estímulos, entre los cuales se destacan las proteínas y ácidos nucleicos virales. El IFN- γ , por su parte, es producido principalmente por linfocitos T y células NK estimulados por diferentes antígenos o en respuesta a mediadores solubles como la IL-12. Entre los efectos que son comunes a ambos tipos de interferones y que pueden tener alguna repercusión en la defensa antiviral vale la pena resaltar (8):

- Disminución de la multiplicación viral.
- Disminución del crecimiento celular.
- Aumento de la expresión de moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad (CMH) clase I (HLA I).

- Activación de macrófagos.
- Activación de células NK.
- Activación de linfocitos T citotóxicos.
- Regulación de la producción de inmunoglobulinas.

La inhibición de la replicación viral ocurre a través de la inducción de síntesis de proteínas que interfieren con distintos puntos del ciclo replicativo. Se sintetizan proteínas como la Mx que inhibe la RNA polimerasa viral; la proteína quinasa R, la cual inhibe la síntesis de proteínas virales y la RNasa L, que degrada en forma selectiva el RNA viral (8).

Como efectos adicionales exclusivos del IFN- γ se destacan el aumento de la expresión de moléculas del CMH clase II (HLA II) y el aumento en la expresión de los receptores Fc (9), lo cual conduce a su vez a que se desarrolle un mejor reconocimiento de los virus por parte del sistema inmune.

Complemento

El sistema del complemento consiste en una serie de proteínas séricas, las cuales son activadas de manera secuencial para ayudar a la eliminación de los agentes infecciosos. Existen dos vías de activación del complemento: la vía clásica, la cual es dependiente de la presencia de complejos inmunes y, la vía alterna. Se ha demostrado que ambas vías de activación son importantes para el control de las infecciones virales. La activación del complemento puede llevar a la destrucción de viriones y de las células infectadas por el virus, además favorece la respuesta inflamatoria fundamental en el control de cualquier agente infeccioso (10).

La destrucción de viriones se favorece con la opsonización (cubrimiento de los viriones con factores del complemento como el C3b y el C3bi). Los viriones opsonizados son fagocitados más fácilmente y eliminados de la circulación, especialmente por parte de los fagocitos mononucleares (macrófagos). Por otra parte, al activarse el complemento se generan anafilotoxinas (C3a y C5a), responsables de la acumulación de leucocitos y de la amplificación de la inflamación que ocurre durante la respuesta inmune.

La vía alterna del complemento actúa principalmente durante las infecciones ocasionadas

por virus envueltos, los cuales maduran y salen de la célula a través de la membrana plasmática sin destruirla. Como no requiere de la presencia de anticuerpos, el complemento puede ser activado por esta vía inmediatamente después de la invasión viral. Sin embargo, las deficiencias congénitas en el sistema del complemento no se asocian con un aumento en la frecuencia o severidad de las infecciones virales, lo que no permite concluir que este mecanismo sea fundamental para la respuesta antiviral (11).

Respuesta inmune adquirida

Juega un papel muy importante en el control tanto de las infecciones primarias como secundarias; es específica de antígeno y genera memoria inmunológica. La inmunidad específica puede ser de tipo humoral ó celular.

Inmunidad humoral

La célula responsable de la RI humoral es el linfocito B. Esta célula se caracteriza por la presencia en su membrana plasmática del receptor específico de antígeno o inmunoglobulina de superficie, acompañado por receptores para la fracción C3 del complemento y para la porción Fc de las inmunoglobulinas (Igs). Estas células reconocen antígeno en su forma nativa (sin ser procesados) por lo cual interactúan en forma directa con los viriones o con proteínas virales, reconociendo de esta forma epítopes conformacionales. Una vez las células B reconocen el antígeno y reciben la señal apropiada de las células T, se inicia la división celular y la diferenciación hacia células plasmáticas para comenzar la producción de los anticuerpos. Los anticuerpos secretados reaccionan específicamente con los epítopes que indujeron su producción.

Los anticuerpos pueden ejercer su efecto antiviral a través de diferentes mecanismos (10,12):

- a. Neutralización: mecanismo por el cual se impide la infección de las células blanco. En general los anticuerpos neutralizantes están dirigidos contra ciertos epítopes en la superficie de los viriones que están involucrados en la interacción con la célula blanco de la infección.
- b. Opsonización: al actuar como opsoninas favorecen la fagocitosis y la destrucción de los

viriones por parte de los fagocitos mononucleares.

- c. Virólisis: al unirse directamente a los viriones pueden activar el complemento por la vía clásica induciendo la destrucción de las partículas virales.
- d. Lisis celular mediada por complemento: cuando los anticuerpos se unen a los antígenos virales expresados en las células infectadas, pueden activar la vía clásica del complemento y por lo tanto inducir la lisis celular.
- e. ADCC: las células infectadas cubiertas por anticuerpos son blanco de la citotoxicidad celular mediada por células que expresan receptores para la porción Fc de las Igs, como son los macrófagos y las células NK.

Inmunidad celular

La respuesta inmune celular es mediada por los linfocitos T, los cuales se pueden subdividir en dos tipos: los linfocitos T ayudadores, CD4+ y los linfocitos T citotóxicos, CD8+. Los linfocitos T CD4+ reconocen los antígenos presentados por las células presentadoras de antígeno a través de las moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad (CMH) clase II (HLA II en el humano). Por su parte, los linfocitos citotóxicos CD8+ reconocen los antígenos cuando son presentados por las moléculas del CMH clase I (13).

Dentro de la inmunidad celular las células T citotóxicas (CTL), que son predominantemente de tipo CD8+, se constituyen en la principal línea de defensa contra las infecciones virales. La citotoxicidad ejercida por estos linfocitos comprende básicamente cinco pasos principales (6,14,15):

- a. Presentación del antígeno por la célula infectada a través del CMH clase I y formación del complejo CTL-célula blanco.
- b. Activación de las células citotóxicas.
- c. Liberación de perforinas desde gránulos citoplasmáticos ó activación de la vía apoptótica, lo cual puede ocurrir a través de la vía Fas-Fas ligando o por proteínas como la granzima que ingresa al citoplasma de la célula blanco a través de los poros generados por las perforinas.
- d. Separación de la célula CTL.
- e. Muerte de la célula blanco por desequilibrio osmótico ó por apoptosis.

No obstante, para que los linfocitos T citotóxicos y los linfocitos B puedan cumplir una función efectora eficiente requieren de la cooperación de los linfocitos T ayudadores (Th). Se han descrito al menos dos tipos de células CD4+: las células Th1, mediadoras de la respuesta de hipersensibilidad retardada, las cuales secretan citoquinas tales como IL-2, IFN- γ y TNF- β ; y las células Th2, que secretan IL-4, IL-5 e IL-10 entre otras, que favorecen la respuesta de tipo humoral (12).

Las citoquinas tienen un papel fundamental en la patogénesis de las infecciones virales a través de varios mecanismos (16):

- Regulan positivamente la expresión de moléculas del CMH, lo cual facilita la interacción de las CTL con las células infectadas.
- La respuesta inmune humoral puede ser modulada positivamente por parte de citoquinas tales como IL-4, IL-5, IL-6 e IFN- γ , las cuales pueden inducir el cambio en el isotipo de las inmunoglobulinas.
- Regulación de la respuesta inmune ejercida por la IL-10 que inhibe la síntesis de IFN- γ .
- Inhibición de la replicación viral por parte de interferones.
- Regulación positiva de la expresión de genes virales. Por ejemplo el TNF- α y la IL-6 al unirse a sus receptores en las células T inducen la síntesis de NF- κ B, el cual se une a regiones regulatorias del DNA proviral (por ejemplo los retrovirus) integrado en el DNA de la célula hospedera promoviendo su transcripción.

Cinética de la respuesta antiviral

Los principales elementos de la respuesta inmune antiviral actúan en diferentes momentos. Es así como los IFNs α y β y las células asesinas naturales inician su acción casi simultáneamente con la infección viral y tienen su acción máxima entre 3 y 4 días. Al cuarto día empiezan a aparecer los linfocitos T citotóxicos y a los 8-9 días post-infección se inicia la producción de anticuerpos específicos: inicialmente se producen anticuerpos de tipo IgM y unos pocos días más tarde (3-4 días) empieza la producción de IgG e IgA. Esta respuesta actúa básicamente en tres niveles: en las mucosas, donde actúan principalmente el IFN y la IgA; en la sangre, donde los principales elementos son el complemento y los anticuerpos IgG e IgM, y en las vísceras, don-

de además de los anteriores elementos juega un papel muy importante la inmunidad específica mediada por células (17).

Inmunidad ante la reinfección viral

Mientras que muchos fenómenos participan durante la respuesta inmune inicial a una infección viral, el mecanismo inmunológico de respuesta ante las reinfecciones es mucho más simple. En este caso, el principal mecanismo responsable es el de los anticuerpos, los cuales se siguen sintetizando por muchos años después de la infección viral primaria. Al ocurrir la reinfección la respuesta humoral es mucho más rápida y más intensa que en la infección primaria, solo se requiere de 3 a 4 días para que se eleven los anticuerpos, principalmente del isotipo IgG. Por lo tanto, el grado de inmunidad adquirida generalmente se correlaciona con el título de anticuerpos presente en circulación (18). Además, los linfocitos T de memoria se generan rápidamente durante la infección viral primaria y persisten por un tiempo variable dependiendo del tipo de virus. En algunas infecciones juegan un papel importante durante las reinfecciones (19).

La transferencia de anticuerpos a través de inmunización pasiva o de la madre al feto o al neonato, a través de la placenta o el calostro, proporciona una buena protección a muchas infecciones vírales, lo que sustenta aún más el hecho de que los anticuerpos son el factor más importante en la inmunidad adquirida, bien sea a través de la infección natural o por medio de la vacunación (4).

En animales es importante tener en cuenta que las diferentes especies de mamíferos difieren en la ruta de transferencia de anticuerpos maternos. En aquellas especies en las cuales la estructura de la placenta es sencilla (1 a 3 capas), la transferencia de IgG es bastante activa y es la forma principal de adquirir la inmunidad materna. Sin embargo, en muchas especies de mamíferos la placenta es más compleja, está conformada por 5 ó 6 capas y actúa como una barrera mecánica inclusive para la IgG; en estas especies la inmunidad materna es transmitida por el calostro y en menor escala a través de la leche materna (1).

Evasión de la respuesta inmune

Gracias a la presión evolutiva los virus han desarrollado una serie de estrategias que les permiten evadir diferentes aspectos de la respuesta in-

mune. Entre las estrategias más importantes se destacan (20):

- **Variación antigénica:** esto ocurre en particular en los virus RNA como consecuencia de una alta tasa de mutaciones durante la replicación, debido principalmente a la falta de mecanismos correctores de la RNA polimerasa o en la transcriptasa reversa viral. Esta variación da origen a variantes antigénicas o quasiespecies convirtiéndose en un mecanismo para evadir la neutralización por parte de anticuerpos producidos durante infecciones previas.
- **Inmunosupresión:** los virus pueden infectar células del SI durante alguna fase de su replicación. Los linfocitos, los monocitos/macrófagos o los polimorfonucleares pueden ser las células blanco de la infección viral, como en el caso de infecciones por algunos herpesvirus, retrovirus, morbilivirus y flavivirus o pueden albergar el virus en forma transitoria como en infecciones por algunos enterovirus o adenovirus. Las alteraciones inmunológicas inducidas por estos agentes pueden incluir supresión de la respuesta tipo hipersensibilidad retardada contra antígenos de memoria *in vivo* y alteración de la respuesta ante mitógenos *in vitro*. Estas alteraciones pueden permanecer por largos períodos en infecciones vírales persistentes.
- **Regulación de la expresión del CMH:** algunas proteínas de ciertos virus como la Gp19 de los adenovirus se unen a moléculas del CMH clase I, previniendo su expresión en la membrana plasmática e interfiriendo con la presentación antigénica por parte de las células infectadas.
- **Resistencia a citoquinas:** proteínas vírales como la E3 de los adenovirus confieren resistencia de las células infectadas al efecto del TNF.
- **Latencia:** durante la latencia no hay producción de partículas vírales. El genoma del virus persiste sin expresarse o con una expresión limitada. Los virus en fase de latencia no son susceptibles a la acción de la respuesta inmune.

Respuestas inmunes adversas a infecciones vírales

Como se mencionó anteriormente, en algunas situaciones la respuesta inmune a ciertos virus, particularmente a los no citopáticos, es la responsable del daño en los diferentes tejidos del hospedero. Es el caso de la hepatitis B y de la coriomeningitis linfocítica que afecta a humanos

y ratones, respectivamente. En estas entidades los mecanismos inmunopatogénicos son los responsables del desarrollo de la enfermedad, particularmente las CTL (21). En estos casos el virus se replica en las células del hospedero sin producir daño, pero la RI citotóxica destruye el tejido infectado buscando erradicar la infección. Si el hospedero se encuentra inmunosuprimido tendrá una infección crónica altamente contagiosa pero no desarrollará sintomatología. El animal inmunocompetente en cambio, sufrirá daño tisular y enfermedad lo que puede llevar o no a la eliminación del virus.

Potenciación inmune

En algunas ocasiones ciertos componentes de la RI promueven la infección viral. Por ejemplo, si el virus tiene como célula blanco para su replicación aquellas células que poseen receptores Fc, como los macrófagos, la formación de complejos inmunes virus-anticuerpos, facilitan la infección de la célula al favorecer su ingreso a

través de la endocitosis mediada por receptor. Esta potenciación inmunológica es bastante conocida y frecuente en la infección por el virus del dengue, en la cual la presencia en el hospedero de anticuerpos inducidos por infecciones previas con otro serotipo predispone al individuo a sufrir el dengue hemorrágico y el síndrome de choque por dengue, entre otros por la inmunopotenciación de la infección mediada por los anticuerpos (3).

Mimetismo molecular, autoinmunidad y enfermedad autoinmune

Existen muchas proteínas virales que comparten secuencias con proteínas humanas y animales. Este fenómeno lleva a que respuestas inmunes que inicialmente se generan contra el virus eventualmente continúen contra proteínas propias del hospedero, generándose procesos e inclusive enfermedades autoinmunes como consecuencia del mimetismo molecular, el cual es más común de lo que se cree (22).

Agradecimientos

Al Dr. Francisco Javier Díaz por la revisión y corrección de este manuscrito.

Summary

Immune response to viral infections

Viral infections induce natural and acquired immune responses. The immune response terminates many viral infections before much damage have been done, resulting in mild or even subclinical infections. However, in some situations, and depending on both, the viral agent and the host, the immune system is not able to control de initial infection. Some viruses are lethal for particular hosts, other establish persistent infections and sometimes the immune response is actually harmful, causing tissue damage in vital organs (immunopathogenic processes). The most important components of the innate immunity to control viral infections are: natural barriers, that prevent entrance of virus, natural killer cells (NK) which lyse the infected cells directly releasing cytolytic granules or by the mechanism of ADCC and the interferons, which exert the antiviral effect by multiple mechanisms such as interfering with viral replication and increasing antigen presentation. Both, the production of antibodies and components of cellular immunity are required to control viral infections. Antibodies bind the virus, neutralizing and opsonizing them, enhancing phagocytosis and promoting the destruction of virus particles or virus infected cells through the complement or through the mechanism of ADCC. CD8+ T lymphocytes are the most important cytotoxic cells in viral infections. Their function is dependent on help from CD4+ T cells, which also potentiate production of antibodies mainly through soluble factors such as cytokines. The antibodies are the control key elements during reinfections, since they continue to be synthesized during several years post primary infections. Memory T lymphocytes are generated very soon after primary infection but their persistence is variable and depend on the type of viral infection.

Referencias

1. Fenner F, Bachmann P, Paul E, Frederick A, Murphy M, White D. The immune response to viral infection *in Veterinary Virology*. Academic Press ed. Orlando, Florida. 1987; 161-181.
2. Braciale TJ. Viruses and the immune system. *Semin Virol* 1993; 4: 81-84.
3. Porterfield JS. Antibody dependent enhancement of viral infection. *Adv Virus Res* 1986; 31: 335-355.
4. Blom BR and Oldstone MBA. Immunity to infection. *Curr Opin Immunol* 1991; 3: 453-456.
5. Trinchieri G. Biology of natural killer cells. *Adv Immunol* 1989; 47:187-189.
6. Podack ER, Hengartner H, Lichtenheld MG. A central role of perforin in cytolysis. *Ann Rev Immunol* 1991; 9:129-157.
7. Allison AC. Interactions of antibodies, complement components and various cell types in immunity against viruses and pyogenic bacteria. *Transplant Rev* 1974; 19: 3-55.
8. Glasgow LA. Immunosuppression, interferon and viral infection. *Federation Proc* 1971; 30: 1846-1851.
9. Leist TP, Cobbold SP, Waldmann H, et al. Functional analysis of T lymphocyte subsets in antiviral host defense. *J Immunol* 1987; 2278-2281.
10. Cooper NR, Jensen FC, Welsh RM, et al. Lysis of RNA tumor viruses by human serum: direct antibody dependent triggering of the classical complement pathway. *J Exp Med* 1976; 144: 970-982.
11. Welsh RM, Jensen FC, Cooper NR, et al. Inactivation and lysis of oncornavirus by human serum. *Virology* 1976; 74: 432-440.
12. Ahmed R, Butler LD, Bhatti L. T4+ T helper cell function in vivo: differential requirement for induction of antiviral cytotoxic T cell and antibody responses. *J Virol* 1988; 62: 2102-2106.
13. Jorgensen JL, Reay PA, Ehrich EW, et al. Molecular components of T-cell recognition. *Ann Rev Immunol* 1992; 10: 835-42
14. Lucas CJ, Biddison WE, Nelson DL, et al. Killing of measles virus infected cells by human cytotoxic T cells. *Infect Immun* 1982; 38 : 226-232.
15. Marx JL. How killer cells kill their targets. *Science* 1986; 231: 1367-1369.
16. Leist TP, Eppler M, Zinkernagel RM. Enhanced virus replication and inhibition of lymphocytic choriomeningitis virus disease in anti-IFN gamma-treated mice. *J Virol* 1989; 63: 2813-2819.
17. Doherty PC. Viral immunity. *Semin Immunol* 1992; 4: 69-72.
18. Bachmann MF, Kalinke U, Althage A, et al. The role of antibody concentration and avidity in antiviral protection. *Science* 1997; 276: 2024-2027.
19. Gray D, Sprent J. Immunological memory. *Curr Top Microbiol Immunol* 1990; 159: 1-138.
20. Griffin D. Immunological abnormalities accompanying acute and chronic viral infections. *Rev Infect Dis* 1991; 13 (suppl): 129-133.
21. Zinkernagel RM. Immunity to viruses *in Fundamental Immunology*, Paul WE. ed. 3rd Ed. Raven, New York. 1995; 1211-1250.
22. Oldstone MBA, Nerenberg M, Southern P, et al. Virus infection triggers insulin-dependent diabetes mellitus in transgenic model: role of anti-self (virus) immune response. *Cell* 1991; 165: 319-331.