

REVISTA ARGENTINA DE MEDICINA

ISSN 2618-4311

Buenos Aires

Castro M, Ubiergo L, Viola P y col. Virus de John Cunningham: ¿transeúnte inofensivo o asesino silencioso? Revisión sobre su rol patógeno en la leucoencefalopatía multifocal progresiva. Recorrido teórico hacia la causalidad. *Rev Arg Med* 2021;9(3):312-6
 ARK CAICYT: <http://id.caicyt.gov.ar/ark:/s26184311/ram.v9i4.648>

Recibido: 11 de abril de 2021.

Aceptado: 2 de mayo de 2021.

¹ Servicio de Clínica Médica en el Hospital José Bernardo Iturraspe, Santa Fe, Argentina.

Los autores manifiestan no poseer conflictos de intereses.

Los autores aceptan de manera completa la responsabilidad por el contenido del manuscrito.

Los autores declaran que el contenido del manuscrito no es duplicado ni fue publicado previamente en otra revista.

Este manuscrito no requirió financiamiento.

AUTOR PARA CORRESPONDENCIA

Maximiliano Castro. Florentino Ameghino 528, Paraná (3100), Entre Ríos, Argentina. Teléfono: (+54343) 514-4921. Correo electrónico: mgabrielcastro@outlook.com

VIRUS DE JOHN CUNNINGHAM: ¿TRANSEÚNTE INOFENSIVO O ASESINO SILENCIOSO? REVISIÓN SOBRE SU ROL PATÓGENO EN LA LEUCOENCEFALOPATÍA MULTIFOCAL PROGRESIVA. RECORRIDO TEÓRICO HACIA LA CAUSALIDAD

JOHN CUNNINGHAM VIRUS: INNOCENT BYSTANDER OR SILENT KILLER? REVIEW OF ITS PATHOGENIC ROLE IN THE PROGRESSIVE MULTIFOCAL LEUKOENCEPHALOPATHY. THEORETICAL TOUR TOWARDS CAUSALITY

Maximiliano Castro,¹ Lucía Ubiergo,¹ Paola Viola,¹ Florencia Debona,¹ Gisel Cuevas¹

RESUMEN

La leucoencefalopatía multifocal progresiva (LMP), cuya incidencia creció con la pandemia del virus de inmunodeficiencia humana (VIH), aún no cuenta con tratamientos específicos y requiere la resolución del inmunocompromiso subyacente para la mejoría clínica. Si bien se acepta que el virus de John Cunningham (JCV) es la causa de la LMP, hasta hoy ninguna revisión ha resumido la información disponible que avala esa afirmación. El virus no genera la enfermedad en la mayoría de los casos —incluso en personas inmunocomprometidas— y permanece latente por años. Además, es posible aislarlo a partir de tejidos de adultos sanos. Proponemos hacer un recorrido teórico hacia el establecimiento del rol patógeno del JCV en la LMP. Una mirada clara desde la causalidad, los modelos animales y los avances de la biología molecular podrían facilitar el desarrollo de terapéuticas que disminuyan la morbimortalidad mientras esperamos una reducción en la incidencia de esta patología con el logro de los objetivos 90-90-90 del milenio.

PALABRAS CLAVE. Leucoencefalopatía multifocal progresiva, síndrome de la inmunodeficiencia adquirida, virus JC, causalidad, patógeno.

ABSTRACT

The incidence of progressive multifocal leukoencephalopathy (PML) has exponentially grown after the HIV pandemic outbreak. Still without effective treatments available, the remaining chance for clinical improvement lies in immune reconstitution. It is widely accepted that the John Cunningham virus (JCV) is the cause of PML, however no reviews so far have summarized the available evidence supporting this statement. Moreover, JCV infection does not cause the clinical disease in most patients —even in those immunocompromised— and it can be isolated from tissues of healthy adults. We propose a theoretical tour from the scattered evidence available towards the understanding of JCV pathogenic role in PML. Considering the evidence through the prism of causality, counting with animal models and advances in molecular biology could ease the development of novel therapies that diminish PML-associated mortality while awaiting a reduction in its incidence with the accomplishment of the 90-90-90 millennium goals.

KEY WORDS. Progressive multifocal leukoencephalopathy, acquired immunodeficiency syndrome, JC virus, causality, pathogen.

Introducción

La leucoencefalopatía multifocal progresiva (LMP) se define como una enfermedad subaguda, progresiva, multifocal y desmielinizante que involucra la sustancia blanca del sistema nervioso central (SNC) de manera secundaria a la afección de los oligodendrocitos (1). La misma se presenta de manera más frecuente en pacientes con alteración de la inmunidad celular, por lo que se la interpreta como una enfermedad oportunista (1). Desde el punto de vista fisiopatológico, se produciría por una reactivación del virus John Cunningham (VJC), que infecta a la mayoría de la población adulta durante la infancia y adolescencia, y después permanece latente (1-3). Afecta entre 4% y 8% de los pacientes que tienen una infección avanzada por el virus de inmunodeficiencia humana (3). Presenta manifestaciones neurológicas pleomórficas principalmente secundarias a la afectación de la sustancia blanca, si bien puede presentar convulsiones —consideradas un síntoma típicamente cortical— cuando la afección es yuxtacortical (1,2).

El hecho de que se encuentre evidencia serológica del VJC en la mayoría de los adultos sanos, su ubicuidad (3) y la característica pleomórfica de esta enfermedad refuerzan la importancia de esclarecer el rol patogénico de este virus. Por otro lado, al día de hoy no hay terapéuticas de eficacia probada para esta patología, por lo que en aquellos casos en los que no se logra una reconstitución inmune rápida, la mortalidad es elevada (1,2). Determinar que el VJC es agente etiológico en esta patología —más allá de conocer el ciclo viral en el hospedador humano (4)— y los factores que favorecen que sólo una subpoblación de pacientes inmunocomprometidos seropositivos (3) para el VJC desarrollen LMP ayudaría a encauzar los esfuerzos científicos para desarrollar terapéuticas efectivas, mientras que la falla en completar los objetivos 90-90-90 del milenio (5) favorecería que la incidencia de esta patología se mantenga elevada.

Por ello, se plantea una revisión de la literatura disponible con el objetivo de determinar la evidencia disponible para definir al VJC como agente etiológico de la LMP, a la luz de los postulados de Koch y los criterios de causalidad de Bradford Hill (6-9).

Desarrollo

La LMP denomina un conjunto de síntomas consistentes con la localización y la extensión de las lesiones generadas por la destrucción de la sustancia blanca subcortical, en ausencia de cambios inflamatorios en el líquido cefalorraquídeo (10).

La primera descripción clinicopatológica de esta entidad se publicó en 1958 (11). En 1971, cuando aún la LMP se consideraba como una patología rara antes de la pande-

mia del VIH (12), se realizó el primer aislamiento y cultivo del VJC, considerado, al principio, como un subgrupo de los papovavirus por su similitud estructural pero que después se lo incluyó en la familia *Polyomaviridae*. Este fue aislado del cerebro del paciente J.C., que presentaba un linfoma de Hodgkin y desarrolló un cuadro clínico y posteriormente anatomopatológico compatible con la LMP, y sembrado en varios cultivos celulares en los cuales se demostró una reproducción exponencial de partículas virales morfológicamente idénticas a las observadas en la microscopia de la muestra cerebral de J.C. Mientras que pudieron identificarse viriones en diferentes cultivos celulares, sólo se observaron efectos citopáticos en los cultivos astrocitarios. Por otro lado, los cultivos de control inoculados con extracto de cerebro humano normal se mantuvieron sin efectos citopáticos y viriones demostrables. Los extractos de cerebro de J.C. se inocularon en cultivos de células BCS-1, vero y renales de mono africano verde y no se observó un crecimiento en las mismas, lo que sugirió su especificidad y se distinguió del virus del papiloma humano (el único papovavirus humano conocido hasta ese momento) por medio de tinciones con inmunofluorescencia (13).

En 1993 se realizó un estudio (14) con el objetivo de determinar cuáles eran los patrones de imágenes característicos compatibles con la LMP y se los correlacionó con hallazgos patológicos y clínicos de manera retrospectiva. Incluyó a 47 pacientes portadores del VIH y con diagnóstico de LMP por biopsia/autopsia. Las imágenes características eran atenuadas en la tomografía axial computada (TAC) y en el T1 de la resonancia magnética nuclear (RMN) e hiperintensas en el T2, sin efecto de masa ni refuerzo con contraste. Las mismas afectaban la sustancia blanca de las regiones periventriculares y subcorticales, en especial en los lóbulos frontales y parieto-occipitales, mientras que sólo unas pocas quedaron restringidas a la fosa posterior. De los métodos realizados a los pacientes, se les realizó una TAC y una RMN a 18 de ellos, y se observó que con la TAC se identificaron 41 lesiones y con la RMN, 89.

Sin embargo, y a pesar de su pico de incidencia anterior al tratamiento antirretroviral (TARV), los reportes sobre manifestaciones clínicas de esta entidad son escasos. En general, en la literatura se encuentran reportes de casos y series pequeñas, con múltiples subgrupos y con un porcentaje no despreciable de pacientes sin confirmación virológica (15-17). Se puede especular que eso se debe a un subreporte, principalmente secundario al costo de las técnicas de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) virales y la escasa disponibilidad en los países en vías de desarrollo. Mientras tanto, los países desarrollados, aun cuando conducen estudios de cohorte multicéntricos, no logran reunir un número significativo de casos debido a la baja incidencia con la adherencia al TARV (18).

Los viriones del VJC de 45 nm pudieron caracterizarse como cápside icosaédrica y genoma circular cerrado de ADN doble cadena, caracterizados por tener tres regiones funcionales: la codificadora temprana, que favorece la unión al genoma de la célula huésped y su pase a la fase S para la replicación viral; la reguladora y la región tardía, que codifica principalmente las proteínas estructurales de la cápside viral (19,20). Así también se ratificó que las células involucradas en el desarrollo de la LMP son los oligodendrocitos y los astrocitos y que el VJC permanece latente en los riñones, las células progenitoras hematopoyéticas, los linfocitos B periféricos y, probablemente, en las células estromales de las amígdalas (21). Asimismo, se ratificó que los receptores celulares son una glicoproteína con un ácido siálico enlazado en posición α -(2,6) y el receptor serotoninérgico 5-HT_{2a}. Sin embargo, a pesar de la amplia expresión de receptores en células humanas, es difícil lograr cultivos celulares humanos (22).

Si bien gran parte del aumento de la incidencia de la LMP en la era del síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA) se asocia a la mayor frecuencia de esta patología con relación a los otros factores de riesgo conocidos (como los trastornos linfoproliferativos), se presume que el VIH de por sí aumenta la probabilidad de padecer LMP en mayor proporción que otras patologías, incluso aquellas que afectan la inmunidad celular. Esto se debería al microambiente que genera el VIH en el SNC después de su paso temprano al mismo a través de la barrera hematoencefálica. Al mismo tiempo, el mismo facilitaría el pasaje de linfocitos cargados de VJC desde el torrente sanguíneo a través de la barrera (23).

En la actualidad, la hipótesis aceptada plantea que la infección por VJC es muy prevalente en la población general y que se suscita a temprana edad. Luego produce episodios de LMP por reactivaciones. Esto se deriva, en primer lugar, de la observación de que dentro de los cinco años de vida, sólo el 10% de las personas presenta anticuerpos para este virus pero la cifra asciende al 65% a los 17 años y al 92% de la población adulta en áreas urbanas (24,25). En segundo lugar, se ha observado no sólo que los linfocitos B periféricos, las células progenitoras hematopoyéticas y las células estromales amigdalinas son susceptibles a la infección por VJC *in vitro* (21), sino también que se detecta ADN viral en la médula ósea, en la sangre periférica y la orina de pacientes sin LMP. Un estudio mostró ácido desoxirribonucleico (ADN) viral detectable en el 29% de los aspirados frescos de médula ósea, así como en la sangre periférica y orina de esos mismos pacientes y en archivos de médula ósea de pacientes con y sin LMP. En los pacientes con VIH positivo se halló significativamente mayor proporción de ADN viral detectable. La detección por inmunohistoquímica de la proteína reguladora temprana TAg y no de las proteínas de la cápside viral en este estudio podría

implicar su permanencia en estado quiescente, con un perfil abortivo en lugar de productivo (22). Sin embargo, el tipo de muestras requeridas para este análisis conllevó un número bajo de pacientes incluidos. Otros estudios han reproducido estos mismos hallazgos, mientras que mostraron que en pacientes con VIH negativo, y en la gran mayoría de los pacientes con VIH positivo sin LMP, no se encontraba ADN viral en el líquido cefalorraquídeo (LCR) (26).

Sin embargo, como en estudios anteriores se observó ADN viral fuera del SNC de sujetos sanos, se realizó un estudio en 2008 (27) para evaluar la presencia del virus latente en los cerebros de pacientes inmunocompetentes sin LMP. El mismo realizó una amplificación genómica e IH para examinar la presencia de ADN del VJC en muestras de tejido cerebral de autopsias de siete individuos con VIH negativo, sin enfermedad neurológica. Las muestras de control fueron oligodendrocitos infectados por VJC, extraídos de muestras de cerebro de pacientes con LMP. Se detectaron en cinco de siete pacientes fragmentos parciales del virus, sin demostrarse la expresión de proteínas. En los controles, todos mostraron la expresión de proteínas, particularmente la VP1 en oligodendrocitos. Estos resultados no permiten saber si la expresión de estos fragmentos virales es reflejo de la presencia de virus quiescente en el SNC de la población general, pero la ausencia de replicación viral activa —la cual sí se demuestra en pacientes con LMP— favorece su interpretación como patógeno.

Estos resultados son concordantes con los de otras dos investigaciones (28,29), las cuales también encontraron ADN viral y tejido cerebral en sujetos sin LMP, y discordantes con otra investigación que mostró tanto ADN completo como expresión de la partícula VP1. Sin embargo, esta última se dio en pacientes añosos con comorbilidades y se interpretó que ellos tenían una inmunodeficiencia relativa (30).

En un estudio posterior (31), se analizaron 500 pacientes con VIH y clínica neurológica con sospecha de afectación del SNC entre los años 1985 y 1995. De ellos, se obtuvieron 219 exámenes histopatológicos. Se compararon los resultados de la PCR en el LCR para el VJC con los hallazgos anatomopatológicos (con inmunohistoquímica e hibridación *in situ*). Se obtuvo el ADN de uno o más virus en 181 de los 500 pacientes (36%). El VJC correspondió al 9% de los aislamientos. Se realizó el diagnóstico de LMP por histología en 39 pacientes. Se detectó el ADN mediante una PCR en 28 de esos 39 pacientes y en un paciente sin LMP, mediante histología. A pesar de que el *n* es pequeño, la PCR en el LCR se presentó como un método de moderada sensibilidad pero alta especificidad para el diagnóstico de la LMP.

Finalmente, a pesar de la dificultad de generar modelos animales de infección por el VJC debido a la especifici-

dad de especie de este virus, un estudio (32) produjo ratones deficientes de mielina a los que se les implantaron células progenitoras gliales humanas primarias para utilizar como modelo experimental de infección por el VJC. A los animales se les realizó una inoculación intracerebral después de que alcanzaron la madurez. La misma condujo a la replicación del virus y a la diseminación dentro de los tractos de la sustancia blanca humana. Los astrocitos y los progenitores gliales fueron los tipos celulares más susceptibles a la infección, mientras que la oligodendroglía fue afectada de manera secundaria y con menor eficiencia. Por otro lado, se observó que la muerte de las células oligodendrogliales (que se acompañó de desmielinización) se produjo por apoptosis en lugar de la muerte directa de estas por el virus, como se vio en investigaciones anteriores. A diferencia de investigaciones anteriores que hipotetizaban que la infección por el VJC tiene como protagonista a los oligodendrocitos, esta investigación mostró que la misma es una enfermedad predominantemente astrocitaria y de sus progenitores, y que la oligodendroglía no es necesaria para la infección y diseminación viral, pero sí el elemento patogénico para el desarrollo de la LMP.

Debido a que sólo las células injertadas eran de origen humano, el resto de las células no fueron susceptibles a la infección por el VJC, lo que impidió definir rutas de infección primaria y los factores involucrados en establecer la latencia viral. Sin embargo, es el único modelo experimental con el que contamos hasta el momento.

Discusión y conclusiones

El concepto de causalidad alude a la relación entre dos o más acontecimientos cuya ocurrencia consistente y secuencia de aparición permiten atribuir a uno de ellos la aparición del otro; es una interpretación de la naturaleza no única pero dominante en el ámbito de la medicina (33).

En lo que respecta al VJC, los avances en biología molecular y virología han permitido que el ciclo viral del mismo sea conocido y que actualmente no haya dudas de que el ser humano es su hospedador definitivo (4). Por otro lado, la LMP se ha descrito de manera extensa en múltiples reportes y series de casos y, a partir de los mismos y de los criterios diagnósticos emitidos por las sociedades científicas, se ha podido reportar su incidencia y su relación con las distintas patologías predisponentes (a pesar de que se aprovechó la casuística para hacer estudios sobre sus características clínicas con un número elevado de pacientes incluidos). A su vez, se ha descrito la asociación entre la detección tisular en el SNC y LCR del VJC con la LMP.

Los postulados de Koch siguen siendo una guía para establecer causalidad en enfermedades infecciosas; a pesar de que, pasados 150 años desde su creación,

presenten desafíos debido a que el avance de la ciencia ha enfatizado la presencia de situaciones en las cuales su necesidad y validez son puestas en duda.

En el caso del VJC como agente etiológico de la LMP, se encontró el virus en muestras tisulares del SNC y del LCR de pacientes con LMP; mientras que en pacientes sanos o con patologías neurológicas sin LMP, se encontraron sólo fragmentos virales o virus latentes sin evidencia de replicación (**1.º postulado**). Por otro lado, el mismo se pudo aislar y sembrar en cultivos celulares de manera efectiva (**2.º postulado**) y, más recientemente, pudieron inducirse signos histopatológicos del SNC en modelos murinos modificados, con identificación en los mismos del virus (**3.º y 4.º postulado**).

Los criterios de Bradford-Hill, desarrollados en un inicio para hacer estudios epidemiológicos con el objetivo de establecer relaciones de causa y efecto, brindan ciertos elementos que, en el caso de estar presentes en enfermedades infectocontagiosas, aumentan la probabilidad de causalidad, aun cuando no fueron diseñados para este fin.

Con referencia a lo anterior, el VJC mostró fuerza de asociación —su presencia se demostró en la mayoría de casos de LMP diagnosticada—, al tiempo que la mayor carga viral en el LCR es uno de los factores de riesgo para una mala evolución (3) y la solidez de los hallazgos en los múltiples reportes de esta enfermedad. Por otro lado, la evidencia serológica de la infección en edades tempranas y la evidencia histopatológica de latencia en múltiples órganos garantizan la temporalidad. Por último, los avances en la biología molecular y virología mencionados —descritos en múltiples y extensas revisiones (3,4)— brindan plausibilidad y coherencia a los hallazgos. A pesar de la confianza generalizada de la comunidad médica en el rol patógeno del VJC, a nuestro entender por el momento esta es la única revisión que reúne la evidencia disponible de manera que quede claro su correlato con las condiciones necesarias para definir causalidad. Asimismo, entendemos que disponer de resúmenes actuales (críticos) de la evidencia disponible favorece el avance de la ciencia y el encauzamiento de las investigaciones futuras. [RAM](#)

Referencias bibliográficas

1. Tan CS, Koralnik IJ. Progressive multifocal leukoencephalopathy and other disorders caused by JC virus: clinical features and pathogenesis. *Lancet Neurol* 2010;9(4):425-37
2. Gómez González MB, Pérez Gracia MT, Rodríguez Iglesias MA y col. Leucoencefalopatía multifocal progresiva: desde el origen a 2008. *Seminarios de la Fundación Española de Reumatología* 2009;10(3):91-9
3. Cortese I, Reich DS, Nath A. Progressive multifocal leukoencephalopathy and the spectrum of JC virus-related disease. *Nat Rev Neurol* 2021;17(1):37-51
4. Pietropaolo V, Prezioso C, Bagnato F, et al. John Cunningham virus: an overview on biology and disease of the etiological agent of the progressive multifocal leukoencephalopathy. *New Microbiol* 2018;41(3):179-86
5. Granich R, Williams B, Montaner J, et al. 90-90-90 and ending AIDS: necessary and feasible. *Lancet* 2017;390(10092):341-3
6. Koch R. Die Aetiologie der Tuberkulose. *Berliner Klin Wochenschr* 1882;19:221-30
7. Hill AB. The environment and disease: association or causation? *Proc R Soc Med* 1965;58:295-300
8. Kundi M. Causality and the interpretation of epidemiologic evidence. *Environ Health Perspect* 2006;114(7):969-74
9. Hosainzadegan H, Khalilov R, Gholizadeh P. The necessity to revise Koch's postulates and its application to infectious and non-infectious diseases: a mini-review. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2020;39(2):215-8
10. Cedeno F, Penalva de Oliveira AC, Vidal JE y col. Virus neurotróficos: el virus JC y la leucoencefalopatía multifocal progresiva. *Revista Mexicana De Neurociencia* 2006;7(1):46-54
11. Astrom KE, Mancall EL, Richardson EP Jr. Progressive multifocal leukoencephalopathy; a hitherto unrecognized complication of chronic lymphatic leukaemia in Hodgkin's disease. *Brain* 1958;81(1):93-111
12. Holman RC, Török TJ, Belay ED, et al. Progressive multifocal leukoencephalopathy in the United States, 1979-1994: increased mortality associated with HIV infection. *Neuroepidemiology* 1998;17(6):303-9
13. Padgett BL, Walker DL, Zurhein GM, et al. Cultivation of papova-like virus from human brain in progressive multifocal leukoencephalopathy. *Lancet* 1971;1(7712):1257-90
14. Whiteman ML, Post MJ, Berger JR, et al. Progressive multifocal leukoencephalopathy in 47 HIV-seropositive patients: neuroimaging with clinical and pathologic correlation. *Radiology* 1993;187:233-40
15. Summers NA, Kelly CF, Armstrong W, et al. Not a disease of the past: A case series of progressive multifocal leukoencephalopathy in the established antiretroviral era. *AIDS Res Hum Retroviruses* 2019;35(6):544-52
16. Piza F, Fink MC, Nogueira GS, et al. JC virus-associated central nervous system diseases in HIV-infected patients in Brazil: clinical presentations, associated factors with mortality and outcome. *Braz J Infect Dis* 2012;16(2):153-6
17. de Oliveira Abrão C, Rodrigues Machado da Silva L, Silva Souza LC, et al. AIDS-related progressive multifocal leukoencephalopathy. *Rev Soc Bras Med Trop* 2020;54:e02522020
18. Engsig FN, Hansen AE, Omland LH, et al. Incidence, clinical presentation, and outcome of progressive multifocal leukoencephalopathy in HIV-infected patients during the highly active antiretroviral therapy era: a nationwide cohort study. *J Infect Dis* 2009;199(1):77-83
19. Frisque RJ, Bream GL, Cannella MT. Human polyomavirus JC virus genome. *J Virol* 1984;51(2):458-69
20. Safak M. Polyomaviruses of humans. *Reference Module in Biomedical Sciences*. 2018.
21. Monaco MC, Atwood WJ, Gravel M, et al. JC virus infection of hematopoietic progenitor cells, primary B lymphocytes, and tonsillar stromal cells: implications for viral latency. *J Virol* 1996;70(10):7004-12
22. Tan CS, Dezube BJ, Bhargava P, et al. Detection of JC virus DNA and proteins in bone marrow of HIV-positive and HIV-negative patients: Implications for viral latency and neurotropic transformation. *J Infect Dis* 2010;199(6):881-8
23. Berger JR. Progressive multifocal leukoencephalopathy in acquired immunodeficiency syndrome: explaining the high incidence and disproportionate frequency of the illness relative to other immunosuppressive conditions. *J Neurovirol* 2003;1:38-41
24. Major EO, Amemiya K, Tornatore CS, et al. Pathogenesis and molecular biology of progressive multifocal leukoencephalopathy, the JC virus-induced demyelinating disease of the human brain. *Clin Microbiol Rev* 1992;5(1):49-73
25. Walker DL, Padgett BL. The epidemiology of human polyomaviruses. *Prog Clin Biol Res* 1983;105:99-106
26. Koralnik IJ, Boden D, Mai VX, et al. JC virus DNA load in patients with and without progressive multifocal leukoencephalopathy. *Neurology* 1999;52(2):253-60
27. Perez-Liz G, Del Valle L, Gentilella A, et al. Detection of JC virus DNA fragments but not proteins in normal brain tissue. *Ann Neurol* 2008;64(4):379-89
28. Elsner C, Dörries K. Evidence of human polyomavirus BK and JC infection in normal brain tissue. *Virology* 1992;191(1):72-80
29. Mori M, Aoki N, Shimada H, et al. Detection of JC virus in the brains of aged patients without progressive multifocal leukoencephalopathy by the polymerase chain reaction and Southern hybridization analysis. *Neurosci Lett* 1991;141(2):151-5
30. Mori M, Kurata H, Tajima M, et al. JC virus detection by in situ hybridization in brain tissue from elderly patients. *Ann Neurol* 1991;29(4):428-32
31. Cinque P, Vago L, Dahl H, et al. Polymerase chain reaction on cerebrospinal fluid for diagnosis of virus-associated opportunistic diseases of the central nervous system in HIV-infected patients. *AIDS* 1996;10:951-58
32. Kondo Y, Windrem MS, Zou L, et al. Human glial chimeric mice reveal astrocytic dependence of JC virus infection. *J Clin Invest* 2014;124(12):5323-36
33. Álvarez-Martínez H, Pérez-Campos E. Causalidad en medicina. *Gac Med Mex* 2004;140(4)