

CIENCIAS
CLÍNICAS

Infecciones respiratorias virales: influenza

Aspectos virológicos

Primera parte

- Dr. Adrián Valle de la O.¹
- Dr. Carlos Jorge Castillo Gómez²
- Dr. Arturo Travis Dade Reyes³
- Dr. Manuel Gil Ascencio⁴

Introducción

Aproximadamente un 20% de la mortalidad global se debe a enfermedades infecciosas; entre éstas, las infecciones respiratorias agudas se encuentran entre las enfermedades más comunes del ser humano alrededor del mundo, independientemente de la edad y el género. Debido a su alta tasa de ataque, las infecciones respiratorias están asociadas con una elevada morbimortalidad y aún continúan siendo la causa más importante de mortalidad en la población infantil, especialmente en niños menores de 5 años de edad.¹⁻⁵

La mayoría de las infecciones respiratorias son causadas por virus y bacterias, la proporción causada por virus es mucho mayor. Entre los principales agentes etiológicos virales de infecciones respiratorias agudas se encuentran los rinovirus –los cuales causan la mayoría de las infecciones respiratorias–, así como el virus de la influenza, el virus sincitial respiratorio (RSV), el parainfluenza virus tipo 3 (PIV3), los adenovirus y los coronavirus, entre otros más.^{1,6-12}

Si bien es cierto que la morbilidad asociada con las infecciones respiratorias virales no relacionadas con influenza no es trivial, los virus de la influenza están

entre los principales determinantes de morbilidad y mortalidad por enfermedad respiratoria; esta enfermedad fue la causante de millones de muertes en todo el mundo durante el siglo XX. La mutabilidad y la gran frecuencia de reordenamiento genético de estos virus representa un gran desafío para el control de la enfermedad por parte de las medidas preventivas de los sistemas de salud en todos los países.^{1,13}

El reciente surgimiento, expansión de hospederos y diseminación de cepas altamente patogénicas de influenza aviaria en Asia ha originado gran preocupación a nivel mundial, y ha puesto de manifiesto el riesgo potencial de una nueva pandemia.¹⁴ El presente trabajo tiene como objetivo hacer una revisión de los aspectos más relevantes sobre la estructura y función de este virus, incluyendo algunos aspectos médicos relacionados con la salud pública.

Definición

La influenza es una enfermedad respiratoria aguda altamente contagiosa, usualmente autolimitada, causada por la infección con el virus de la influenza. La enfermedad afecta al tracto respiratorio superior y/o inferior, se acompaña de signos y síntomas sistémicos tales como fiebre, cefalea, mialgias, entre otros. El síndrome clínico asociado a la infección por estos virus puede ser similar al producido por otros virus respiratorios, puede manifestarse simplemente como un resfriado común o una faringitis, o bien, como traqueobronquitis, bronquiolitis o neumonía. Desde el punto de vista de salud pública, las dos característi-

1 Profesor del Departamento de Ciencias Básicas de la División Ciencias de la Salud de la Escuela de Biotecnología y Salud del Tecnológico de Monterrey.

2 Médico especialista en otorrinolaringología del Instituto Mexicano del Seguro Social, UMAA No. 65.

3 Residente de otorrinolaringología del Instituto Mexicano del Seguro Social, UMAE No. 134, Torreón, Coahuila.

4 Residente de otorrinolaringología del Instituto Mexicano del Seguro Social, UMAE No. 25, Monterrey, Nuevo León.

cas más importantes de la influenza son su naturaleza epidémica y la mortalidad asociada a la misma. La influenza suele presentarse en brotes de severidad y extensión variable durante la época de invierno, en la cual se puede manifestar una elevada tasa de ataque del 10% al 40%, y una elevada morbimortalidad, principalmente relacionada a sus complicaciones pulmonares.^{13,15}

Orthomyxoviridae

El virus de la influenza es un *mixovirus*. El término mixovirus significa virus de mucosas. A pesar de las similitudes que existen entre ellos, estos virus están agrupados actualmente en dos familias distintas debido a diferencias fundamentales en sus estructuras y patrones de replicación: la familia Orthomyxoviridae y la familia Paramyxoviridae.^{13,15}

La familia Orthomyxoviridae está formada por virus con genoma constituido por RNA monocatenario segmentado (de 6 a 8 segmentos). Los virus de la influenza son los principales miembros de esta familia. Sin embargo, a esta familia pertenecen, además de los virus de la influenza, otros virus más recientemente descritos y menos conocidos:

1. Virus de la anemia infecciosa del salmón (ISAV)

La anemia infecciosa del salmón es una enfermedad altamente contagiosa y multisistémica que afecta al salmón atlántico (el salmón del pacífico es relativamente resistente a este virus), y se caracteriza por anemia, leucopenia y afección multiorgánica del salmón, lo que conduce a su muerte. Esta enfermedad fue reconocida por primera vez en Noruega en el año de 1984, y desde entonces se han reportado brotes de la enfermedad en Canadá, Chile, Escocia, Estados Unidos y Reino Unido.¹⁶⁻¹⁹

2. Virus transmitidos por artrópodos

Estos miembros de la familia Orthomyxoviridae están agrupados en el género Thogotovirus, e infectan tanto a los seres humanos como al ganado vacuno en África, Asia y Europa. En este género existen dos especies: Thogoto virus (THOV) y Dhori virus (DHOV).²⁰

a) Los Thogoto virus (THOV) [sinónimo: influenza D virus] son estructural y genéticamente similares a los virus de la influenza, pero diferentes en cuanto a su habilidad para infectar tanto garrapatas como mamíferos.²¹⁻²³ Los THOV contienen un genoma con 6 segmentos: los 3 segmentos más grandes codifican para las subunidades del complejo RNA

polimerasa (PB2, PB1 y PA); el cuarto segmento codifica para la glicoproteína de superficie viral; el segmento 5 codifica la nucleoproteína NP; y el segmento 6, que es el más pequeño, codifica para la proteína de matriz M.^{23,24} Estos virus fueron aislados por primera vez en la garrapata del ganado en el bosque Thogoto, cerca de Nairobi, en Kenya, y desde entonces se les ha encontrado en una variedad de garrapatas y sus hospederos vertebrados en África central, Egipto, Irán, Sicilia y Portugal. La infección del ser humano por THOV ha sido reportada, pero es poco frecuente. El virus se ha aislado en líquido cefalorraquídeo (LCR) de un paciente con neuritis óptica bilateral, y de la sangre de otro paciente con meningitis.²⁰

b) Los Dhori virus (DHOV) fueron aislados por primera vez en las garrapatas del camello en el noroeste de India, y representan una segunda especie del género Thogotovirus. Su distribución geográfica incluye India, el este de Rusia, Egipto y sureste de Portugal. En ratones de experimentación, la infección por DHOV produce una enfermedad fulminante y fatal con muchos de los hallazgos clínicos y patológicos vistos en ratones infectados por cepas altamente patogénicas de influenza A aviar H5N1. Así, a nivel pulmonar, los hallazgos histopatológicos incluyen hemorragia, inflamación y engrosamiento del intersticio y los septos alveolares y edema alveolar. Los hallazgos extrapulmonares incluyen necrosis hepatocelular y esteatosis, necrosis fibrinoide diseminada en órganos linfoides, marcada linfopenia y degeneración neuronal en cerebro.^{25,26}

Como ha sido demostrado a través de la infección accidental en laboratorios de investigación, el DHOV puede infectar al ser humano, causándole una enfermedad febril con afección del sistema nervioso, ya sea en forma de una reacción encefalítica con síntomas subcorticales y leve involucro del sistema piramidal, o bien, produciendo una forma de encefalopoliradiculoneuritis con parestesias y otros desórdenes sensitivos.²⁷

Los Batken virus (BKNV) –aislados a partir de mosquitos y garrapatas en los alrededores de la villa de Batken en Kirghizia (Kyrgyzstan, Rusia)– presentan reacción serológica cruzada con DHOV y tienen, además, una similitud del 98% en una porción de su nucleoproteína y del 90% en su proteína de envoltura con los DHOV. Estos datos muestran que los BKNV están cercanamente relacionados con los DHOV y representan un serotipo de la especie DHOV.^{28,29}

Finalmente, existen datos en relación a su estructura y patogenicidad para sugerir que el Araguari virus, aislado originalmente de un marsupial en Brasil, debe ser clasificado como un miembro de la familia Orthomyxoviridae, género Thogotovirus, junto con el THOV y el DHOV.³⁰

En términos generales, es poco lo que se sabe acerca de estos otros virus pertenecientes a la familia Orthomyxoviridae, y no serán discutidos más en este trabajo. En la Tabla 1 se puede ver la estructura taxonómica de la familia Orthomyxoviridae.³¹

Estructura del virus de la influenza

Entre los virus patógenos humanos mejor estudiados se encuentran los virus de la influenza. Los estudios que se han realizado en los últimos años sobre la estructura de estos virus han generado un conocimiento sobre el mismo, mucho mayor que el de cualquier otro virus, excepción hecha, posiblemente, en relación al virus de la inmunodeficiencia humana (HIV).

Los virus de la influenza pertenecen a los géneros influenza virus A, B y C en la familia Orthomyxoviridae,

Tabla 1. Estructura taxonómica de la familia Orthomyxoviridae

Family 00.046. Orthomyxoviridae		
Genus	00.046.0.01.	Influenza virus A
Genus	00.046.0.02.	Influenza virus C
Genus	00.046.0.03.	Thogotovirus
Genus	00.046.0.04.	Influenza virus B
Genus	00.046.0.05.	Isavirus

distinción basada en las características antigénicas de la nucleoproteína (NP) y de la proteína de matriz (M), las cuales son específicas para cada género y no presentan reacción cruzada entre sí. Los viriones típicos de influenza son de forma esférica, con diámetro de 80 nm a 120 nm; sin embargo, también pueden verse formas pleomórficas y filamentosas de mayor tamaño.^{32,33} La composición química de las partículas virales ya ha sido determinada; cada partícula está compuesta aproximadamente de la siguiente manera: RNA: 1%, proteínas: 70% a 75%, lípidos: 20% a 24%, y carbohidratos: 5% a 8%.³⁴ Estos virus son sensibles al calor (56°C durante 30 minutos), al ácido (pH 3), a solventes lipídicos, y son bastante vulnerables bajo condiciones ambientales ordinarias.³³

Tabla 2. Características estructurales particulares de cada especie de virus de la influenza

Comparación de las características particulares de los virus de la influenza			
Característica	Influenza A	Influenza B	Influenza C
Estructura genética	8 segmentos	8 segmentos	7 segmentos
Proteínas virales	10 en total	11 en total	9 en total
Proteína particular	M2	NB	HEF
Determinantes antigénicos	HA y NA	HA y NA	HA y NA
Cambios genéticos	Cambio antigénico y Desviación antigénica	Desviación antigénica	Desviación antigénica
Rango de hospederos	Aves, humanos, cerdos, mamíferos marinos, caballos, etc.	Humanos	Humanos y cerdos
Epidemiología humana	Pandemias y epidemias estacionales	Epidemias estacionales	No estacionalidad

Como se ha mencionado, la familia Orthomyxoviridae está constituida por virus “envueltos” con RNA segmentado de cadena sencilla, el cual ha sido denominado “RNA de sentido negativo” debido a que los RNA mensajeros (mRNAs) son transcritos de los segmentos de RNA virales; por convención, el mRNA es de “sentido positivo”. Este RNA genómico tiene que servir para dos funciones: primero, como templete para la síntesis de mRNAs; y segundo, como templete para la síntesis de la cadena de RNA “antigenoma” de sentido positivo (RNA complementario o cRNA), la cual servirá como templete para la síntesis de copias adicionales de RNA viral de sentido negativo durante la replicación del virus.³²

La cadena de RNA de estos virus se encuentra segmentada; para los virus de la influenza A y B, la cadena de RNA está dividida en 8 segmentos; y para el virus de la influenza C, en 7 segmentos. Por su parte, el virus de la influenza C suele diferir de los otros dos tipos de virus de la influenza en las proteínas de superficie que posee. El RNA viral se encuentra asociado a la nucleoproteína (NP), codificada por el segmento 5 de RNA. Dicha proteína rodea y envuelve cada segmento de RNA para formar así la ribonucleoproteína (RNP), una estructura de simetría helicoidal a la que se denomina nucleocápside. La NP tiene un peso molecular de 60 kDa, no contiene carbohidratos, y, como ya se ha mencionado, posee la antigenicidad específica de tipo sobre la cual se basa la clasificación de estos virus en A, B y C; cada partícula viral posee alrededor de 1,000 moléculas de NP.^{1,32,34}

Asociado con las RNPs se encuentra el complejo de la RNA polimerasa dependiente de RNA, compuesto por tres proteínas denominadas polimerasa básica 1 (PB1), polimerasa básica 2 (PB2) y polimerasa ácida (PA), codificadas por los segmentos 2, 1 y 3, respectivamente. El peso molecular de las mismas varía en el rango entre 80 kDa y 90 kDa y se encuentran aproximadamente 50 moléculas de cada tipo en cada partícula viral.^{32,34}

La partícula viral está rodeada por una envoltura formada por una bicapa lipídica derivada de la célula del hospedero en la cual se replicó. Esta envoltura (o peploma) presenta, como uno de los datos estructurales más característicos del virus, un gran número (alrededor de 600 a 1,200) de espículas (o peplómeros) que irradian hacia el exterior desde dicha envoltura. Estas espículas de superficies son de naturaleza glicoproteica y poseen una de dos funciones: o tienen

actividad de hemaglutinina (HA) o de neuraminidasa (NA). La proporción HA:NA es muy variable, pero, en términos generales, suele ser aproximadamente de 4:1 a 5:1. Estas dos glicoproteínas son las que determinan la variación antigénica del virus, así como la inmunidad del hospedero contra la infección y/o la enfermedad.³²

La hemaglutinina (HA) fue denominada así por la habilidad del virus para aglutinar eritrocitos al unirse a receptores específicos que contenían ácido siálico (SA) en su estructura. La HA, codificada por el segmento 4 del genoma viral, está compuesta por dos moléculas separadas denominadas HA1 y HA2 unidas por un puente disulfuro. La molécula de HA completa es un homotrímero constituido por tres subunidades unidas en forma no covalente. Cada una de las subunidades tiene un peso molecular de 75 kDa a 80 kDa y posee en su estructura un 20% de carbohidratos, para tener así un peso molecular total para la HA completa de aproximadamente 225 kDa. Hay alrededor de mil moléculas de HA en cada virus, cada una con un tamaño aproximado de 14 nm a 16 nm de longitud y 4 nm de diámetro. Un tramo hidrofóbico cerca de la terminal carboxilo de la HA2 fija la molécula de HA a la membrana de envoltura. La HA forma del 25% al 30% de la proteína del virus; su función es fijar a la partícula viral con los receptores virales de la membrana celular de las células susceptibles en el hospedero durante los estadios iniciales de la infección viral. Esta proteína es la que más frecuentemente se encuentra involucrada en variaciones antigénicas, y es claro que incluso proteínas con secuencias de aminoácidos marcadamente diferentes son funcionalmente activas.^{13,15,32,34}

En resumen, la HA tiene tres importantes funciones durante el ciclo replicativo del virus de la influenza:³²

1. La HA se une a receptores específicos que contienen ácido siálico en la superficie celular de las células blanco.
2. Es responsable de la penetración del virus en el citoplasma celular al mediar la fusión de la membrana de la partícula viral endocitada con la membrana del endosoma.
3. La HA es el antígeno mayor del virus contra el cual se producen anticuerpos neutralizantes, y las epidemias de influenza están asociadas a cambios en su estructura antigénica.

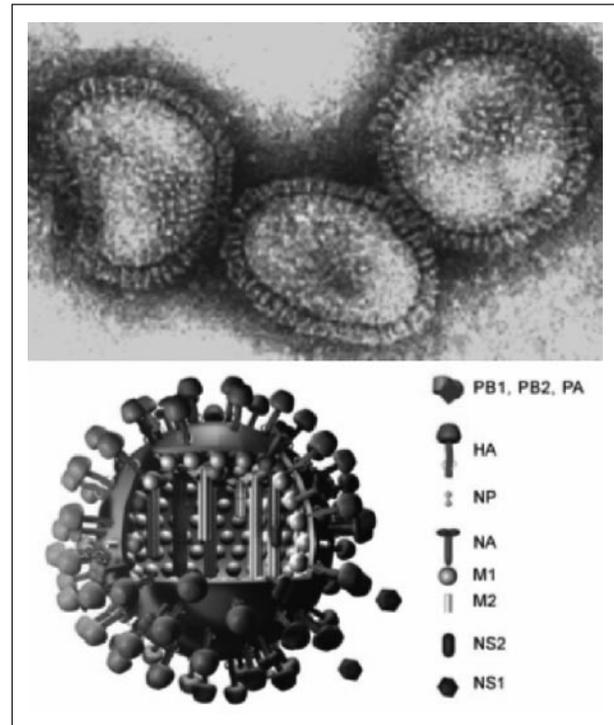
Por su parte, la neuraminidasa (NA), codificada por el segmento 6 del genoma viral, es otro antígeno importante del virus de la influenza y, al igual que la HA, ésta es una de las glicoproteínas que se proyectan desde la superficie viral. Su porción N-terminal se encuentra en el citoplasma y su dominio hidrofóbico, que es el que la fija a la membrana (aminoácidos 7 a 35), se encuentran en su región C-terminal. Hay de 100 a 200 moléculas de NA en la superficie de cada partícula viral y constituye aproximadamente el 7% de la proteína viral total. La molécula de NA completa es un homotetrámero constituido por cuatro subunidades, cada una de un peso molecular de aproximadamente 60 kDa, 10 nm de longitud y 4 nm de diámetro. La NA (acilneuraminil hidrolasa) cataliza la escisión el enlace entre un SA terminal y una molécula adyacente de D-galactosa o D-galactosamina.

La función de la NA en el ciclo de replicación viral no es del todo clara. Los virus que presentan una mutación no funcional de la NA se aglomeran sobre la superficie de las células infectadas, lo cual sugiere que una función de la NA es la de remover los receptores virales de la superficie de las células infectadas durante la liberación de las partículas virales recién formadas, y así ayuda, al mismo tiempo, a evitar la autoagregación de los viriones al retirar también los residuos de SA de las propias glicoproteínas virales.^{13,15,34}

Asimismo, la NA puede remover los residuos de ácido neuramínico de las mucinas del tracto respiratorio, las cuales podrían interferir con la unión del virus a las células epiteliales superficiales, ayudando así al virus a desplazarse a través de la capa de mucina presente sobre el epitelio respiratorio y alcanzar sus células blanco. Y por último, la NA puede modificar las cadenas laterales de carbohidratos en la HA, y facilitar así la escisión proteolítica de la HA.^{32,34,35}

La envoltura lipídica del virus se encuentra cubierta en su interior por una proteína codificada en el segmento viral 7, la proteína de matriz (M1). Esta proteína es de los principales componentes de la partícula viral, constituye del 35% al 45% de la masa de la partícula. Su peso molecular es de aproximadamente 23 kDa y hay aproximadamente 3,000 moléculas de la misma en cada

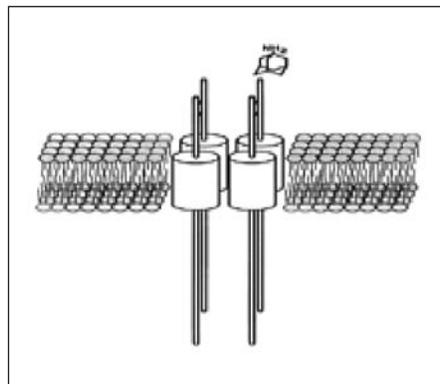
Figura 1. Microfotografía electrónica y esquema de la estructura del virus de la influenza tipo A.



(Fotografía por Linda Stannard del Departamento de Microbiología Médica, Universidad de Cape Town). La fotografía y el esquema están disponibles en http://www.virology.net/Big_Virology/BVR-NAortho.html y en http://en.wikipedia.org/wiki/Image:Flu_und_legende_color_c.jpg, respectivamente.

partícula viral.^{15,34} La proteína M1, además de proporcionar estabilidad al virión, interactúa con los segmentos citoplasmáticos de la HA, la NA y la proteína M2, y también interactúa con la RNP. Estudios *in vitro* han mostrado que la proteína M1 inhibe la transcripción, y si la proteína M1 no se disocia de las RNPs *in vivo*, éstas no pueden ser transportadas al núcleo tras la infección de las células susceptibles del hospedero.³²

Figura 2. Estructura de la proteína M2



Otra proteína de matriz, codificada por el mismo segmento viral, la denominada M2 es muy importante durante la replicación viral; ésta es una proteína integral de membrana, de 97 aminoácidos, que posee un dominio TM transmembranal de 19 aminoácidos, un dominio extracelular representado por 24 aminoácidos en su región N-terminal, y un dominio intracelular de 54 aminoácidos.

En su forma nativa, la proteína M2 es un homotetramero, tal como se muestra en la Figura 2. Es expresada abundantemente en la membrana plasmática apical de las células infectadas; sin embargo, en promedio sólo hay de 20 a 60 moléculas de la misma incorporadas en cada partícula viral. La proteína M2 funciona como un canal iónico que permite la entrada de protones al virus en el proceso de “desenvoltura” durante la replicación viral.^{32,33}

Finalmente, el segmento 8 codifica dos proteínas no estructurales denominadas NS1 y NS2.

La proteína NS1 es la única proteína no estructural codificada por el virus; ésta es una proteína de aproximadamente 230 aminoácidos, de localización nuclear, expresada tempranamente y en forma abundante en las células infectadas por el virus, aunque también está presente en el citoplasma en los estadios tardíos de la infección en asociación con los polisomas; sin embargo, no ha sido detectada en los viriones –de ahí la designación NS (por *nonstructural*).³²

La proteína NS1 representa uno de los mayores factores de virulencia del virus. La replicación y patogenicidad del virus de la influenza tipo A son, en parte, controlados por el sistema del interferón (IFN) α/β . La proteína NS1 es una proteína multifuncional que juega un papel importante en la resistencia del virus contra la respuesta antiviral del hospedero durante la infección. La proteína NS1 tiene propiedades antagonistas al interferón (IFN), y este interjuego entre el virus y el hospedero depende de la producción de interferón α/β por parte del hospedero y de la capacidad de la proteína NS1 viral para contrarrestar al sistema del IFN. Asimismo, esta proteína contiene en su estructura una señal de exportación nuclear (NES, *nuclear export signal*) que funciona como mediadora de la exportación de proteínas.^{32,36-41}

La proteína NS2, inicialmente conocida como una proteína no estructural, ahora sabemos que está presente en el virión (en promedio de 130 a 200 copias por virión). NS2 interactúa con M1 y esta interacción es muy importante en el ciclo de vida del virus para exportar la RNP desde el núcleo al citosol. Se ha sugerido que NS2 sea renombrada como NEP (*nuclear export protein*).^{32,42}

En las Tablas 2 y 3 se presentan, en forma resumida, los principales componentes del virus, su función y algunos rasgos de patogenicidad del virus de la influenza tipo A.

Replicación de la influenza virus tipo A

La mayoría de los estudios de replicación del virus de la influenza han sido realizados usando cepas de influenza virus tipo A; sin embargo, el número limitado de estudios con influenza virus tipo B no han indicado que haya diferencias mayores en los mecanismos de replicación de ambos virus.²²

Cuando se inocula virus de la influenza tipo A en cultivos celulares, hay tres posibles resultados:

1. El virus puede fracasar para iniciar la infección, frecuentemente porque las células no poseen los receptores esenciales para el virus.
2. El virus puede sufrir un ciclo de crecimiento incompleto, lo que se conoce como infección abortiva. Esto ocurre en diversos tipos celulares. No hay, hasta el momento, una explicación aceptable para la infección abortiva, pero posiblemente debido a un bloqueo en algún estadio normal en el ciclo de replicación normal del virus se produce un gran número de partículas virales con deficiente contenido de RNA y son no infectivos. La infección abortiva se ha visto también cuando se inoculan grandes cantidades del virus en células permisivas; este efecto se conoce como “Fenómeno de Von Magnus”.
3. La infección puede ser productiva y resultar en la producción de partículas virales infectantes.³⁴

La infección permisiva por virus de la influenza se produce en humanos, en células de riñón de mono y mandril, y en el epitelio que recubre las cavidades amniótica y alantoidea del embrión de pollo. La infección se inicia con la adsorción del virus a la superficie celular. El virus se une a los residuos de SA presentes en las glucoproteínas y glucolípidos de la superficie celular a través del sitio de unión a receptor localizado en la HA. Diferentes virus de la influenza tienen especificidades diferentes para unirse a ácidos siálicos unidos a galactosa por diferente tipo de enlace. Las cadenas de carbohidratos de las células intestinales de las aves contienen predominantemente ácidos siálicos unidos a galactosa por enlaces $\alpha 2,3$; el epitelio traqueal del cerdo tiene ácidos siálicos unidos a galactosa por enlaces $\alpha 2,3$ y $\alpha 2,6$; el epitelio traqueal humano tiene predominantemente ácidos siálicos unidos a galactosa por enlaces $\alpha 2,6$. Esta especificidad de la HA por el tipo de enlace entre ácido

Tabla 3. Principales componentes estructurales del virus de la influenza

Codificación de los segmentos de RNA del virus de la influenza				
Designación	Segmento del genoma		Polipéptido codificado	
	Número	Peso molecular	Número de moléculas por virión	Función
PB2	1	80-90 kDa	50	Endonucleasa viral. Escinde el casquete de 5-metilguanosina más una serie de aproximadamente 10-13 nucleótidos del hnRNA.
PB1	2	80-90 kDa	50	Realiza la transcripción a partir del "primer" de hnRNA.
PA	3	80-90 kDa	50	Componente de la RNA transcriptasa. Controla la elongación de la cadena.
HA	4	75-80 kDa	500	Se une a receptores específicos que contienen ácido siálico en la superficie celular de las células blanco. Media la fusión de la membrana de la partícula viral endocitada con la membrana del endosoma.
NP	5	60 kDa	1000	Envuelve cada segmento de RNA, para formar así la ribonucleoproteína.
NA	6	60 kDa	100-200	Remueve el ácido neuramínico de las mucinas del tracto respiratorio, las cuales podrían interferir con la unión del virus a las células epiteliales. Evita la agregación de los viriones durante su liberación al remover los residuos de ácido siálico de la envoltura viral y de la membrana celular.
M1	7	23 kDa	3000	Proteína de matriz. Principal componente del virión. Proporciona estabilidad al virión; interactúa con los segmentos citoplasmáticos de la HA, NA y la proteína M2; y también interactúa con la RNP.
M2	7	11 kDa	20-60	Canal iónico que permite la entrada de protones al virus en el proceso de desdovolución durante la replicación viral.
NS1	8	26 kDa	0	Única proteína no estructural del virión. Representa uno de los mayores factores de virulencia del virus.
NS2	8	11 kDa	130-200	Exportación nuclear de RNP.

siálico y galactosa es un determinante clave para restringir la transferencia de virus de influenza aviarias directamente al ser humano sin mutación previa en la HA.³² Sin embargo, esto no es absoluto, puesto que la patogenicidad también es afectada por determinantes genéticos y algunos virus pueden cruzar la barrera interespecie a través de otros receptores.³⁴

á á á á á

Los virus de la influenza entran a la célula a través de endocitosis mediada por receptor vía vesículas rodeadas por membrana y cubiertas por clatrina. Después de la internalización, la cubierta de clatrina es removida y las vesículas se fusionan con los endosomas, los cuales son una serie de organelos con un pH cada vez más ácido al ir evolucionando. La acidificación

del endosoma se lleva a cabo mediante bombas de H⁺ - ATPasa. La desdovlura del virus depende de este pH ácido dentro de este compartimiento, y los agentes que aumentan el pH dentro del endosoma tienden a inhibir este proceso. De hecho, el elevar el pH del endosoma bloquea no sólo al virus de la influenza, sino a muchos otros que entran a la célula mediante este mecanismo que se acaba de describir.³²

A un pH de 5.3 dentro del endosoma, ocurre un cambio conformacional en la HA que expone la porción hidrofóbica N-terminal de la HA2, precipitando así la fusión de la envoltura viral con la membrana del endosoma. Al tiempo que ocurre esto, pasan protones al interior del virión a través de la proteína M2, disociando la proteína M1 de la RNP y liberando la nucleocápside hacia el citoplasma celular. La nucleocápside es transportada al núcleo, lugar donde la transcripción y la replicación del RNA se lleva a cabo.³³

A diferencia de otros virus RNA, el virus de la influenza tiene una dependencia única en la función nuclear de la célula el hospedero para poder sintetizar su propio mRNA; en otras palabras, el virus requiere la síntesis de RNA por parte del hospedero para lograr su propia síntesis de mRNA. La transcripción primaria

involucra un fenómeno único denominado *cap snatching*. La endonucleasa viral (PB2) escinde el casquete de 5-metilguanosa más una serie de aproximadamente 10-13 nucleótidos del RNA heterogéneo nuclear (hnRNA) del hospedero, y esta estructura es usado como “*primer*” (cebador o iniciador) para la transcripción (síntesis de mRNA) por la transcriptasa viral (PB1). La elongación de la cadena de mRNA tiene lugar de la manera habitual y se piensa es controlada por la proteína PA y requiere también de NP. De las transcripciones primarias de RNA así producidas de cada uno de los 8 segmentos del genoma viral, 6 son mRNAs monocistrónicas, los cuales son traducidos directamente en una sola proteína: HA, NA, NP, PA, PB1 y PB2. Los otros dos contienen ORFs (*open reading frames*, marcos abiertos de lectura) para la síntesis de dos proteínas a partir de cada uno de los esos segmentos: M1 y M2 para uno de los segmentos, y NS1 y NS2 para el otro segmento. Los mRNAs dejan el núcleo celular y se unen a los ribosomas, iniciándose así el proceso de traducción para la síntesis de las proteínas del virus.^{33,34}

La síntesis de RNA complementario (cRNA) y subsecuentemente del RNA viral (vRNA) ocurre después del pico de producción de mRNA y de síntesis de proteínas, y no requiere de “*primers*”. La replicación de los 8 segmentos del RNA viral (vRNA) requiere la síntesis de 8 tiras complementarias de RNA (cRNA) de sentido positivo, las cuales, a diferencia de los mRNAs, no deben tener el casquete de 5'-metilguanosa ni la cola 3'-poliA. Las NPs recientemente sintetizadas se unen a este cRNA y sirven como andamiaje sobre los cuales el vRNA es copiado. Más tarde, la proteína M1 entra al núcleo y se une al complejo NP-transcriptasa-RNA de sentido negativo, regulando así la transcripción y permitiendo su exportación desde el núcleo antes del ensamblaje de los viriones.³²⁻³⁴

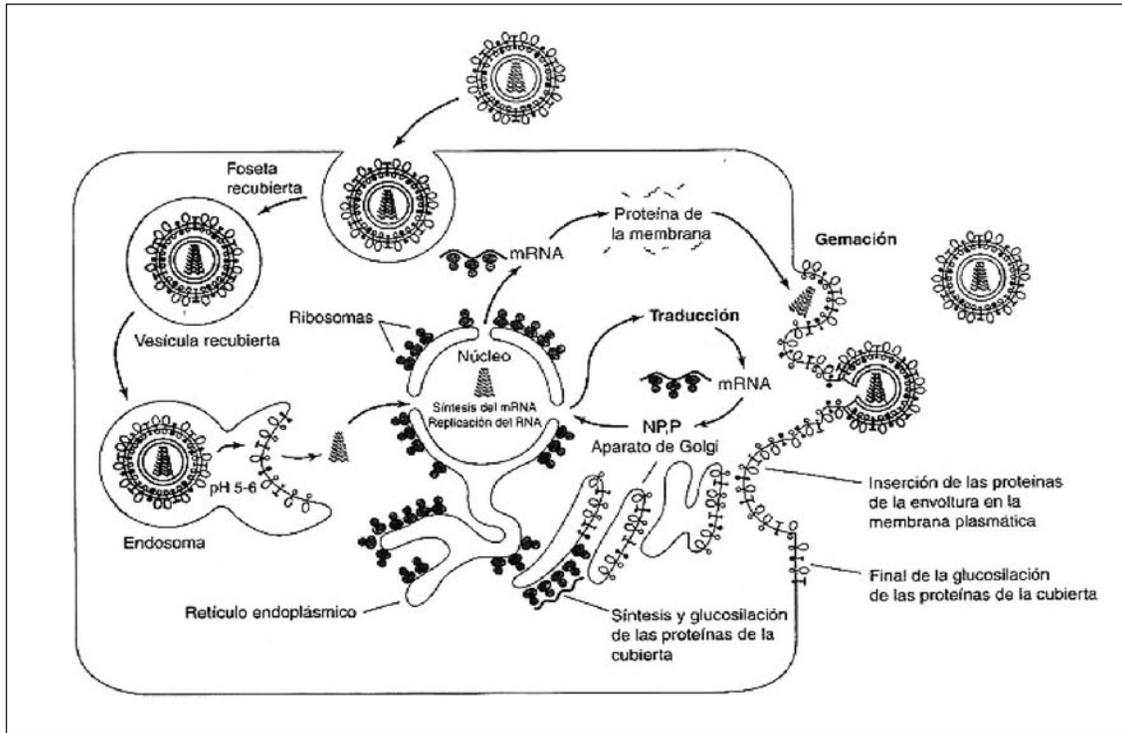
La secuencia temporal para la síntesis de proteínas virales ha sido extensamente estudiada. La presencia de NP puede ser detectada aproximadamente 2 horas después de la infección, y su concentración aumenta hasta un máximo a las 5 ó 6 horas; la NS1 aparece hacia las 5 horas después de la infección y se ha identificado en citoplasma, y en menor cantidad en el núcleo de las células infectadas; la HA y la NA aparecen aproximadamente a las 3 horas después de la infección.³⁴

Los procesos descritos interfieren con la función normal de las células del hospedero; específicamente, ocurre una síntesis preferencial de los componentes

Tabla 4. Rasgos de patogenicidad del virus de la influenza

Características y patogenicidad del virus de la influenza tipo A	
Característica	Hechos
Subtipos de HA	16
Subtipos de NA	9
Subtipos predominantes en humanos	H1, H2, y H3
Subtipos aviarios	H1 a H16
Subtipos HPAI (Highly Pathogenic Avian Influenza)	H5 y H7
Conversión a HPAI	Inserción de Aminoácidos básicos en la HA
Enlace ácido siálico – galactosa aviar	α-2,3
Enlace ácido siálico – galactosa humano	α-2,6

Figura 3. Diagrama del ciclo de replicación del virus de la influenza



virales a expensas de los componentes de las células del hospedero. Uno de los principales mediadores de esto es la proteína NS1, que es una de las más abundantes proteínas producidas virales sintetizadas por las células infectadas. La proteína NS1 inhibe el procesamiento de RNA por diversos mecanismos. NS1 interactúa con los factores de poliadenilación CPSF (*cleavage and polyadenylation specificity factor*) y PAB II (*poly [A]-binding protein 2*), inhibiendo así la poliadenilación de los mRNAs del hospedero, y contribuyendo a la retención nuclear de los mRNAs. Asimismo, el mecanismo de exportación nuclear de mRNA es inhibido por la proteína NS1 al interactuar y formar complejos con factores tales como NXF1/TAP, p15/NKT, Rae1/mrnp4, y E1B-APS, que son constituyentes claves del mecanismo de exportación que interactúan tanto con los mRNAs y con las nucleosporinas para dirigir a los mRNAs a través del NPC (*nuclear pore complex*). Además, causa una disminución en la expresión de Nup98, una nucleosporina que funciona como "andén" para los factores de exportación de mRNA. El resultado final de todo esto es el cese de la expresión de los genes de la célula del hospedero y, en particular, su exportación nuclear. Una consecuencia importante de esta actividad es que antagoniza la producción de interferón y de esta manera interfiere con la respuesta celular a la infec-

ción viral. De hecho, este es el papel más importante de la proteína NS1, pues esta proteína no es esencial para la replicación, tal como ha sido demostrado en estudios en los que cepas mutantes carentes de NS1 se replican sin dificultad en células que no producen interferón.^{34,38,40}

El ensamblaje de nuevos viriones dentro de las células infectadas inicia con la unión de la NP al vRNA, recientemente sintetizado para formar RNP. Las RNPs salen del núcleo en unión con las proteínas M1 y NEP, y en la membrana celular, éstas son incluidas en una envoltura que contiene HA, NA y la proteína M2. El proceso de liberación de nuevos viriones puede detectarse a las 5-6 horas después de la infección y es máxima a las 7-8 horas. El mecanismo de liberación de nuevos viriones no es del todo bien entendido, pero la NA juega un papel importante en este proceso al prevenir la agregación de los viriones a través de la remoción de los residuos de ácido siálico de la envoltura viral y de la membrana celular.^{32,34}

Se observan las distintas fases de dicho ciclo, comenzando por la unión del virus a la célula del hospedero y la penetración del virus a la misma, lo cual es seguido por la transcripción y traducción del RNA viral, la replicación del genoma viral, el ensamblado y liberación de los viriones nuevos.¹³

Clasificación taxonómica

Los virus de la influenza, como ya se ha mencionado, se distribuyen en tres géneros: influenza virus A, B y C, distinción hecha principalmente en base a las variaciones antigénicas que se presentan en las proteínas NP y M1.

Los virus de la influenza tipo A son divididos en subtipos, todos los cuales comparten proteínas de matriz y nucleoproteínas relacionadas, pero las estructuras de sus respectivas HAs y NAs presentan diferencias antigénicas que constituyen la base para su clasificación en subtipos. A su vez, las variaciones genéticas dentro de un mismo subtipo se denominan linajes. Este sistema de clasificación es de importancia práctica, puesto que no ocurre inmunidad cruzada entre diferentes subtipos, y las diferencias antigénicas son críticas para el entendimiento de la epidemiología del virus y la producción de vacunas contra el mismo.

En el pasado se propusieron diferentes esquemas para la clasificación de estos virus. Previamente, los estudios serológicos sugirieron que la HA del virus de la influenza que afecta a cerdos, designada como Hsw, era similar a la del virus que causó la pandemia de 1918 a 1920. Las cepas que circularon en los años 1933 a 1948 fueron clasificadas como subtipo HO, y aquéllas que ocurrieron de 1948 a 1957 fueron designadas como H1. Estudios más recientes mostraron que la HA de estos virus está relacionada, y en la clasificación actual se agrupa a todos estos virus como el subtipo H1. El subtipo H2 causó infecciones en humanos de 1957 a 1968, y el subtipo H3 lo ha hecho desde entonces a la fecha; el serotipo H1 reapareció en 1976 y ha causado también infecciones en humanos desde entonces. La HA del subtipo humano H3 da reacción cruzada con la HA del virus de la influenza equina Heq2 y el virus de la influenza aviar Hav7, y estos tres virus son ahora agrupados juntos en un solo subtipo: el H3.³⁴

Actualmente, se han identificado un total de 16 distintas HAs entre los virus de influenza tipo A. Los subtipos más recientemente reconocidos son el H14, identificado en 1990 en virus que causan infección en patos silvestres en Rusia; el H15, identificado en 1996 en virus que afectan aves costeras y patos en Australia; y el H16, identificado en 2005 en virus que afectan a las gaviotas de cabeza negra en Suecia. Hasta el momento, a pesar de intensiva investigación, no se han reconocido nuevos subtipos en ninguna de las muchas especies que se han estudiado.⁴³⁻⁴⁵

También ocurren diferencias antigénicas en la NA del virus de influenza tipo A, y hasta la fecha se han reconocido 9 variantes antigénicas de la NA. La variante antigénica designada como N1 se encuentra en todos los virus de influenza A humanos aislados antes de 1957, y la forma N2 ha sido encontrada en todos los aislamientos realizados desde entonces; en 1976 hubo una recurrencia de infecciones causadas por cepas que poseían la variante N1, y estas cepas han sido encontradas regularmente desde entonces. Las otras variantes antigénicas de la NA ocurren en virus aislados de otras especies animales como aves y caballos.

Con el sistema actual de clasificación taxonómica es posible describir cualquier virus de la influenza en términos de sus especificaciones de subtipo. El sistema estándar internacional de nomenclatura para estos virus debe indicar:

- 1) Género (o tipo) del virus (A o B)
- 2) Especie animal (en inglés) de la que se aisló (excepto cuando procede de humanos)
- 3) Origen geográfico (lugar del aislamiento)
- 4) Número de caso del laboratorio
- 5) Año en que se aisló por primera vez
- 6) Subtipo de HA y NA

Por ejemplo, un virus de influenza A/Hong Kong/1/68 (H3N2) se refiere a un virus de influenza tipo A aislado en un paciente en Hong Kong en 1968 y del subtipo H3N2. Un virus aislado en pollos en el mismo lugar, en el año 1997, del subtipo H5N1, se designaría como A/chicken/Hong Kong/Y280/97 (H5N1).

Glicobiología del virus de la influenza

Los diferentes tipos de virus inician el proceso de infección del hospedero a través de la unión a receptores específicos localizados en la superficie celular de las células susceptibles, lo cual prepara el camino para que el virus penetre en la célula. Consecuentemente, la expresión de los receptores en la superficie de las células que componen los diferentes tejidos es el determinante más importante de la ruta de entrada de cada virus particular, el tropismo y patrón de diseminación del mismo en el organismo y su patogénesis.

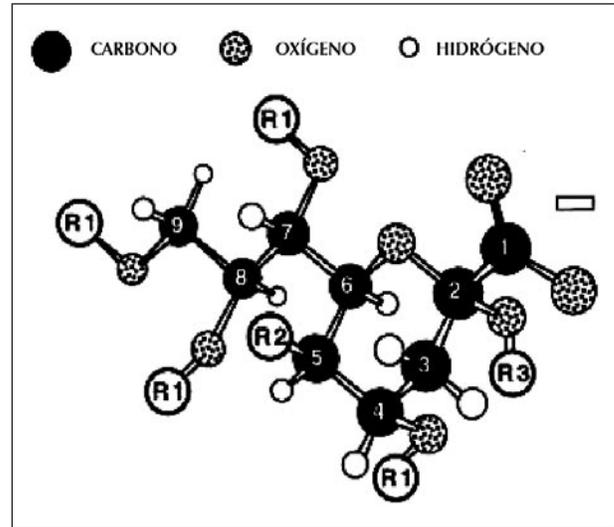
Hasta mediados de la década de 1980, los únicos receptores virales inequívocamente identificados eran los ácidos siálicos de los myxovirus. Los avances tecnológicos han permitido ir identificando los receptores de muchos otros virus, y la lista de receptores conocidos aumenta rápidamente.^{46,47}

Diversas áreas de la biología han jugado un papel muy importante en el descubrimiento del proceso de infección del virus de la influenza. Una de ellas es la glicobiología, que se encarga del estudio de los carbohidratos y la influencia de éstos en las funciones de las células. Las interacciones proteína-carbohidrato juegan un papel crucial en el biorreconocimiento del virus por la célula huésped; según el tipo de oligosacáridos que reconozca el virus, será el tipo de especie y célula al que se pueda unir el virus y que, por lo tanto, podrá ser infectada por el mismo.⁴⁸

Las funciones de la HA viral son primordiales para la replicación del virus, pues es la responsable de promover la adhesión del virus a la célula del hospedero y fusionarlo a su membrana.³² La HA del virus de la influenza A actúa como lectina que reconoce, según su especificidad, a diferentes tipos de ácido siálico (SA). Ácido siálico es un término genérico para aminoazúcares con 9 átomos de carbono. El grupo amino es siempre sustituido, ya sea por un grupo N-acetil o N-glicolil dando lugar a ácido N-acetilneuramínico (NeuAc) o ácido N-glicolilneuramínico (NeuGc), respectivamente, mientras que los grupos hidroxilos pueden ser sustituidos por grupos acetil, lactoil, metil, sulfato o fosfato. Estos compuestos se expresan frecuentemente en glicoproteínas y glicolípidos de las células epiteliales respiratorias o intestinales, a las cuales se adhiere el virus.⁴⁹⁻⁵¹ La expresión de estos compuestos en la superficie celular hace que los SA sean fácilmente accesibles y funcionen como moléculas receptoras para una amplia variedad de microorganismos, incluyendo muchos agentes virales diferentes del virus de la influenza. Otras propiedades importantes de los ácidos siálicos son:⁵²⁻⁵⁵

- 1) Su alto nivel de diversidad. Actualmente la familia está constituida por más de 40 miembros diferentes, el ácido neuramínico es el prototipo del grupo (la diversidad estructural se genera a través de sustituciones diversas a nivel de los átomos de carbono 4, 5, 7, 8 y 9), e incluye variantes importantes del mismo, tales como el ácido N-acetilneuramínico (Neu5Ac) y el ácido N-glicolilneuramínico.
- 2) Su presencia principalmente en animales superiores y algunas bacterias.
- 3) Su localización principalmente en la cadena terminal de los glicanos de superficie, y usualmente unidos a una molécula de galactosa por enlace glucosídico α 2,3 o α 2,6, o a otro ácido siálico por enlace glucosídico α 2,8.

Figura 4. Esqueleto de 9 átomos de carbono común a todos los SA



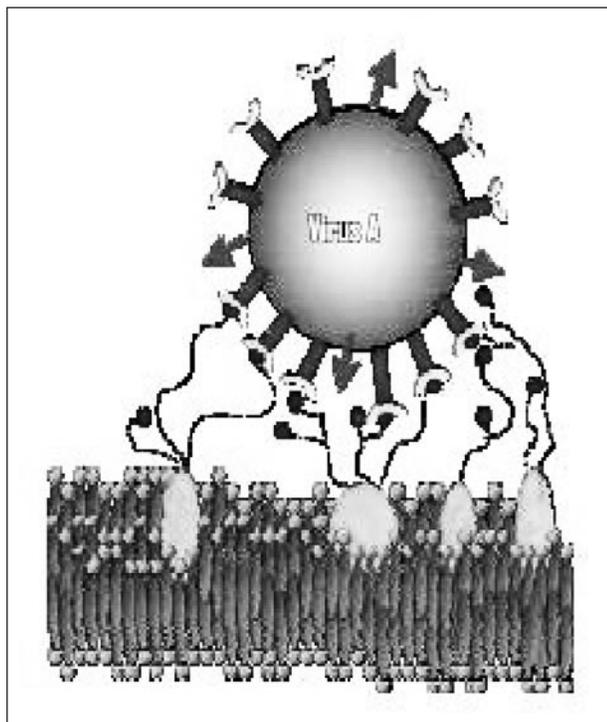
Las sustituciones naturales descritas hasta el momento se llevan a cabo en los átomos de carbono 4, 5, 7, 8 y 9, como se indica en la Figura. Se puede generar diversidad adicional mediante varios tipos de enlaces glucosídicos a nivel del carbono número 2, por generación de lactonas a nivel del carbono número 1, generando formas dehidro (eliminando así la posibilidad de enlace a través del carbono número 2, y/o formas anhídrido). R1 = acetil (4,7,8,9), lactoil (9), metil (8), sulfato (8,9), fosfato (9), anhídrido (4,8 ó 2,7), ácido siálico (8,9), mucosa (4), glucosa (8) o galactosa (4). R2 = N-acetil, N-glicolil, N-glicolil-O-acetil, amino, hidroxilo. R3 = Galactosa (3,4,6), GalNAc (6), GlcNAc (4,6), SA (8,9) o 5-O-NeuGc (ausente en las moléculas anhídrido 2,6 y 2,7). Modificada de: Int Rev Cytol 1997;175:137-240.⁵⁴

Aunque todos los virus de la influenza reconocen oligosacáridos que presentan un ácido siálico terminal, la especificidad de la HA hacia estas moléculas difiere en relación al tipo de virus del que estemos hablando (aviar, porcino, equino, humano, entre otros): los virus de la influenza equina y aviar se unen preferentemente a SA α 2,3Gal, mientras que los virus humanos se unen preferentemente a SA α 2,6Gal. También influye la clase de enlace glicosídico que presente este ácido con el siguiente carbohidrato al que esté ligado. Las estructuras más comunes presentan un ácido siálico unido a galactosa (Gal) por un enlace glicosídico tipo alfa que se establece entre el carbono número 2 del ácido siálico y los carbonos 3 ó 6 de la galactosa [SA (α 2-3) Gal y SA (α 2-6) Gal]. Asimismo, los carbohidratos internos en el sialiloligosacárido son importantes, y también lo es el hecho de si éstos se encuentran unidos a una proteína o a un lípido. Los virus de los patos, por ejemplo, presentan una alta afinidad por receptores que posean un enlace β 1-3 en lugar de un enlace β 1-4 entre el disacárido NeuAc (α 2-3) Gal y

el penúltimo residuo de N-acetilhexosamina. La presencia de sustituciones fucosa y sulfato en este residuo tienen un efecto negativo sobre la unión del virus de la influenza de los patos con el oligosacárido. Por el contrario, los virus de la influenza tipo A de las gaviotas se unen preferentemente a receptores que posean fucosa en el residuo de N-acetilglucosamina (GlcNAc). Por su parte, los virus de los pollos y de los mamíferos muestran una afinidad incrementada por los oligosacáridos que posean grupos sulfato en la posición 6 de la GlcNAc.^{48,50,56,57}

El sitio que se une a los ácidos siálicos de las células está formado por una secuencia específica de aminoácidos localizada en la cabeza globular de la hemaglutinina.⁴⁸ Las interacciones atómicas que se establecen entre los residuos de aminoácidos de la hemaglutinina y los sialiloligosacáridos de los receptores celulares son débiles e involucran la formación de puentes de hidrógeno y fuerzas de van der Waals.⁴⁶ Sin embargo, la fuerza con que el virus interactúa con la célula está dada por el cooperativismo creado por la unión de múltiples moléculas de hemaglutinina con múltiples receptores.^{48,56}

Figura 5. Reconocimiento de los sialiloligosacáridos de las glicoproteínas y glicolípidos por parte de la HA del virus de la influenza iniciando el proceso de infección



Rev Latinoam Microbiol 2007;49 (3-4):74-87.⁴⁸

La predilección selectiva que tienen los diferentes virus de la influenza para un determinado tipo de receptor es una importante barrera para la transmisión interespecie de estos virus. La expresión de SA α 2,6 en la superficie de las células epiteliales traqueales fue demostrada hace más de 15 años. Los virus humanos de influenza A se unen preferentemente a los NeuAc(α 2,6) de la superficie celular y se replican en el tracto respiratorio; por su parte, los virus de la influenza A aviar se unen preferentemente a los SA(α 2,3), los cuales se encuentran en mayor proporción en la mucosa intestinal de las aves; y fue hasta muy recientemente cuando se reportó que estos virus de origen aviar también pueden afectar la vía aérea humana.⁵⁸⁻⁶⁰ Otro hecho importante es la observación que el Neu5Gc es un constituyente frecuente de los glicanos en la mayoría de las aves y los mamíferos, pero el gen que codifica la enzima hidroxilasa necesaria para la conversión de Neu5Ac a Neu5Gc fue inactivada en nuestros ancestros, pero no en otros primates, hace millones de años, posiblemente como respuesta a amenazas microbianas.^{61,62}

Los virus de la influenza equina y porcina se unen tanto al NeuAc como al ácido N-glicolilneuramínico o NeuGc. En los cerdos existen estructuras tanto NeuAc (α 2-3) Gal como NeuAc(α -6) Gal, de modo que estos animales se infectan con virus de aves y virus humanos. En los caballos, el virus se une a estructuras SA (α 2-3) Gal presentes en la tráquea; es por ello que los virus que infectan a las aves pueden afectar a los caballos. La diferencia existente entre los oligosacáridos localizados en las células epiteliales traqueales de los humanos (predominantemente NeuAc α 2,6Gal) y los caballos (predominantemente NeuGc α 2,3Gal) sugiere que la falta de transmisión de influenza entre caballos y humanos se debe no solamente a la diferencia existente entre el enlace SA-Gal sino también a las diferencias que existen en la especie de SA. Aunque los virus de la influenza humanos han sido transmitidos al cerdo y viceversa, la transmisión de humano a caballo aún no se ha reportado. De lo anterior se deriva que la habilidad del virus para replicarse en las células de una especie específica está dada por el tipo de ácido siálico que presentan y la manera en que éste se une a la galactosa.^{48,50,63}

Investigaciones recientes han documentado cuidadosamente la distribución de los SA α 2,3 y SA α 2,6 en tejidos humanos, y particularmente en las vías aéreas. Los SA α 2,3 se encuentran en las células alveolares, mientras que los SA α 2,6 predominan en las células no alveolares.⁵² Esto se correlaciona razonablemente

bien con las manifestaciones predominantes causadas por infección con el virus de la influenza (rinitis, faringitis, traqueobronquitis, bronquiolitis), las cuales indican la replicación del virus en el tracto respiratorio.⁶⁴ Mas aun, la distribución de los SA α 2,3 y SA α 2,6 también se correlaciona con los reportes de síntomas respiratorios bajos asociados al virus de la influenza A aviar H5N1, con la dificultad de poderlo detectar en muestras tomadas de nasofaringe y con el hecho de que el virus se replica en células alveolares.^{65,66}

Específicamente los SA α 2,6 predominan en las células M del tejido linfóide de la nasofaringe⁶⁷ y en las células epiteliales de la mucosa nasal, senos paranasales, farínge, larínge, tráquea, bronquios y bronquiolos, pero no en las células alveolares. Las células Globet en larínge, tráquea y bronquios pueden también contener SA α 2,6.

Por el contrario, los SA α 2,3 se encuentran en las células alveolares y en las células bronquiolares localizadas en la unión del bronquiolo con el alvéolo; sin embargo, también se ha demostrado su presencia en células epiteliales traqueales, traqueobronquiales y bronquiales. Las células epiteliales de la mucosa nasal pueden también expresar SA α 2,3 aunque a niveles más bajos.

Las células Globet en el epitelio de la larínge, tráquea y bronquios también contienen SA α 2,3. Las células del epitelio nasofaríngeo y bronquial expresan abundantemente SA α 2,3 unido por medio de una galactosa a N-acetilglucosamina (SA α 2,3Gal β 1,4GlcNAc), pero no expresan SA α 2,3 unido a través de galactosa a N-acetilgalactosamina (SA α 2,3Gal β 1,3GalNAc).⁶⁸ Ambos trisacáridos, sin embargo, son abundantemente expresados en los neumocitos alveolares.⁵²

El rol de las células ciliadas y las no ciliadas como blancos de los virus de la influenza A también ha sido investigado. En el tracto respiratorio superior, el SA α 2,6 parece ser expresado tanto en células ciliadas como no ciliadas, mientras que el SA α 2,3 tiende a expresarse principalmente en células ciliadas.

Específicamente, el SA α 2,6 puede ser encontrado no únicamente en las células no ciliadas traqueales y traqueobronquiales, sino también en las células ciliadas del tracto respiratorio superior, en las células ciliadas de la tráquea y bronquios, y en menor grado en las células ciliadas traqueobronquiales. Por su parte, se ha reportado que el SA α 2,3 se expresa en células ciliadas nasofaríngeas, traqueales, traqueobronquiales, bronquiales, y también en las células cúbicas no ciliadas en la unión entre bronquiolos y alvéolos. De

esta manera, la distribución de SA α 2,3 y SA α 2,6 en células humanas se correlaciona con el tropismo del virus de la influenza tipo A y enfatiza el importante papel de los SA como determinantes críticos del tropismo de estos virus.⁶⁹⁻⁷²

Ácidos siálicos y tropismo ocular de los virus

Con pocas excepciones, los virus que se unen a SA y que se han aislado en humanos tienen una clara preferencia por dos regiones anatómicas: el tracto respiratorio y el ojo. Los virus que se unen a SA α 2,6, tales como los virus de la influenza A y B, el coronavirus OC43, el poliomavirus JC y el virus de la parainfluenza tipo 3, son más frecuentemente aislados del tracto respiratorio que del ojo. Por otra parte, el ojo humano constituye un muy eficiente sitio de replicación para por lo menos tres virus con especificidad para SA α 2,3.

El Ad37 fue aislado por primera vez en 1976 y constituye uno de los agentes etiológicos más frecuentes de la keratoconjuntivitis epidémica. El EV70 fue aislado por primera vez durante una epidemia de conjuntivitis hemorrágica aguda en Ghana en 1969, y subsecuentemente se extendió a través de África hasta Asia. El tercer virus que se une a SA α 2,3 es el NDV, uno de los virus más importantes que afecta a aves domésticas, principalmente pollos, y que se ha asociado a varios brotes zoonóticos de conjuntivitis entre los trabajadores de esta industria.⁷³⁻⁷⁷

La habilidad de estos tres agentes virales de utilizar el ojo humano como sitio primario de replicación pone de manifiesto el papel potencial de los ojos como vía de infección para otros virus que utilicen como receptor SA α 2,3, como es el caso de los agentes de la influenza A aviar. Además, debemos recordar que el ojo humano es un sitio en el cual muchos otros agentes virales se replican. Diversos virus, tales como el Herpesvirus tipo 1, el virus del sarampión, el virus sincitial respiratorio, los ecovirus y especies de los adenovirus B se han aislado de tejido ocular pero ninguno utiliza como receptor SA.

Se han detectado SA α 2,3 y SA α 2,6 en células epiteliales conjuntivales, lo cual sugiere que estas células son susceptibles de infección por los virus de la influenza A aviar y por los virus de la influenza A humanos. Esto es importante cuando consideramos los sitios potenciales a partir de los cuales puede surgir un virus recombinado con potencial pandémico.

Son muchos los reportes que describen al ojo como sitio inicial de manifestaciones clínicas en el humano.

La conjuntivitis asociada a los virus de influenza aviar A H7 ha sido reportada en los últimos años, tanto antes como después del brote zoonótico del virus H7N7 en los países bajos en 2003. Durante este brote, una persona falleció por insuficiencia respiratoria; sin embargo, la principal manifestación clínica observada fue conjuntivitis. Recientemente, se ha demostrado que el virus aislado en este brote era capaz de unirse directamente al tejido conjuntival humano y de replicarse eficientemente a tasa elevada.⁷⁸⁻⁸³

Es importante prestar particular atención a la potencial replicación del virus de la influenza aviar H5N1 en el ojo. En el brote de influenza aviar H5N1 ocurrido en Hong Kong en 1997 se reportó la presencia de conjuntivitis, al igual que en el brote de Turquía en 2005-2006 (12% de los casos) y en el de Egipto en 2006-2007 (34% de los casos),⁸⁴⁻⁸⁶ Asimismo, se tiene información adicional que indica que los ojos pueden ser el sitio inicial de replicación de este virus. Por ejemplo, en octubre del año 2004, dos águilas que fueron trasladadas por vía aérea desde Bangkok a Bruselas fueron confiscadas en apego al convenio de la Unión Europea que prohíbe la importación de aves procedentes de Asia (DG Sanco Decision 2004/122/EC). Las aves estaban asintomáticas a su arribo y fueron enviadas al Centro de Investigación Agroquímica y Veterinaria de Bélgica para su sacrificio e investigación. La necropsia encontró que ambas aves tenían enteritis, y una de ellas tenía, además, neumonía bilateral. Se hicieron cultivos de tejido de estas águilas en huevos embrionados y se aisló un virus de influenza A al que se llamó A/crested eagle/Belgium/01/2004, del subtipo H5N1. Uno de los médicos veterinarios que estuvieron involucrados en dicha investigación desarrolló conjuntivitis bilateral; todas las demás personas que estuvieron expuestas recibieron oseltamivir profiláctico y no desarrollaron sintomatología alguna.⁸⁷

De los datos hasta aquí señalados, surge la pregunta ¿el virus de la influenza A H5N1 puede utilizar los ojos como puerta de entrada antes de transmitirse al tracto respiratorio? Aún no se tiene la respuesta. Sin embargo, sabemos que por lo menos en modelos experimentales la infección por virus de influenza aviar del subtipo H7 se replica en ojo y puede causar enfermedad letal en ratones después de la infección ocular.⁸⁸ Existe además la posibilidad de que el virus H5N1 pueda replicarse asintóticamente en el ojo, como se demostró en el brote que ocurrió en los países bajos en el año 2003 con el virus de influenza aviar H7.⁸⁹

Hasta aquí, en esta primera parte de este artículo, se han presentado los aspectos más importantes sobre la estructura y función del virus de la influenza; posteriormente, en una segunda etapa se dará a conocer más información sobre este tema de actualidad que hoy en día es de vital importancia para el mundo en general.

Referencias bibliográficas:

1. WHO. Acute Respiratory Infections (Update February 2009). Disponible en: http://www.who.int/vaccine_research/diseases/ari/en/print.html
2. Kieny MP, Girard MP. Human vaccine research and development: An overview. *Vaccine* 2005;23(50):5705-7.
3. Girard MP, Cherian T, Pervikov Y, Kieny MP. A review of vaccine research and development: Human acute respiratory infections. *Vaccine* 2005;23(50):5708-24.
4. Williams BG, Gouws E, Boschi-Pinto C, Bryce J, Dye C. Estimates of world-wide distribution of child deaths from acute respiratory infections. *Lancet Infect Dis* 2002;2(1):25-32.
5. Monto S. Epidemiology of viral respiratory infections. *Am J Med*. 2002;112 Suppl 6A:4S-12S.
6. Mizgerd JP. Lung infection - a public health priority. *PLoS Med* 2006;3(2):e76.
7. Fendrick AM, Monto AS, Nightengale B, Sarnes M. The economic burden of non-influenza-related viral respiratory tract infection in the United States. *Arch Intern Med*. 2003;163(4):487-94.
8. Denny FW Jr. The clinical impact of human respiratory virus infections. *Am J Respir Crit Care Med* 1995;152(4 Pt 2):S4-12.
9. Monto S. Viral respiratory infections in the community: epidemiology, agents, and interventions. *Am J Med*. 1995;99(6B):24S-27S.
10. Karaivanova GM. Viral respiratory infections and their role as public health problem in tropical countries (review). *Afr J Med Sci*. 1995;24(1):1-7.
11. Berman S. Epidemiology of acute respiratory infections in children of developing countries. *Rev Infect Dis* 1991;13 Suppl 6:S454-62.
12. Nicholson KG, Kent J, Hammersley V, Cancio E. Acute viral infections of upper respiratory tract in elderly people living in the community: comparative, prospective, population based study of disease burden. *BMJ* 1997;315:1060-1064.
13. Brooks GF, Butel JS, Morse SA. Microbiología Médica de Jawetz, Melnick y Adelberg, 18th edición, p. 531-546. Editorial El Manual Moderno, S. A. de C. V.
14. Sandrock C, Nelly T. Clinical Review: Update of avian influenza A infections in humans. *Critical Care* 2007;11:209.
15. Betts RF. Influenza Virus. In: Mandell, Douglas and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases, 4th edition, Churchill Livingstone Inc 1995:1546-67.
16. Rocco C Cipriano. Infectious Salmon Anemia Virus Fish Disease Leaflet 2002, No. 85. Disponible en: <http://www.lsc.usgs.gov/fhb/leaflets/FHB85.pdf>
17. Hellebø A, Vilas U, Falk K, Vlasak R. Infectious Salmon Anemia Virus Specifically Binds to and Hydrolyzes 4-O-Acetylated Sialic Acids. *J Virol* 2004;78(6):3055-3062.
18. Lovely JE, Dannvig BH, Falk K, Hutchin L, MacKinnon AM, Melville KJ, Rimstad E, Griffiths SG. First identification of infectious salmon anaemia virus in North America with haemorrhagic kidney syndrome. *Dis Aquat Org* 1999;35:145-148.

19. Rolland JB, Winton JR. Relative resistance of Pacific salmon to infectious salmon anaemia virus. *J Fish Dis* 2003;26 (9):511-520.
20. Frese M, Kochs G, Meier-Dieter U, Siebler J, Haller O. Human MxA Protein Inhibits Tick-Borne Thogoto Virus but Not Dhori Virus. *J Virol* 1995;69(6):3904-9.
21. Leahy MB, Dessens JT, Weber F, Kochs G, Nuttall PA. The fourth genus in the Orthomyxoviridae: sequence analyses of two Thogoto virus polymerase proteins and comparison with influenza viruses. *Virus Research* 1997; 50(2):215-24.
22. ICTVdB Management (2006). 00.046.0.03. Thogotovirus. In: ICTVdB - The Universal Virus Database, version 4. Büchen-Osmond, C. (Ed), Columbia University, New York, USA.
23. Hagmaier K, Jennings S, Buse J, Weber F, Kochs G. Novel gene product of Thogoto virus segment 6 codes for an interferon antagonist. *J Virol* 2003;77(4):2747-52.
24. Kochs G, Weber F, Gruber S, Delvendahl A, Lettz C, Haller O. Thogoto virus matrix protein is encoded by a spliced mRNA. *J Virol* 2000;74(22):10785-9.
25. Filipe AR, Peleteiro MC, de Andrade HR. Dhori virus induced lesions in mice. *Acta Virologica* 1990;34(6):578-81.
26. Mateo RI, Xiao SY, Lei H, Travassos de Rosa AP, Tesh RB. Dhori virus (Orthomyxoviridae: Thogotovirus) infection in mice: A model of the pathogenesis of severe orthomyxovirus infection. *Am J Trop Med Hyg* 2007;76(4):785-790.
27. Butenko AM, Leshchinskaia EV, Semashko IV, Donets MA, Mart'ianova LI. Dhori virus a causative agent of human disease. 5 cases of laboratory infection. *Voprosy Virusologii*. 1987;32(6):724-9.
28. Frese M, Weeber M, Weber F, Speth V, Haller O. Mx1 sensitivity: Batken virus is an orthomyxovirus closely related to Dhori virus. *J Gen Virol* 1997;78 (Pt 10):2453-8.
29. Index of Viruses - Orthomyxoviridae (2006). In: ICTVdB - The Universal Virus Database, version 4. Büchen-Osmond, C (Ed), Columbia University, New York, USA. Disponible en: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/ICTVdb/ctv/fs_index.htm
30. Pinto da Silva EV, Travassos da Rosa APA, Nunes MRT, Dinis JAP, Cruz ACR, Vieira CMA, Vasconcelos PFC. Araguari virus, a new member of the family Orthomyxoviridae: serologic, ultrastructural, and molecular characterization. *Am J Trop Med Hyg* 2005; 73(6):1050-1058.
31. Index of Viruses - Orthomyxoviridae (2006). In: ICTVdB - The Universal Virus Database, version 4. Büchen-Osmond, C (Ed), Columbia University, New York, USA.
32. Lamb RA, Krug RM. Orthomyxoviridae: The viruses and their replication. In: Knipe DM, Howley PM, Griffin DE, et al., eds. *Fields virology*. 4th ed. Philadelphia, PA: Lippincott Williams & Wilkins; 2001, vol. 1, chapter 46.
33. White DO, Fenner FJ. Orthomyxoviridae. In: White DO, Fenner FJ. *Medical Virology*, 4th ed. Academic Press 1994:489-99.
34. Potter CW. Influenza. In: Zuckerman AJ, Banatvala JE, Pattison JR, Griffiths PD, Schoub BD. *Principles and practice of clinical virology*, 5th edition. John Wiley & Sons, LTD 2004:271-297.
35. Shibata S, Yamamoto-Goshima F, Maeno K, Hanaichi T, Fujita Y, Nakajima K, Imai M, Komatsu T, Sugiura S. Characterization of a temperature-sensitive influenza B virus mutant defective in neuraminidase. *J Virol* 1993;67(6):3264-3273.
36. Wang X, Li M, Zheng H, Muster T, Palese P, Beg AA, García-Sastre A. Influenza A virus NS1 protein prevents activation of NF-kappaB and induction of alpha/beta interferon. *J Virol* 2000;74(24):11566-73.
37. Stasakova J, Ferko B, Kittel C, Sereinig S, Romanova J, Katinger H, Egorov A. Influenza A mutant viruses with altered NS1 protein function provoke caspase-1 activation in primary human macrophages, resulting in fast apoptosis and release of high levels of interleukins 1beta and 18. *J Gen Virol*. 2005;86(Pt 1):185-95.
38. Satterly N, Tsai PL, van Deursen J, Nussenzweig DR, Wang Y, Faria PA, Levay A, Levy DE, Fontoura BM. Influenza virus targets the mRNA export machinery and the nuclear pore complex. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2007;104(6):1853-8.
39. Fernandez-Sesma A, Marukian S, Ebersole BJ, Kaminski D, Park MS, Yuen T, Sealton SC, García-Sastre A, Moran TM. Influenza Virus Evades Innate and Adaptive Immunity via the NS1 Protein. *J Virol*. 2006;80(13):6295-6304.
40. Kochs G, García-Sastre A, Martínez-Sobrido L. Multiple anti-interferon actions of the influenza A virus NS1 protein. *J Virol*. 2007;81(13):7011-21.
41. Lam WY, Tang JW, Yeung AC, Chiu LC, Sung JJ, Chan PK. Avian influenza virus A/HK/483/97(H5N1) NS1 protein induces apoptosis in human airway epithelial cells. *J Virol*. 2008;82(6):2741-51.
42. O'Neill RE, Talon J, Palese P. The influenza virus NEP (NS2 protein) mediates the nuclear export of viral ribonucleoproteins. *EMBO J* 1998;17(1):288-296.
43. Kawaoka Y, Yamnikova S, Chambers TM, Lvov DK, Webster RG. Molecular characterization of a new hemagglutinin, subtype H14, of influenza A virus. *Virology*. 1990;179(2):759-67.
44. Röhm C, Zhou N, Süß J, Mackenzie J, Webster RG. Characterization of a novel influenza hemagglutinin, H15: criteria for determination of influenza A subtypes. *Virology*. 1996;217(2):508-16.
45. Fouchier RA, Munster V, Wallensten A, Bestebroer TM, Herfst S, Smith D, Rimmelzwaan GF, Olsen B, Osterhaus AD. Characterization of a novel influenza A virus hemagglutinin subtype (H16) obtained from black-headed gulls. *J Virol* 2005;79(5):2814-22.
46. Haywood AM. Virus receptors: binding, adhesion strengthening, and changes in viral structure. *J Virol* 1994;68(1):1-5.
47. Norkin LC. Virus Receptors: Implications for Pathogenesis and the Design of Antiviral Agents. *Clin Microbiol Rev* 1995;8(2):293-315.
48. Flores-Munguía ME, Vázquez-Moreno L, Ramos-Clamont MG. Glicobiología del virus de la influenza A. *Rev Latinoam Microbiol* 2007;49 (3-4):74-87.
49. Weis, W., J.H. Brown, S. Cusack, J.C. Paulson, J.J. Skehel, & D.C. Wiley. Structure of the influenza virus haemagglutinin complexed with its receptor sialic acid. *Nature* 1988;333:426-431.
50. Suzuki Y, Ito T, Suzuki T, Holland RE Jr, Chambers TM, Kiso M, Ishida H, Kawaoka Y. Sialic acid species as a determinant of the host range of influenza A viruses. *J Virol* 2000;74(24):11825-31.
51. Mayes PA. Carbohidratos de importancia fisiológica. En Murray RK, Mayes AM, Granner DK, Rodwell VW: *Bioquímica de Harper*, 11ª edición, capítulo 14, p. 119-128. Editorial El Manual Moderno.
52. Kumlin U, Olofsson S, Dimock K, Arnberg N. Sialic acid tissue distribution and influenza virus tropism. *Influenza Other Respi Viruses*. 2008;2(5):147-54.
53. Schauer R. Victor Ginsburg's influence on my research of the role of sialic acids in biological recognition. *Arch Biochem Biophys* 2004;426(2):132-41.
54. Varki A. Sialic acids as ligands in recognition phenomena. *FASEB J*. 1997;11(4):248-55.
55. Kelm S, Schauer R. Sialic acids in molecular and cellular interactions. *Int Rev Cytol* 1997;175:137-240.
56. Gambaryan A, Yamnikova S, Lvov D, Tuzikov A, Chinarev A, Pazynina G, Webster R, Matrosovich M, Bovin N. Receptor specificity of influenza viruses from birds and mammals: new data on involvement of the inner fragments of the carbohydrate chain. *Virology*. 2005;334(2):276-83.
57. Gambaryan AS, Karasin AI, Tuzikov AB, Chinarev AA, Pazynina GV, Bovin NV, Matrosovich MN, Olsen CW, Klimov AI. Receptor-binding properties of swine influenza viruses isolated and propagated in MDCK cells. *Virus Res* 2005;114(1-2):15-22.

58. Baum LG, Paulson JC. Sialyloligosaccharides of the respiratory epithelium in the selection of human influenza virus receptor specificity. *Acta Histochem Suppl* 1990; 40:35-38.
59. Couceiro JN, Paulson JC, Baum LG. Influenza virus strains selectively recognize sialyloligosaccharides on human respiratory epithelium; the role of the host cell in selection of hemagglutinin receptor specificity. *Virus Res* 1993; 29:155-165.
60. Neumann G, Kawaoka Y. Host range restriction and pathogenicity in the context of influenza pandemic. *Emerg Infect Dis* 2006;12(6):881-6.
61. Chou HH, Hayakawa T, Diaz S et al. Inactivation of CMP-N-acetylneuraminic acid hydroxylase occurred prior to brain expansion during human evolution. *Proc Natl Acad Sci* 2002; 99:11736-11741.
62. Van Blerkom LM. Role of viruses in human evolution. *Am J Phys Anthropol* 2003; 37:14-46.
63. Suzuki Y, Ito T, Suzuki T, Holland RE Jr, Chambers TM, Kiso M, Ishida H, Kawaoka Y. Sialic acid species as a determinant of the host range of influenza A viruses. *J Virol* 2000;74(24):11825-11831.
64. Wright PF, Webster RG. Orthomyxoviruses. In: Knipe DM, Howley PM, Griffin DE, et al., eds. *Fields virology*. 4th ed. Philadelphia, PA: Lippincott Williams & Wilkins; 2001, vol. 1, chapter 47.
65. Peiris JS, Yu WC, Leung CW et al. Re-emergence of fatal human influenza A subtype H5N1 disease. *Lancet* 2004; 363:617-619.
66. Uiprasertkul M, Puthavathana P, Sangsriwut K et al. Influenza A H5N1 replication sites in humans. *Emerg Infect Dis* 2005; 11:1036-1041.
67. Fujimura Y, Takeda M, Ikai H, Haruma K, Akisada T, Harada T, Sakai T, Ohuchi M. The role of M cells of human nasopharyngeal lymphoid tissue in influenza virus sampling. *Virchows Arch*. 2004;444(1):36-42.
68. Nicholls JM, Chan MC, Chan WY, Wong HK, Cheung CY, Kwong DL, Wong MP, Chui WH, Poon LL, Tsao SW, Guan Y, Peiris JS. Tropism of avian influenza A (H5N1) in the upper and lower respiratory tract. *Nat Med* 2007; 13:147-149.
69. Ibricevic A, Pekosz A, Walter MJ et al. Influenza virus receptor specificity and cell tropism in mouse and human airway epithelial cells. *J Virol* 2006; 80:7469-7480.
70. Matrosovich MN, Matrosovich TY, Gray T, Roberts NA, Klenk H-D. Human and avian influenza viruses target different cell types in cultures of human airway epithelium. *Proc Natl Acad Sci* 2004; 101:4620-4624.
71. Thompson CI, Barclay WS, Zambon MC, Pickles RJ. Infection of human airway epithelium by human and avian strains of influenza A virus. *J Virol* 2006; 80:8060-8068.
72. van Riel D, Munster VJ, de Wit E et al. Human and Avian Influenza Viruses Target Different Cells in the Lower Respiratory Tract of Humans and Other Mammals. *Am J Pathol* 2007; 171:1215-1223.
73. De Jong JC, Wigand R, Wadell G et al. Adenovirus 37: identification and characterization of a medically important new adenovirus type of subgroup D. *J Med Virol* 1981; 7:105-118.
74. Azar MJ, Dhaliwal DK, Bower KS, Kowalski RP, Gordon YJ. Possible consequences of shaking hands with your patients with epidemic keratoconjunctivitis. *Am J Ophthalmol* 1996; 121:711-712.
75. Aoki K, Tagawa Y. A twenty-one year surveillance of adenoviral conjunctivitis in Sapporo, Japan. *Int Ophthalmol Clin* 2002; 42:49-54.
76. Minami K, Otatsume S, Mingle JA, Afoakwa SN, Quarcoopome CO, Konno K, Uchida Y, Kurahashi H, Kono R. Seroprevalence studies of acute hemorrhagic conjunctivitis virus (enterovirus type 70) in West Africa. I. Studies with human sera from Ghana collected eight years after the first outbreak. *Am J Epidemiol*. 1981;114(2):267-73.
77. Howitt BF, K BL, Kissling RE. Presence of neutralizing antibodies of newcastle disease virus in human sera. *Am J Public Health* 1948;38:1263-1272
78. CDC. CfDCaP update: influenza activity – United States and worldwide, 2003-04 season, and composition of the 2004-05 influenza vaccine. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*. 2004; 53:547-552.
79. Marshall M. Avian influenza H7N2, human-United Kingdom (Wales) (08) 2007. Disponible en: http://www.promed-mail.org/pls/otn/f?p=2400:1202:857450566246460::NO::F2400_P1202_CHECK_DISPLAY,F2400_P1202_PUB_MAIL_ID:X,37732.
80. Nguyen-Van-Tam JS, Nair P, Acheson P, et al. Outbreak of low pathogenicity H7N3 avian influenza in UK, including associated case of human conjunctivitis. *Euro Surveill* 2006; 11:2952. Disponible en : <http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId=2952>.
81. Nguyen-Van-Tam JS, Nair P, Acheson P, Baker A, Barker M, Bracebridge S, Croft J, Ellis J, Gellertlie R, Gent N, Ibbotson S, Joseph CA, Mahgoub H, Monk P, Reghitt TW, Sundkvist T, Sellwood C, Simpson J, Smith J, Watson JM, Zambon M, Lightfoot N. Outbreak of low pathogenicity H7N3 avian influenza in UK, including associated case of human conjunctivitis. *Euro Surveill*. 2006;11(18):pii=2952. Disponible en: <http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId=2952>
82. Fouchier RA, Schneeberger PM, Rozendaal FW et al. Avian influenza A virus (H7N7) associated with human conjunctivitis and a fatal case of acute respiratory distress syndrome. *Proc Natl Acad Sci* 2004; 101:1356-1361.
83. Webster RG, Geraci J, Petursson G, Skirnisson K. Conjunctivitis in human beings caused by influenza A virus of seals. *N Engl J Med* 1981; 304:911.
84. Chan PKS. Outbreak of avian influenza A(H5N1) virus infection in Hong Kong in 1997. *Clin Infect Dis* 2002;34 Suppl 2: S58-64.
85. Oner AF, Bay A, Arslan S et al. Avian influenza A (H5N1) infection in eastern Turkey in 2006. *N Engl J Med* 2006; 355:217-2185.
86. Writing committee of the second world health organization consultation on clinical aspects of human infection with avian influenza A (H5N1) virus. Update on avian influenza A (H5N1) virus infection in humans. *N Engl J Med* 2008; 358:261-273.
87. Van Borm S, Thomas I, Hanquet G et al. Highly pathogenic H5N1 influenza virus in smuggled Thai eagles, Belgium. *Emerg Infect Dis* 2005; 11:702-705.
88. Belser JA, Lu X, Maines TR et al. Pathogenesis of avian influenza (H7) virus infection in mice and ferrets: enhanced virulence of Eurasian H7N7 viruses isolated from humans. *J Virol* 2007; 81:11139-11147.
89. Enserink M. Bird flu infected 1000, Dutch researchers say. *Science* 2004; 306:590.

Correspondencia:

Dr. Adrián Valle de la O.

Email: adrianvalle@usa.net