

CAPÍTULO 3

¿De dónde viene el virus de la influenza A (H1N1)?

○ Lourdes Lloret Sánchez
○ René Arredondo Hernández
○ Yolanda López Vidal

Contenido

- Reservorios del virus de influenza A en la naturaleza | 34
- La naturaleza segmentada del genoma del virus de la influenza A y su evolución | 34
- Determinantes moleculares del hospedero | 38
- Origen del virus de influenza A (H1N1) S-OIV 2009 | 40
- Conclusión | 43
- Agradecimiento | 44
- Bibliografía | 44

Los virus de la influenza A causan brotes epidémicos anuales a nivel local o internacional con severas consecuencias para la salud humana y la economía global. El surgimiento de nuevos subtipos virales constituye un reto para la salud pública y la comunidad científica. Recientemente fue detectada una nueva variante de virus de influenza tipo A subtipo H1N1, asociada a enfermedad y transmitida entre la población humana. Al momento de escribir este capítulo no existía una vacuna contra este nuevo virus y la vacuna contra la influenza estacional aplicada en el 2008, sólo confirió inmunidad parcial contra la influenza pandémica. La epidemia actual plantea interrogantes de gran importancia para las cuales por el momento, no hay respuestas. En la literatura han aparecido un gran número de aportaciones de secuencias de genomas completos del virus A (H1N1), estudios de respuesta inmune, y recientemente, la asociación entre muerte y esta nueva variante de virus de influenza A (H1N1) en México.

- **Reservorios del virus de influenza A en la naturaleza**

Los virus de la influenza son virus de RNA de cadena sencilla negativa y se agrupan dentro de la familia *Orthomyxoviridae*. Los tipos de virus de la influenza se distinguen taxonómicamente por diferencias antigénicas. Estos cambios antigénicos en la nucleoproteína (NP) y en la proteína que conforma la matriz protéica (M), permiten la clasificación de la influenza en tres subtipos A, B y C. Mientras que los tipos B y C son predominantemente patógenos de humano⁽¹⁾ que esporádicamente se ha encontrado en cerdos⁽²⁾ y focas⁽³⁾, la influenza tipo A se ha aislado en muchas especies animales que incluyen al cerdo, caballo, mamíferos marinos, aves domésticas y silvestres, y también al humano⁽⁴⁾.

Para el tipo A, la identificación de subtipos se basa en la antigenicidad de dos glicoproteínas de superficie de los viriones, la hema-

glutinina (HA) y la neuraminidasa (NA). Hasta la fecha se han encontrado dieciséis subtipos de HA que son nombrados desde H1 hasta H16, y nueve subtipos de NA, desde N1 hasta N9. Todas las combinaciones para estas dos glicoproteínas del virus de la influenza A que se han aislado hasta el momento, han sido encontradas en aves silvestres^(4, 7, 9). Los virus de la influenza tipo A normalmente no producen enfermedad en aves acuáticas, lo que indica un nivel óptimo de adaptación; por lo tanto, se considera que estas aves son su reservorio natural y la han transmitido a las especies de mamíferos. En la [Figura 3-1](#) se representa la transmisión del virus de la influenza A entre diferentes hospederos partiendo de un origen aviar, propuesta por Webster y cols.⁽⁴⁾. Recientemente Gatherer y cols.⁽⁹⁾, hicieron una revisión de todas las especies para las que existen secuencias nucleotídicas de la HA documentadas en la base de datos del NCBI, y encontraron que además de las aves, al menos dieciocho especies de mamíferos incluyendo al humano, son infectados por el virus de influenza A. En la [Tabla 3.1](#) se muestran los subtipos asociados a cada una de ellas. De los dieciséis subtipos de HA, seis fueron identificados en humano: H1, H2, H3, H5, H7 y H9. A excepción de H7 (que comparte con los equinos), los cinco subtipos restantes también fueron aislados en cerdo. El subtipo H4 es el único presente en cerdo que no se ha aislado en humano. Después de H5, que es el subtipo aislado en el mayor número de especies, el subtipo H1, al que corresponde la pandemia actual, ocupa el segundo lugar en cuanto a número de especies infectadas.

- **La naturaleza segmentada del genoma del virus de la influenza A y su evolución**

El genoma del virus de la influenza está formado por ocho segmentos de RNA de cadena sencilla negativa que suman aproximadamente

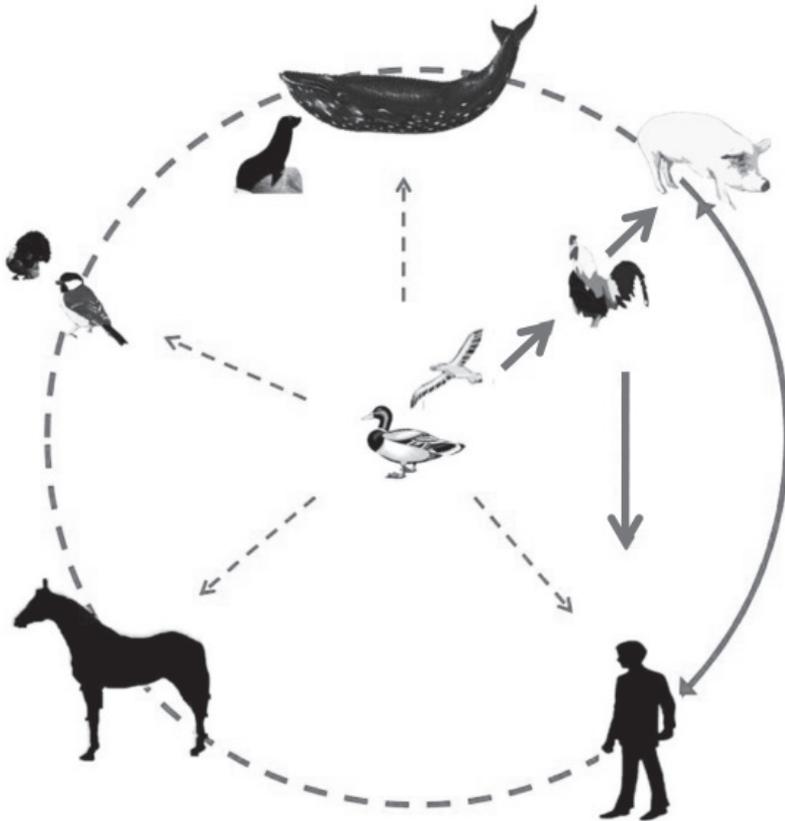


Fig. 3-1 A partir del reservorio de las aves silvestres, el virus de la influenza A se ha transmitido a las aves de corral y otras especies de mamíferos. El contacto del humano y animales de granja como el cerdo y la gallina, propicia eventos de zoonosis. La transmisión bidireccional entre humano y cerdo está bien establecida. Las líneas punteadas indican transmisión probable, y las líneas continuas indican transmisiones que ya han sido reportadas.

13 kilobases. Cada segmento contiene una región que codifica para una o dos proteínas, así como secuencias cortas que las flanquean. Los segmentos 2, 7 y 8 codifican para dos proteínas y el resto para una. Tres segmentos codifican para el complejo de la polimerasa: la polimerasa básica 2 (PB2) en el segmento 1; la polimerasa básica (PB1) en el segmento 2; y la proteína ácida (PA) en el segmento 3. El segmento 2 codifica también para la proteína apoptótica F2 con otro marco de lectura distinto a PB1. Dos segmentos codifican para glicoproteínas

antigénicas de la envoltura, que son la hemaglutinina (HA) en el segmento 4 y la neuraminidasa (NA) en el segmento 6. El segmento 5, codifica para la única nucleoproteína (NP). El segmento 7 codifica para las proteínas estructurales de la matriz, M1 y M2 que tienen una corta superposición dentro de este segmento. Finalmente, el segmento 8, que es el más pequeño del genoma, codifica para las proteínas no estructurales NS1 y NS2, que intervienen como antagonistas de la transcripción de genes regulados por el interferon- β , y en la exportación hacia afuera

Tabla 3.1

Hospederos de aislamiento de los subtipos de HA que han sido reportados en el Gene Bank (adaptada de Gatherer y cols. 2009).

Especie	H1	H2	H3	H4	H5	H6	H7	H8	H9	H10	H11	H12	H13	H14	H15	H16	Total
Aves																	16
Ballena																	3
Camello																	1
Cerdo																	6
Chinchilla																	1
Civeta																	1
Equino																	2
Foca																	2
Gato																	1
Humano																	6
Hurón																	1
Leopardo																	3
Marta de piedra																	1
Mink																	3
Rata almizclera																	1
Oso hormiguero gigante																	1
Perro																	1
Mapache																	1
Tigre																	1
TOTAL	7	4	7	5	9	1	6	1	3	2	1	1	1	1	1	1	

Los cuadros en azul indican presencia del subtipo de HA.

del núcleo, de las ribonucleoproteínas virales, respectivamente ^(10,11). En la [Tabla 3.2](#) se detalla el contenido de los segmentos que componen al genoma del virus de la influenza A (H1N1) pandémico.

Debido a la naturaleza segmentada del virus de influenza A, existe la posibilidad de que ocurran reordenamientos cuando virus distintos infectan a un mismo individuo. Los arreglos

ocurren por la co-infección de dos o más virus diferentes. El resultado es una progenie de viriones que pueden contener una combinación no aleatoria de segmentos de los virus parentales ⁽¹²⁾. Cuando el segmento de RNA que es reemplazado proviene de un linaje distinto, entonces se dice que ocurrió un reordenamiento o arreglo nuevo. Las combinaciones resultantes repercuten en la ampliación del rango de hospedero y en la patogenicidad del virus. Esto es

Tabla 3.2

Composición de segmentos del genoma del virus de influenza A de la epidemia H1N1 2009, S-OIV, las secuencias más parecidas y zoonosis más cercanas.

No. de segmento	Nombre del segmento	Tamaño del segmento en nucleótidos	Nombre de la proteína	Función	Secuencia más parecida	Zoonosis más cercana
1	PB2	2,277	Polimerasa básica 2	Reconocimiento del RNA	A/Swine/Korea/JNS06/2004_H3N2	A/Wisconsin/10/1998_H1N1
2	PB1-F2	2,271	- Polimerasa básica 1 - Proteína F2	- Adición de nucleótidos - Proteína apoptótica en la mitocondria del hospedero	A/Wisconsin/10/1998_H1N1	A/Iowa/Ceid23/2005_H1N1
3	PA	2,148	Polimera ácida	Polimerasa ácida, posible proteasa	A/Swine/Minnesota/593/1999_H3N2	A/Wisconsin/10/1998_H1N1
4	HA	1,698	Hemaglutinina	Reconocimiento y adherencia al receptor de la célula del hospedero	A/Swine/Indiana/P12439/2000_H1N2	A/Wisconsin/10/1998_H1N1
5	NP	1,494	Nucleoproteína	Proteína asociada al RNA viral	A/Swine/Iowa/533/1999_H3N2	A/Wisconsin/10/1998_H1N1
6	NA	1,407	Neuraminidasa	Salida de los nuevos viriones desde la célula del hospedero	A/Swine/England/WVL7/1992_H1N1	A/Thailand/271/2005_H1N1
7	M	- 756 - 291	M1 M2	- Proteína de la matriz - Canal de iones	A/HongKong/1774/1999_H3N2	A/Thailand/271/2005_H1N1
8	NS	-690 - 363	NS1 NS2	- Antagonista del ITF-β - Exportación de las ribonucleoproteínas virales del núcleo hacia el citoplasma	A/Swine/Minnesota/9088-2/1998_H3N2	A/Wisconsin/10/1998_H1N1

debido a que las poblaciones de hospederos potenciales, no poseen memoria inmunológica ante este nuevo virus, lo que se conoce como “cambio antigénico”⁽⁴⁾.

El virus de influenza A también evoluciona por la acumulación de mutaciones que se han ido fijando con el tiempo, a través de selección natural por la interacción con la célula hospedera (coevolución). Las mutaciones en estos virus son frecuentes debido a la carencia de actividad correctora de la RNA polimerasa dependiente de RNA⁽¹²⁾. La tasa de mutación de los virus de RNA es de 10^{-3} a 10^{-4} nucleótidos por sitio por año^(13,14). En este sentido, la coevolución del virus y la especie hospedera van delineando la formación de los distintos linajes que se ven reflejados en los árboles filogenéticos construidos con secuencias de virus que han sido aislados en escalas de tiempo relativamente cortas (desde del siglo XIX hasta el presente)^(8,15,16,17). Este cambio continuo que genera modificaciones en la estructura de las proteínas del virus, ocasiona variaciones en los sitios antigénicos, lo que se conoce como “deriva antigénica”⁽⁴⁾. Cabe señalar que las proteínas externas o de superficie de este virus (HA y la NA) son las que están sujetas a mayor presión selectiva. El dominio HA1 de la proteína HA es el que presenta el mayor número de epítopes lo cual indica que es la proteína más expuesta a esta presión de selección^(18,19). Ésta es la causa principal de la necesidad de renovar la vacuna contra la influenza estacional frecuentemente con un conjunto de virus distintos.

Los cambios graduales que ocurren en cada linaje (deriva antigénica), junto con los reordenamientos que ocurren cuando se reemplazan segmentos provenientes de distintos linajes (cambio antigénico), constituyen la forma en la que estos virus evolucionan y generan nuevos subtipos, lo que representa nuevos retos para el sistema inmune de los posibles hospederos.

• Determinantes moleculares del hospedero

El sistema inmune innato de respuesta inespecífica del humano, se encuentra expuesto a una amplia clase de patógenos. A nivel celular, este proceso depende de la capacidad para reconocer al patógeno como no propio y dar una respuesta de defensa apropiada. En los últimos años, ha existido un progreso importante en la enumeración de diversos patrones de receptores del reconocimiento para la identificación de sistemas de patrones moleculares asociados a patógenos. Los ejemplos incluyen a los receptores toll-like y a los receptores inducibles del ácido retinoico, entre otros. De tal forma, que la capacidad de evolución del virus depende principalmente de su habilidad para evitar su reconocimiento a través de este sistema inmune innato, ya que esto afectaría su supervivencia. Por lo tanto, los avances en el conocimiento del sistema de inmunoestimulación deberían abordarse de forma conjunta con los de la evolución viral. Algunos cambios puntuales en la secuencia de las proteínas del virus de la influenza A, fueron identificados como determinantes de especificidad, y son claves para el reconocimiento exitoso por el hospedero. En HA y la PB2 han sido identificados estos cambios^(20,16).

La hemaglutinina (HA)

La HA es la glicoproteína de la superficie del virus, que media el reconocimiento y la unión del virus al receptor de la célula del hospedero⁽¹¹⁾. Ésta es una de las dos proteínas antigénicas de superficie que se utiliza para la clasificación de los subtipos de virus de influenza A. Dos características importantes deben destacarse de la participación de HA: en principio, el sitio de reconocimiento por el tipo de receptor del hospedero^(21,22), y posteriormente, el reconocimiento del sitio de corte de HA por proteasas del hospedero para la generación de dos proteínas, la HA1 y HA2 que exponen

el dominio de fusión con la célula en la que se introducen ⁽²³⁾.

Especificidad en el reconocimiento de HA por el hospedero

Existen diferencias entre el tipo de receptores de HA y la localización anatómica en distintos hospederos. La célula hospedera reconoce al virus mediante receptores que contienen ácido N-acetilsálico ligado a galactosa. Lo que hace la diferencia en el reconocimiento de los distintos hospederos, es el tipo de enlace que une al ácido síalico con la galactosa. Mientras que los virus que se han adaptado al humano, son reconocidos preferentemente por receptores con enlace $\alpha 2,6\text{Gal}$, los receptores de aves reconocen al virus cuando el enlace es $\alpha 2,3\text{Gal}$ ^(21, 22, 24, 25, 26).

La gran afinidad de adhesión del virus a estos receptores está determinada por la secuencia de aminoácidos de HA. En los subtipos H2 y H3, una glutamina en las posiciones 226 (Gln226) y una glicina en la posición 228 Gly (Gly228) confieren la adhesión a receptores de tipo aviar, mientras que leucina en la posición 226 (Leu226) y serina en la posición 228 (Ser228), son reconocidos por receptores humanos ^(22,31). En el subtipo H1, un ácido aspártico en las posiciones 190 (Asp190) y 225 (Asp225) ha sido encontrado en humano, mientras que ácido glutámico en la posición 190 (Glu190) y glicina en la posición 225 (Gly225) en el tipo aviar ⁽³¹⁾. En el subtipo H3 el Asp190 se encuentra tanto en humano como en cerdo, y el Glu encontrado en virus aviares en esa misma posición, no es responsable de su afinidad ⁽³²⁾. Cambios experimentales de aminoácidos Gln226Leu y Gly228Ser pero manteniendo sin cambio la posición 190, permite el reconocimiento tanto en receptores aviares como humanos ⁽³³⁾. En el virus A (H1N1), responsable de la actual epidemia, los aminoácidos que ocupan las posiciones 225 y 190 son los encontrados

en linajes humanos (Asp225 y Asp190) sosteniendo la transmisibilidad de estos virus entre personas ⁽¹⁶⁾.

El cerdo “como recipiente de mezclado”

En el cerdo se encuentran presentes ambos tipos de receptores, es decir, aviares ($\alpha 2,3\text{Gal}$) y humanos ($\alpha 2,6\text{Gal}$) ⁽²⁷⁾, hecho que explica, porque este hospedero es altamente susceptible de ser infectado tanto por virus humanos como aviares. Por esta razón se le atribuye al cerdo el papel de ser el “recipiente de mezclado” donde se generan los reordenamientos de segmentos de virus aviares y humanos tras eventos de coinfección, que dan como resultado zoonosis porcinas ⁽²⁸⁾. Aunque se le reconoce al cerdo como el intermediario entre virus de influenza aviar y humana, se han encontrado receptores de tipo aviar en los pulmones de algunas personas, lo que permitiría una transmisión directa de ave a humano (zoonosis aviar), sin que ocurra una adaptación previa en el cerdo, tal y como ocurrió en el brote epidémico humano del virus de origen aviar A (H5N1) ^(29,30).

Sitio de corte de HA

El corte de HA en dos subunidades HA1 y HA2 por enzimas proteolíticas del hospedero, expone un dominio en el extremo amino terminal en HA2, denominado péptido de fusión, debido a que media la unión entre la envoltura del virus y la membrana endosomal del hospedero ⁽³⁴⁾. Esta activación proteolítica por parte del hospedero es esencial para la infección ⁽³⁵⁾ debido a que permite la liberación del contenido nucleoriboproteico del virus en la célula del hospedero ⁽²⁶⁾. La efectividad del corte de HA en H1 y H2, está determinado por la secuencia de aminoácidos en el sitio de reconocimiento, y por el corte de las proteasas que se encuentran disponibles en los tejidos del hospedero. Los virus de influenza aviar de baja patogenicidad, y los no aviares (a excepción de H7N7), poseen una sola arginina en el sitio de corte y son cortados

normalmente en órganos del sistema respiratorio y digestivo, en tanto que en virus aviares de alta patogenicidad, el sitio de corte posee una región de varios aminoácidos básicos que es reconocida por proteasas ubicuas, por lo que puede ser cortada en muchos órganos, facilitando así infecciones sistémicas ^(23, 36, 37, 38, 39). Por lo tanto, la adquisición del sitio de corte con varios aminoácidos básicos es un evento esencial para la conversión de un subtipo viral altamente infectivo. En el virus A (H1N1) de la actual pandemia el sitio de corte no contiene la región de varios aminoácidos básicos ⁽¹⁶⁾ que tampoco está presente en otras epidemias de influenza en humanos como la de 1918 (H1N1), la asiática de 1957 (H2N2), de Hong Kong en 1968 (H3N2) y la rusa de 1977 ⁽²⁰⁾.

La polimerasa básica 2 (PB2)

De las tres proteínas que forman el complejo de la polimerasa, la PB2 es la que controla el reconocimiento del RNA viral por el hospedero ⁽¹¹⁾. El aminoácido de la posición 627 de PB2 es determinante en la amplia diversidad del hospedero ⁽⁴⁰⁾. En virus aviares un ácido glutámico (Glu627) en esta posición, determina una replicación viral eficiente y su alta virulencia en aves, pero no así en células de mamífero ⁽⁴¹⁾. En virus humanos esa posición es ocupada por una lisina (Lys627) y la eficacia de la replicación fue estudiada y descrita en modelo murino ⁽⁴²⁾. El virus de la epidemia actual A (H1N1) contiene Glu627 que es típicamente de aves, posición ocupada por lisina en los virus humanos ^(8,16) lo cual indica que además de la posición 627, existen otros determinantes en el reconocimiento del hospedero para la PB2 ⁽⁸⁾.

• Origen del virus de influenza A (H1N1) S-OIV 2009

Después de que el cerdo interviene como el recipiente de mezclado en donde se generan nuevos arreglos que contienen segmentos de RNA de ave, cerdo y humano, se requiere de la

adaptación al hospedero humano para que ocurra una transmisión exitosa. Finalmente, si esto sucede, y la nueva combinación logra adaptarse al humano ^(43,44), la transmisión de humano a humano es posible y potencialmente puede darse el inicio de una epidemia.

Los primeros aislamientos de virus de influenza fueron de cerdo en 1930 ⁽⁴⁵⁾. Estos virus mostraron ser antigénicamente similares al virus reconstruido de la epidemia de influenza humana A (H1N1) de 1918, por lo que probablemente se originaron del mismo ancestro tiempo atrás ^(46,47). Aunque los virus H1N1 porcinos y humanos son todos en principio de origen aviar, cada uno evolucionó en sus respectivos hospederos dando origen a los linajes clásico porcino y a la influenza humana. La separación de estos linajes puede verse con la anulación de la protección cruzada de anticuerpos contra virus de este subtipo H1N1 de ave, cerdo y humano, así como en las reconstrucciones filogenéticas a partir de la comparación de secuencias de los segmentos del virus ^(8, 9).

Los arreglos en las poblaciones de cerdos en Norteamérica

Desde 1930 hasta los años noventa, la influenza porcina A (H1N1) permaneció genéticamente estable y a ese linaje se le ha llamado influenza porcina clásica ^(48, 49). Alrededor de 1998, el virus porcino clásico se re-arregló con el virus H3N2 de la influenza humana de 1968 y con un virus de origen aviar norteamericano de subtipo desconocido, resultando un linaje porcino con triple arreglo ave/cerdo/humano de H3N2 (rH3N2) que estuvo circulando por Estados Unidos de Norteamérica y Canadá ^(50, 51, 52). Poco después de la detección de rH3N2, otros re-arreglos ocurrieron entre rH3N2 y el virus porcino H1N1. De esa combinación surgieron los virus rH1N1 y rH1N2, que son los subtipos predominantes que circulan en las poblaciones de cerdos en Estados Unidos de Norteamérica y Canadá ^(49, 53). Estos virus

porcinos de triple arreglo norteamericanos también han sido detectados en poblaciones de cerdos de Asia ⁽⁵⁴⁾.

El casete TRIG

El linaje porcino de triple arreglo, tiene una característica común que lo define y es que conserva el origen de los genes que codifican para las seis proteínas internas: PB2 y PA de origen aviar; PB1 de origen humano; y M, NS y NP de origen porcino. A este grupo de genes se le llama casete de arreglo triple de genes internos (TRIG del inglés *triple reassortant internal genes*) ⁽⁴⁹⁾ (Figura 3-2). En las cepas de este linaje, el casete TRIG se conserva y sólo acepta cambios en los genes que codifican las proteínas de contacto externo con el hospedero que son la HA y NA. Desde la introducción del casete TRIG, se observó un incremento en la deriva antigénica de los virus de influenza porcina de subtipo H1 de Norteamérica. En 2003 y 2004, virus H1N1 y H1N2 con HA y NA tipo humano, se aislaron en Canadá ^(49, 55). Esto significa que los virus porcinos que contenían TRIG lo mantuvieron y sólo intercambiaron H1 con los de la influenza humana estacional, que son genética y antigénicamente distintos al porcino clásico. Esto demuestra que el cerdo se ha convertido en el reservorio de subtipos H1 intercambiables ⁽⁵⁶⁾.

Origen de los segmentos del virus de influenza A (H1N1) S-OIV

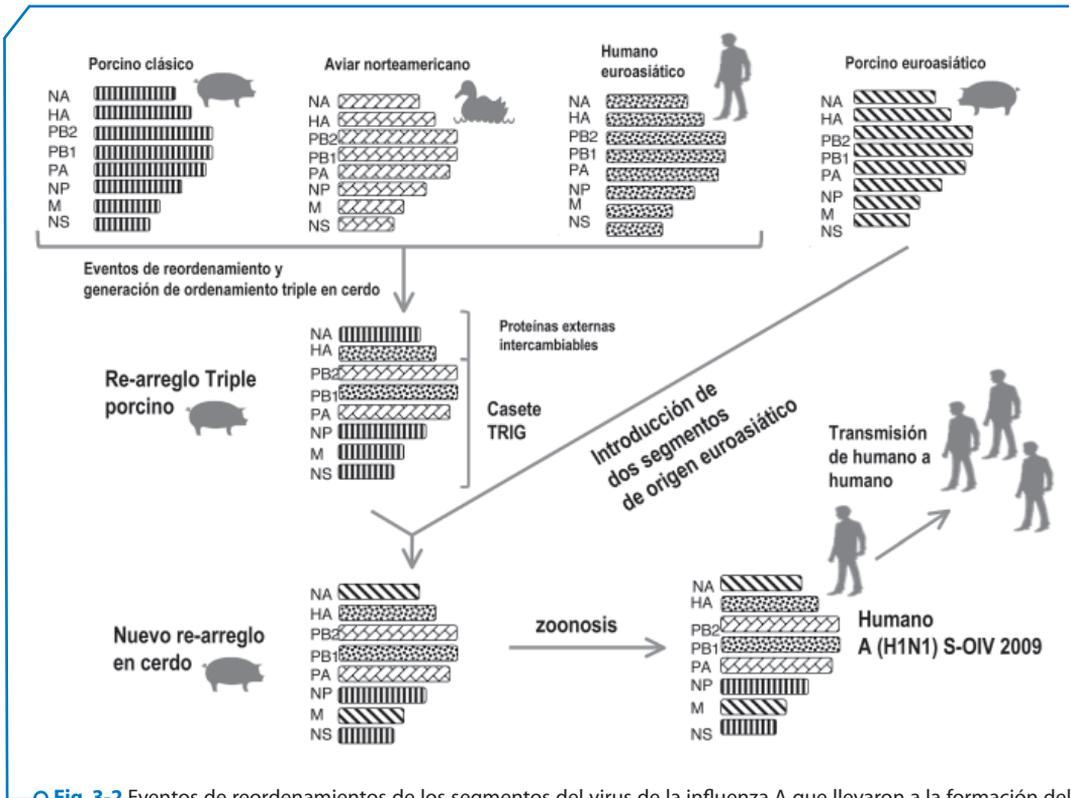
En décadas pasadas se han detectado zoonosis porcinas eventuales, ocasionadas por virus de los linajes porcino clásico y de arreglo triple ^(4, 57, 58). Estas infecciones ocasionaron enfermedad en los humanos y rara vez hospitalización y muerte, y el número de transmisiones de humano a humano fue limitado ⁽⁵⁷⁾. Sin embargo, en abril de 2009, un nuevo virus de influenza A (H1N1) de origen porcino (S-OIV del inglés *origin influenza virus*) fue detectado circulando entre humanos en Estados Unidos de Norteamérica y México ⁽⁵⁸⁾. Los análisis filogenéticos

con las secuencias de cada uno de sus segmentos mostraron que seis de ellos (PB2, PB1, PA, HA, NP, y NS) fueron similares a los de virus porcinos de triple arreglo y porcino clásico que circulan en las poblaciones de cerdos de Estados Unidos de Norteamérica, en tanto que, los dos restantes, NA y M, estaban cercanamente relacionados a los virus porcinos de Eurasia. Este rearreglo no había sido descrito con anterioridad en ninguna parte del mundo, por lo tanto se trataba de un nuevo virus proveniente de una zoonosis porcina, que en la actualidad ha sido el responsable de la primera pandemia de influenza A en humanos en el siglo XXI.

La diferencia más notable que muestra este nuevo virus con respecto a las zoonosis anteriores, es la introducción de dos segmentos de origen euroasiático, los segmentos 6 (NA) y 7 (M). El cambio de M (segmento 7) que es una de las proteínas internas, representa una violación de la conservación del casete TRIG que se había mantenido sin intercambio hasta la generación de este nuevo virus. La NA si es una de las proteínas externas intercambiables en los virus porcinos de triple arreglo. Los segmentos que portan los genes NA y M del linaje porcino euroasiático del que proceden los segmentos del nuevo virus, originalmente provenían de influenza aviar y se postula que entraron en las poblaciones de cerdos de Eurasia en 1979 ⁽⁵⁹⁾.

La construcción de árboles filogenéticos con la comparación de secuencias de cada uno de los ocho segmentos del virus con cepas representativas de los linajes de la influenza A, ha sido realizada por varios grupos de investigación para ubicar la posición de este nuevo virus y plantear hipótesis sobre cuál pudo haber sido su origen ^(8, 9, 16, 17).

Los segmentos de genes HA, NP y NS forman parte del linaje porcino clásico y se piensa que fueron introducidos a éste, por un ancestro



○ Fig. 3-2 Eventos de reordenamientos de los segmentos del virus de la influenza A que llevaron a la formación del linaje porcino de triple arreglo y posteriormente con su unión virus porcinos euroasiáticos para dar origen al nuevo linaje A (H1N1) 2009 S-OIV

-  Linaje porcino clásico
-  Linaje aviar norteamericano
-  Linaje humano
-  Linaje porcino euroasiático

del virus que originó la pandemia de 1918 y que circularon en los virus de influenza porcina clásica y porcina del arreglo triple. Los fragmentos de los genes PB2 y PA, también en principio fueron de origen aviar y entraron en los virus porcinos de Norteamérica en 1998, integrándose al virus porcino de arreglo triple^(52, 60). También de origen aviar, el segmento del gen PB1, fue introducido en humano en la epidemia de 1968 y posteriormente apareció en cerdos de

Norteamérica cuando surgieron los eventos de reordenamiento que iniciaron el linaje de virus porcino de triple arreglo. El resultado fue el arreglo que dio origen a la zoonosis generadora de la epidemia actual. En la [Figura 3-2](#) se resume la sucesión de eventos de reordenamiento de segmentos que pudo dar lugar a la zoonosis y a la generación del virus A (H1N1) S-OIV 2009 con base en lo postulado por varios autores^(8, 15, 16).

Las secuencias cercanas a los fragmentos del cambio, M y NA

Mediante la comparación de las secuencias de los segmentos M y NA es posible visualizar las cepas relacionadas con el virus de la epidemia A (H1N1) S-OIV 2009 que aportaron estos segmentos. En la **Figura 3-3**, se recrea la ubicación filogenética de los segmentos NA y M de A (H1N1) S-OIV, con base en las filogenias construidas por Garten y cols. 2009⁽⁶⁾. Resaltan las secuencias más parecidas por análisis BLAST, así como las zoonosis porcinas más cercanas⁽⁶⁾. Las filogenias construidas con el segmento M muestran emparentado al virus A (H1N1) S-OIV con la secuencia A/Hong Kong/1774/1999_H3N2 aislada de un caso de zoonosis porcina en Hong Kong. En otro caso de zoonosis porcina en Tailandia, la cepa A/Thailand/271/2005_H1N1 contiene genes de los linajes de influenza porcina norteamericana y euroasiática, y su segmento NA es el más cercano a A (H1N1) 2009 S-OIV. La secuencia más cercana para este segmento, es la secuencia A/Swine/England/WVL7/1992_H1N1 que fue aislada de cerdo en Gran Bretaña. Sin embargo, aunque segmentos del virus de la epidemia actual están relacionados con estas cepas, probablemente, sus parientes más cercanos, nunca fueron aislados y documentados. Tomando en cuenta la velocidad con que estos virus evolucionan, y en vista del tiempo de divergencia que ha transcurrido desde el aislamiento del precursor más reciente conocido, es posible que falten por muestrear algunas variantes virales precursoras⁽⁸⁾.

Estas evidencias indican que el escenario en donde sucedió el reordenamiento de segmentos para el nuevo arreglo pudo haber ocurrido tanto en América como en Eurasia.

Dada la alta similitud entre las secuencias analizadas, tanto en Estados Unidos de Norteamérica como en México (99%), y el breve tiempo transcurrido desde que se obtuvieron

los primeros aislados del virus A (H1N1) 2009 S-OIV, no es clara la definición de dos o más linajes entre los casos de ambas poblaciones y por lo tanto, difícilmente se puede ubicar su origen en uno u otro país.

Tanto NA como M, que son los segmentos del cambio en el nuevo virus, se utilizan como blanco en los tratamientos antivirales. Las secuencias de M de la actual epidemia, presentan una asparagina en lugar de una serina en la posición 31 (Ser31Asn)⁽⁸⁾. Esta mutación confiere a este nuevo virus resistencia a adamantanos (amantadina y rimantadina), que son agentes bloqueadores de M2. La proteína M2 es un canal de iones que participa en la liberación de las ribonucleoproteínas virales dentro del citoplasma celular. La resistencia a adamantanos es una característica de los virus porcinos euroasiáticos que ha sido heredada al virus de la epidemia actual^(8,16). La NA interviene en la liberación de los viriones hacia el exterior de célula hospedera. Los ensayos de inhibición de la actividad de NA, indican que se conservó la condición de susceptibilidad a los inhibidores oseltamivir (Tamiflu[®]) y zanamivir (Relenza[®])^(16,15).

• Conclusión

La epidemia de influenza A (H1N1) S-OIV que alcanzó el nivel de pandemia declarada el 6 de junio de 2009 (OMS), es un virus que infecta al humano y que proviene de una zoonosis porcina. Los análisis filogenéticos indican que la hemaglutinina (HA) de este nuevo virus es genéticamente divergente del linaje humano, pero tiene la capacidad de ser reconocido por este hospedero. Este virus probablemente se originó como resultado de un rearrreglo de virus porcino A (H1N1) americano de triple arreglo, que ha incorporado dos segmentos de origen euroasiático, M y NA. El segmento M, ha violado la conservación del casete TRIG que se venía manteniendo en los virus porcinos de triple arreglo

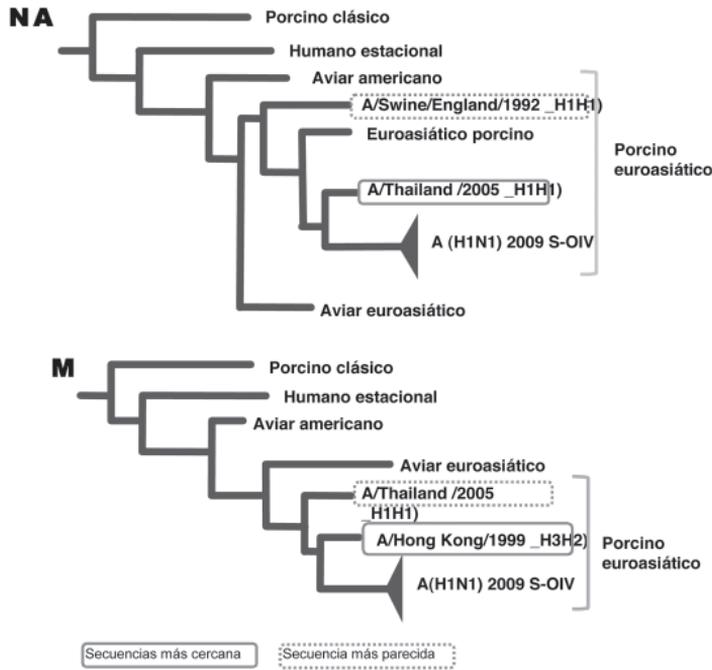


Fig. 3-3 Esquema representativo adaptado de las filogenias originales de Garten y cols. sobre de la ubicación filogenética que ocupan las secuencias nucleotídicas de los segmentos de la neuraminidasa (NA) y la proteína M del nuevo linaje A (H1N1) S-OIV 2009. La secuencia más cercana se indica con cuadro de línea continua, y la más parecida con cuadro de línea punteada.

(rH1N1) en las poblaciones de cerdos de Estados Unidos de Norteamérica. La circulación de un virus de origen porcino entre humanos con una HA divergente, debe ser activamente monitoreada y estudiada tanto por autoridades de Salud Pública como por la comunidad científica alrededor del mundo, con la finalidad de seleccionar a nuevos candidatos de vacunas y para desarrollar agentes antivirales más efectivos.

• Agradecimiento

Agradecemos a la Subsecretaría de Desarrollo Institucional dentro del Macroproyecto 10 SDEI. PTID.05.4, de la Universidad Nacional Autónoma de México, por el financiamiento para la realización de este capítulo.

• Bibliografía

1. Cox NJ, Fuller F, Kaverin N, Klenk HD, Lamb RA, Mahy W, et al. Virus taxonomy: seventh report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. San Diego, California. Academic Press, 2000; 585-597.
2. Guo YJ, Jin FG, Wang P, Wang M, Zhu JM. Isolation of influenza C virus from pigs and experimental infection of pigs with influenza C virus. J Gen Virol 1983; 64:177-182.
3. Osterhaus AD, Rimmelzwaan GF, Martina BE, Bestebroer TM, Fouchier RA. Influenza B virus in seals. Science 2000; 288:1051-1053.
4. Webster RG, Bean WJ, Gorman OT, Chambers TM, Kawaoka Y. Evolution and ecology of influenza A viruses. Microbiol Rev 1992; 56:152-179.
5. Inkster MD, Hinshaw VS, Schulze IT. The hemagglutinins of duck and human H1 influenza viruses differ in sequence conservation and in

- glycosylation. *J Virol* 1993; 67:7436-7443.
6. 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; 217:508-516.
 7. Fouchier RA, Munster V, Wallensten A, Bestebroer TM, Herfst S, Smith D, et al. Characterization of a novel influenza A virus hemagglutinin subtype (H16) obtained from black-headed gulls. *J Virol* 2005; 79:2814-2822.
 8. Garten RJ, Davis CT, Russell CA, Shu B, Lindstrom S, Balish A, et al. Antigenic and genetic characteristics of swine-origin 2009 A(H1N1) influenza viruses circulating in humans. *Science* 2009 10; 325:197-201.
 9. Gatherer D. The 2009 H1N1 influenza outbreak in its historical context. *J Clin Virol* 2009; 45:174-178.
 10. Steinhauer DA, Skehel JJ. Genetics of influenza viruses. *Annu Rev Genet* 2002; 36:305-332.
 11. Lamb RA, Klug RM. In: *Fundamental virology*. 3rd edition. Philadelphia: Lippincott-Raven, 2006; 605-647.
 12. Rabadan R, Robins H. Evolution of the influenza A virus: some new advances. *Evol Bioinform Online* 2007; 3:299-307.
 13. Hanada K, Suzuki Y, Gojbori T. A large variation in the rates of synonymous substitution for RNA viruses and its relationship to a diversity of viral infection and transmission modes. *Mol Biol Evol* 2004; 21:1074-1080.
 14. Jenkins GM, Rambaut A, Pybus OG, Holmes EC. Rates of molecular evolution in RNA viruses: a quantitative phylogenetic analysis. *J Mol Evol* 2002; 54:156-165.
 15. Chang LY, Shih SR, Shao PL, Huang DT, Huang LM. Novel swine-origin influenza virus A (H1N1): the first pandemic of the 21st century. *J Formos Med Assoc* 2009; 108:526-532.
 16. Neumann G, Noda T, Kawaoka Y. Emergence and pandemic potential of swine-origin H1N1 influenza virus. *Nature* 2009; 459:931-939.
 17. Smith GJ, Bahl J, Vijaykrishna D, Zhang J, Poon LL, Chen H, et al. Dating the emergence of pandemic influenza viruses. *Proc Natl Acad Sci USA* 2009; 106:11709-11712.
 18. Fitch WM, Leiter JM, Li XQ, Palese P. Positive Darwinian evolution in human influenza A viruses. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991; 88:4270-4274.
 19. Suzuki Y. Natural selection on the influenza virus genome. *Mol Biol Evol* 2006; 23:1902-1911.
 20. Horimoto T, Kawaoka Y. Influenza: lessons from past pandemics, warnings from current incidents. *Nat Rev Microbiol* 2005; 3:591-600.
 21. Rogers GN, D' Souza BL. Receptor binding properties of human and animal H1 influenza virus isolates. *Virology* 1989; 173:317-322.
 22. Connor RJ, Kawaoka Y, Webster RG, Paulson JC. Receptor specificity in human, avian, and equine H2 and H3 influenza virus isolates. *Virology* 1994; 205:17-23.
 23. Kawaoka Y, Webster RG. Sequence requirements for cleavage activation of influenza virus hemagglutinin expressed in mammalian cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 1988; 85:324-328.
 24. 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.
 25. Ito T, Kawaoka Y. Host-range barrier of influenza A viruses. *Vet Microbiol* 2000; 74:71-75.
 26. Skehel JJ, Wiley DC. Receptor binding and membrane fusion in virus entry: the influenza hemagglutinin. *Annu Rev Biochem* 2000; 69:531-569.
 27. Ito T, Couceiro JN, Kelm S, Baum LG, Krauss S, Castrucci MR, et al. Molecular basis for the generation in pigs of influenza A viruses with pandemic potential. *J Virol* 1998; 72:7367-7373.
 28. Scholtissek C, Bürger H, Kistner O, Shortridge KF. The nucleoprotein as a possible major factor in determining host specificity of influenza H3N2 viruses. *Virology* 1985; 147:287-294.
 29. Shinya K, Ebina M, Yamada S, Ono M, Kasai N, Kawaoka Y. Avian flu: influenza virus receptors in the human airway. *Nature* 2006; 440:435-436.
 30. Gambotto A, Barratt-Boyes SM, de Jong MD, Neumann G, Kawaoka Y. Human infection with highly pathogenic H5N1 influenza virus. *Lancet* 2008; 371:1464-1475.
 31. Stevens J, Corper AL, Basler CF, Taubenberger JK, Palese P, Wilson IA. Structure of the uncleaved human H1 hemagglutinin from the extinct 1918 influenza virus. *Science* 2004; 303:1866-1870.
 32. Matrosovich M, Tuzikov A, Bovin N, Gambaryan A, Klimov A, Castrucci MR, et al. Early alterations of the receptor-binding properties of H1, H2, and H3 avian influenza virus hemagglutinins after their introduction into mammals. *J Virol* 2000; 74:8502-8512.
 33. Stevens J, Blixt O, Tumpey TM, Taubenberger JK, Paulson JC, Wilson IA. Structure and receptor specificity of the hemagglutinin from an H5N1 influenza virus. *Science* 2006; 312:404-410.
 34. White J, Kartenbeck J, Helenius A. Membrane fusion activity of influenza virus. *EMBO J* 1982; 1:217-222.
 35. Klenk HD, Rott R, Orlich M, Blödorn J. Activation of influenza A viruses by trypsin treatment. *Virology* 1975; 68:426-439.
 36. Stieneke-Gröber A, Vey M, Anglikler H, Shaw E, Thomas G, Roberts C, et al. Influenza virus hemagglutinin with multibasic cleavage site is activated by furin, a subtilisin-like endoprotease. *EMBO J* 1992; 11:2407-2414.

37. Horimoto T, Nakayama K, Smeekens SP, Kawaoka Y. Proprotein-processing endoproteases PC6 and furin both activate hemagglutinin of virulent avian influenza viruses. *J Virol* 1994; 68:6074-6078.
38. Kobayashi Y, Horimoto T, Kawaoka Y, Alexander DJ, Itakura C. Pathological studies of chickens experimentally infected with two highly pathogenic avian influenza viruses. *Avian Pathol* 1996; 25:285-304.
39. Murakami M, Towatari T, Ohuchi M, Shiota M, Akao M, Okumura Y, et al. Mini-plasmin found in the epithelial cells of bronchioles triggers infection by broad-spectrum influenza A viruses and Sendai virus. *Eur J Biochem* 2001; 268:2847-2855.
40. Subbarao EK, London W, Murphy BR. A single amino acid in the PB2 gene of influenza A virus is a determinant of host range. *J Virol* 1993; 67:1761-1764.
41. Clements ML, Subbarao EK, Fries LF, Karron RA, London WT, Murphy BR. Use of single-gene reassortant viruses to study the role of avian influenza A virus genes in attenuation of wild-type human influenza A virus for squirrel, monkeys and adult human volunteers. *J Clin Microbiol* 1992; 30:655-662.
42. Hatta M, Gao P, Halfmann P, Kawaoka Y. Molecular basis for high virulence of Hong Kong H5N1 influenza A viruses. *Science* 2001; 293:1840-1842.
43. Scholtissek C, Ludwig S, Fitch WM. Analysis of influenza A virus nucleoproteins for the assessment of molecular genetic mechanisms leading to new phylogenetic virus lineages. *Arch Virol* 1993; 131:237-250.
44. Lipatov AS, Govorkova EA, Webby RJ, Ozaki H, Peiris M, Guan Y, et al. Influenza: emergence and control. *J Virol* 2004; 78:8951-8959.
45. Shope RE. Swine influenza III. Filtration experiments and etiology. *J Exp Med* 1931; 54: 373-385.
46. Reid AH, Taubenberger JK. The origin of the 1918 pandemic influenza virus: a continuing enigma. *J Gen Virol* 2003; 84:2285-2292.
47. Tumpey TM, García-Sastre A, Taubenberger JK, Palese P, Swayne DE, Basler CF. Pathogenicity and immunogenicity of influenza viruses with genes from the 1918 pandemic virus. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004; 101:3166-3171.
48. Sheerar MG, Easterday BC, Hinshaw VS. Antigenic conservation of H1N1 swine influenza viruses. *J Gen Virol* 1989; 70:3297-3303.
49. Vincent AL, Lager KM, Ma W, Lekcharoensuk P, Gramer MR, Loiacono C, et al. Evaluation of hemagglutinin subtype 1 swine influenza viruses from the United States. *Vet Microbiol* 2006; 118:212-222.
50. Karasin AI, Schutten MM, Cooper LA, Smith CB, Subbarao K, Anderson GA, et al. Genetic characterization of H3N2 influenza viruses isolated from pigs in North America. 1977-1999: evidence for wholly human and reassortant virus genotypes. *Virus Res* 2000; 68:71-85.
51. Webby RJ, Swenson SL, Krauss SL, Gerrish PJ, Goyal SM, Webster RG. Evolution of swine H3N2 influenza viruses in the United States. *J Virol* 2000; 74:8243-8251.
52. Zhou NN, Senne DA, Landgraf JS, Swenson SL, Erickson G, Rossow K, et al. Genetic reassortment of avian, swine, and human influenza A viruses in American pigs. *J Virol* 1999; 73:8851-8856.
53. Vincent AL, Swenson SL, Lager KM, Gauger PC, Loiacono C, Zhang Y. Characterization of an influenza A virus isolated from pigs during an outbreak of respiratory disease in swine and people during a county fair in the United States. *Vet Microbiol* 2009; 137:51-59.
54. Lee CS, Kang BK, Kim HK, Park SJ, Park BK, Jung K, et al. Phylogenetic analysis of swine influenza viruses recently isolated in Korea. *Virus Genes* 2008; 37:168-176.
55. Karasin AI, Carman S, Olsen CW. Identification of human H1N2 and human-swine reassortant H1N2 and H1N1 influenza A viruses among pigs in Ontario, Canada (2003 to 2005). *J Clin Microbiol* 2006; 44:1123-1126.
56. Ma W, Vincent AL, Gramer MR, Brockwell CB, Lager KM, Janke BH, et al. Identification of H2N3 influenza A viruses from swine in the United States. *Proc Natl Acad Sci USA* 2007; 104:20949-20954.
57. Shinde V, Bridges CB, Uyeki TM, Shu B, Balish A, Xu X et al. Triple-reassortant swine influenza A (H1) in humans in the United States, 2005-2009. *N Engl J Med* 2009; 360:2616-2625.
58. Dawood FS, Jain S, Finelli L, Shaw MW, Lindstrom S, Garten RJ, et al. Emergence of a novel swine-origin influenza A (H1N1) virus in humans. *N Engl J Med* 2009; 360:2605-2615.
59. Pensaert M, Ottis K, Vandeputte J, Kaplan MM, Bachmann PA. Evidence for the natural transmission of influenza A virus from wild ducks to swine and its potential importance for man. *Bull World Health Organ* 1981; 59:75-78.
60. Olsen CW. The emergence of novel swine influenza viruses in North America. *Virus Res* 2002; 85:199-210.