

An. R. Acad. Nac. Farm., 2009, 75 (2): 233-254

SESIONES

El virus de la gripe aviar: nuevos aspectos relativos a su patogenicidad y a estrategias para combatirlo

José Antonio Cabezas Fernández del Campo*

Académico de Número de la Real Academia Nacional de Farmacia.
Catedrático Emérito de la Universidad de Salamanca.
Recibido el 19 de noviembre de 2008.

RESUMEN

Reconstruido por ingeniería genética el virus que causó la terrible pandemia de gripe de 1918-19 y comprobada su capacidad de infección, se ha deducido que la gran patogenicidad del mismo puede deberse a una desregulación de los mecanismos inmunitarios que ejercen normalmente citocinas de las células hospedadoras.

Asimismo, el subtipo H5N1 del virus de la gripe aviar, por una desregulación análoga, posee una patogenicidad que es aún mayor que la del subtipo de virus de la gripe de 1918-19.

Intentos para prevenir los riesgos (leves, moderados o muy graves) de la esperada pandemia que produciría en humanos el subtipo H5N1 —u otros subtipos peligrosos que puedan surgir— se están efectuando con la preparación de nuevas vacunas, así como mediante la interrupción del ciclo biológico del virus con inhibidores de la enzima vírica neuraminidasa (= sialidasa), tales como el oseltamivir y el zanamivir, o con diversos agentes que bloquean el funcionamiento de otros componentes de dicho virus.

Últimamente, se está analizando si es o no conveniente tratar de reforzar estas medidas con el uso de moduladores de ciertas citoci-

nas, tales como algunas estatinas u otros compuestos de acción e índole varias, cuyo reducido coste —por pertenecer al grupo de los «genéricos»— constituye un aliciente adicional.

Palabras clave: Gripe aviar; Influenza aviar; Patogenicidad; Citoquinas; Estatinas; Gripe 1918-19; Vacunas anti-gripe aviar.

ABSTRACT

Avian influenza virus: new features related to its pathogenicity and strategies for fighting against it

Since Taubenberger's team recreated each of the genes of influenza virus that caused the terrible pandemic of 1918-19 using the technique called reverse genetics and checked the infectious capacity of the newborn virus, it seems that its high pathogenicity may be due to disregulation of the innate immune mechanisms normally performed by the cytokines of host cell.

Furthermore, the H5N1 subtype of avian influenza, which also causes a similar dysfunction, has higher pathogenicity than that of 1918-19 influenza virus.

Assays to prevent the mild, moderate or severe risks of an eventual future pandemic affecting humans caused by the H5N1 subtype are now being carried out by preparing new vaccines and neuraminidase (= sialidase) inhibitors such as oseltamivir and zanamivir, as well as other agents that block the function of several components of the virus.

Recently, has been debated whether it would be convenient to use modulators of the immune system, such as statins, against the secondary effects of the viral infection caused by the disregulation mechanisms of cytokines, to reinforce the above therapeutic measures. The low cost of statins offers additional justification for their use.

Key words: Avian flu; Avian influenza virus; Pathogenicity; Cytokines; Statins; 1918-1919 influenza pandemic; «Spanish flu»; Vaccines against avian flu.

1. INTRODUCCIÓN

En relación con el virus de la gripe y los posibles remedios en la lucha contra él, trabajos de investigación y revisiones del autor (publicados en gran parte por esta Real Academia y algunos de ellos resumidos en la página web www.ranf.com de la misma) se han referido a aspectos tales como: la gripe de 1918 (1, 2), la actividad neuraminidásica (= sialidásica) de cepas pertenecientes a los subtipos víricos A y B y la esterásica del subtipo C (2), la situación de la población mundial respecto a esta patología en la primavera de 2006 (3), las características químicas y funcionales de ciertos agentes antigripales (4, 5), y el mecanismo de acción de los inhibidores de la neuraminidasa denominados *zanamivir* y *oseltamivir* (que son los únicos fármacos reconocidos actualmente como útiles para esta lucha) (6). Datos sobre la composición de este virus pueden hallarse en los trabajos de las referencias 1, 4, 5, y 7, especialmente.

Aun cuando el virus de la gripe es, desde hace años, uno de los más investigados, quedan numerosos e importantes aspectos relativos al mismo por esclarecer. Entre ellos los siguientes:

1.º) ¿Por qué fue tan mortífera la pandemia impropriamente llamada de gripe española (7), ocurrida en 1918-19 (que es como debe denominarse)?

2.º) Dada la similitud entre las características del virus de la gripe de 1918-19 y el de la gripe aviar, según se ha averiguado últimamente, ¿existe en la actualidad peligro de que una futura pandemia de origen aviar pudiera provocar un gran número de muertes entre los humanos?

3.º) ¿Se dispone actualmente de remedios (fármacos preventivos/curativos) para luchar contra este muy probable riesgo?

Seguidamente se resumen algunos datos concernientes a estos puntos, sobre todo los relativos a los años 2006, 2007 y 2008, ya que los de los años precedentes pueden hallarse en las publicaciones indicadas en la bibliografía (1-7).

2. TRANSMISIÓN DE LA GRIPE AVIAR DE ANIMALES A HUMANOS Y ENTRE HUMANOS

Se ha confirmado que esta transmisión entre animales y seres humanos puede tener lugar según las dos modalidades siguientes:

- a) Por reorganización (reagrupación, reagrupamiento) (= *reassortment*) de segmentos de genes procedentes de especies distintas, saltando, por ejemplo, de aves a seres humanos, y adquiriendo la posibilidad de propagarse en éstos.
- b) Por adaptación, mutando el virus aviar, y evolucionando. Así se propagaría entre los humanos.

Lógicamente, cuanto mayor sea el contacto entre aves infectadas y humanos (por hábitos tradicionales de cría y transporte, como ocurre especialmente en el SE asiático, etc.) mayor será el riesgo de contagio.

Análisis del genoma del virus de la gripe aviar H5N1 y de otros subtipos, intensificados a partir del año 2006, que han determinado la secuencia de los genes de los componentes víricos hemaglutinina (HA), sialidasa = neuraminidasa (NA), nucleoproteína (NP), polimerasa ácida (PA) y polimerasa básica 2 (PB2) (8), y otros estudios relacionados (9), han señalado la emergencia de variantes (10) o sublinajes (11, 12) de este virus en Asia, sugiriendo que «la transmisión entre pollos es el mecanismo mayor de mantenimiento del endemismo del H5N1 en dicha región» (11), además del provocado por «transmisión a largas distancias por aves migratorias» (11). Añádase a éstas una tercera modalidad de transmisión —aunque de menos importancia que las dos anteriores— representada por el transporte —frecuentemente ilegal— de aves exóticas (no siempre controladas sanitariamente) procedentes de lugares remotos.

En cuanto a la transmisión del subtipo H5N1 de un ser humano a otro, aceptada con dudas inicialmente, parece haberse confirmado en casos como los de la Tabla I, como mínimo.

Las fases del proceso para llegar a producirse una pandemia se estima son las siguientes:

- 1.^a) Virus en las aves migratorias.
- 2.^a) Virus en las aves de corral y granja.

- 3.^a) Virus en personas (por contagio con aves), con posibilidad de contagio persona-persona.
- 4.^a) Virus transmitidos de persona-persona con facilidad, pero en zonas limitadas.
- 5.^a) Virus propagados por diferentes ciudades.
- 6.^a) Virus propagados por todo el mundo.

A la vista de los datos aquí indicados, se deduce que se ha llegado ya a la fase 3.^a de este proceso.

Tabla I. **Transmisión del subtipo H5N1 de humano a humano, con fallecimiento**

Caso n.º	País	Transmisión	Ave	Trat.º	Fallec.º	Referencia
1	Vietnam	Herm.º-herm. ^a	Pato	No	Ambos	Lancet 363: 462 (2004)
2	Tailandia	Madre-hija	Pollos	No	Ambas	N. Eng. 352: 334 (2005)
3	Indonesia	Familiares	Pollos	No	7 de 8	Nature 442: 114 (2006)
4	China	Hijo-padre	Aves merc.º	Sí	Hijo	Lancet 12/04/(2008)
5	Pakistán	Herm. ^a -herm.º	¿?	¿?	¿?	OMS (2008)

3. ANTECEDENTES HISTÓRICOS DEL SUBTIPO H5N1 DE LA GRIPE

- Este virus fue conocido por primera vez en el año 1959 en pollos en Escocia (Reino Unido), causando sólo leves síntomas de enfermedad en las aves.
- En 1996 ya había mutado, ocasionando la muerte rápida de pollos en el sureste asiático.
- En 1997, además de en pollos, de las 18 personas afectadas por él, seis murieron en Hong Kong.
- De nuevo reapareció en Hong Kong, en 2003; y se extendió por Vietnam y Tailandia.

- Desde entonces, en años sucesivos, se ha detectado en otros países asiáticos, en numerosos países europeos, y, desde 2006, en Nigeria y algunos otros africanos, en número superior a 18 países en total (tanto en aves migratorias como de corral y granja, además de en mamíferos: cerdos, gatos, tigres, leopardos, etc.).
- Particularmente grave para los patos del lago Qinghai (China) fue el brote de la primavera de 2005, que causó la muerte de 6.000 ejemplares (se sospecha que hayan podido influir en este desenlace algunos intentos de domesticación de estos patos silvestres o el contacto de los mismos con otras aves enfermas).

4. FACTORES QUE DETERMINAN PATOGENICIDAD POR EL SUBTIPO H5N1 DEL VIRUS DE LA GRIPE

Hacia 2005 se habían determinado los siguientes factores en relación con:

- **HEMAGLUTININA (HA):** La elevada proporción de aminoácidos básicos (como la arginina y la lisina), que favorecen la actividad de las proteasas celulares. Estas enzimas realizan la escisión de la molécula de la hemaglutinina, siendo dicha etapa indispensable para la fusión del virus con la membrana de la célula hospedadora y la penetración de aquél en la célula.
- **NEURAMINIDASA (NA) = SIALIDASA:** Cambios estructurales en esta glicoproteína, ocasionados por la pérdida de una veintena de aminoácidos de la misma (por delección).
- **PROTEÍNA NO ESTRUCTURAL (NS):** Delección en alguno de sus genes.
- **POLIMERASA BÁSICA 2 (PB2):** Peculiaridades correspondientes al gen de este componente del virus.

5. RELACIÓN DE CIERTOS COMPONENTES DEL VIRUS DE LA GRIPE DE 1918-19 Y LA AVIAR CON SU RESPECTIVA PATOGENICIDAD

La reciente reconstrucción completa, mediante ingeniería genética, del virus causante de la pandemia de 1918-19 ha permitido deducir que la MUTACIÓN en el complejo de la POLIMERASA es uno de los cambios genéticos que originaron dicha pandemia (13).

A su vez, la «PROTEÍNA NO ESTRUCTURAL NS1 puede ser muy importante para la virulencia de los virus de gripe aviar cuando éstos son introducidos en los seres humanos» (14). Y se ha confirmado: «La PROTEÍNA NS1 del virus A de la gripe es un factor importante de virulencia que es esencial para la patogénesis» (15).

Ahora bien, «la virulencia del virus de la gripe es una característica multigénica. Un determinante de la virulencia es la PROTEÍNA multifuncional NS1, la cual funciona de diversos modos para vencer la respuesta celular inmune (16) (véase más adelante el importante aspecto de la inmunidad alterada).

Pero «los genes de la HEMAGLUTININA, de la NEURAMINIDASA y de la POLIMERASA [...] también contribuyen a la virulencia» (17).

Últimamente se ha señalado que la PROTEÍNA «PB1-F2 del virus de la gripe de 1918 aumenta la patogénesis de la neumonía viral y bacteriana secundarias» (actualmente se conoce que esta neumonía tuvo gran importancia en la enorme mortalidad de aquella pandemia) (18).

De todo ello es responsable una mutación que determina la sustitución de un aminoácido en la PB1-F2 del virus H5N1 (19).

Recientemente se ha confirmado el papel crítico de la PB1, la HEMAGLUTININA y la NEURAMINIDASA en la alta virulencia del virus de la pandemia de gripe de 1918.

Por otro lado, la decisiva influencia de la PROTEÍNA de membrana M2 del virus de la gripe tipo A en la activación de su HEMAGLUTININA (al actuar como conducto de protones para la función de la hemaglutinina) ha sido últimamente revisada y comprobada (21, 22).

Asimismo, se estima que «el estudio de la virulencia del virus de la gripe de 1918 requiere el uso del virus completamente reconstruido», no sólo el de algunos de sus componentes (23).

6. RESPUESTA INMUNE ABERRANTE: CITOCINAS

Recuérdese que las citocinas —inicialmente llamadas interleucinas (IL) al creerse que su producción era exclusiva de los leucocitos— son proteínas o glicoproteínas, de muy diversa composición y generalmente de bajo tamaño molecular, dotadas de gran complejidad en su función, que median y regulan la respuesta inmune (entre otras importantes actividades), produciendo efectos en ocasiones aditivos, o sinérgicos, o incluso antagónicos si actúan simultáneamente varias de ellas.

Para los fines del presente estudio, hay que destacar las actividades de la interleucina 1 α (IL-1 α) y la IL-6 (producidas por macrófagos), así como la del factor de necrosis tumoral α (TNF- α), que son agentes implicados en la respuesta inflamatoria. La producción de IL-1 α e IL-6 es inhibida por la IL-4, la IL-10 y los glucocorticoides. El TNF- α , a concentraciones elevadas, al inducir prostaglandina I₂, puede ocasionar efectos mortales, por provocar hipotensión y favorecer la trombosis.

Las quimiocinas estimulan la migración de leucocitos hacia el sitio de la inflamación.

Los interferones, como el de tipo 1 (que son también citocinas) aumentan la variedad de mecanismos inmunes vinculados con las relaciones virus-hospedador.

Otra familia de compuestos con funciones relacionadas con los procesos de inflamación (además de otras) es la de los eicosanoides, derivados del ácido araquidónico. A ella pertenecen los tromboxanos, los leucotrienos, las lipoxinas y las mencionadas prostaglandinas. Éstas pueden estimular la inflamación, siendo bloqueadas por la aspirina (que actúa inhibiendo la ciclo-oxigenasa).

«Ahondando más profundamente en el misterio de la gripe de 1918, [se ha deducido que] el mayor daño puede no haber sido

hecho por el virus mismo, sino por un sistema inmune excesivamente reactivo» (24).

Se ha señalado en 2007 que el virus de la gripe de 1918 produce en macacos una respuesta inmune aberrante, a causa de la infección letal. «La capacidad de los virus de la gripe para modular las respuestas inmunes del hospedador, como la demostrada para los virus de influenza aviar H5N1, puede ser un aspecto compartido por los virus de la gripe virulentos» (25).

«H5N1 y el virus de 1918 comparten una proclividad por los pulmones, pero el H5N1 no se detiene ahí. [...] Lo que se inicia como una infección respiratoria puede llegar a ser una infección de todo el cuerpo. Los investigadores se han sorprendido al hallar que el virus de 1918, con toda su furia, no mutó para destruir otros órganos. Esto hace pensar que el H5N1 puede ser 10 veces más letal que el virus que ocasionó la mayor tragedia de la historia de la Humanidad» (26).

«Si una pandemia como la de 1918 ocurriera hoy —[se escribió en el año 2006]—, mataría a 175-350 millones de personas en el mundo. [...] Podemos estar seguros de que [una pandemia leve, moderada o grave] ocurrirá, tardando más o menos» (27).

«Experimentos de laboratorio sugieren que la desregulación por citocinas inducida por el virus puede contribuir a la gravedad de la enfermedad» (28). Estudios hechos con 18 personas infectadas con virus H5N1 mostraron altos niveles sanguíneos de citocinas y quimiocinas. Asimismo, «la elevada carga vírica y la intensa respuesta inflamatoria son de la mayor importancia para la patogénesis de la gripe por H5N1» (28).

Por otro lado, considerando que las citocinas «participan en la patogénesis y en las complicaciones neurológicas asociadas con la gripe», se determinaron en 27 niños con infección comprobada de gripe y que mostraban complicaciones neurológicas (algunos con delirio, etc.) los niveles séricos de las citocinas IL-6 y TNF- α . Se averiguó que ambos (y algunos otros) valores se hallaban incrementados respecto a los normales (29).

Los trabajos de las referencias 25-29 (entre otros) han venido a confirmar lo considerado sólo como hipótesis todavía en el año 2002 (30), aunque ésta ya fuera respaldada en 2004 (31), acerca del

importante papel ejercido por el virus H5N1 desregulando el mecanismo de acción de las citocinas y ocasionando así una grave patogenicidad.

Frente al riesgo de una futura pandemia de gripe, es imprescindible, entre otras medidas (3), contar con técnicas para un diagnóstico rápido y seguro relativo a las características del virus, para su tipificación precisa (6), así como disponer de agentes antivirales (oseltamivir, zanamivir). La composición, mecanismo de acción y posología de éstos han sido descritos detalladamente (6).

Acerca de vacunas destinadas a prevenir tal pandemia, se han producido avances muy notables, especialmente a partir del año 2006, según se resume a continuación, no sólo utilizando las técnicas tradicionales, que han servido de base para algunas modalidades, sino también estrategias novedosas.



La pandemia de la gripe de 1918-19 (injustamente denominada por algunos «gripe española») causó la muerte de probablemente más de 50 millones de personas, provocando escenas de pánico que recuerdan a las que evocó BRUEGHEL en su famoso cuadro titulado *El triunfo de la muerte*, pintado hacia 1560 (que se custodia en el madrileño Museo del Prado), al reflejar escenas correspondientes a la terrible epidemia de peste del año 1348. «Killed 50 million people - and it could happen again» (Nature / Vol. 429 / 27 May 2004).

7. FABRICACIÓN DE VACUNAS CONTRA LA GRIPE. Por:

— **Técnicas *tradicionales*:**

- Con virus atenuados (debilitados por pases a temperaturas bajas).
- Con virus atenuados (de escaso poder patógeno y de rápido crecimiento), mezclados con otros conteniendo los antígenos de cepas más recientes, lográndose así un reagrupamiento adecuado de genes.
- Con virus inactivados, mediante formaldehído o propionlactona, y sometidos a tratamiento de extracción de sus lípidos de la envoltura por eter, cloroformo, detergentes, etc., lo que ocasiona su *fragmentación o fraccionamiento*.

— **Técnicas *relacionadas con la Biología Molecular*:**

- Por manipulación genética (genética inversa o reversión génica), que consiste esencialmente en convertir el genoma vírico de ARN en ADN, y manipularlo para eliminar los genes que se consideran causantes de la patogenicidad; después se reconvierte al ADN en ARN, para la producción de la vacuna.
- Por clonación de los genes responsables de la producción de antígenos (introducidos mediante un microorganismo como vector): vacunas recombinantes.
- Vacunas de ADN «desnudo»: Inoculando en las células del receptor los genes que determinan que se exprese el antígeno deseado.

— **Técnicas *por síntesis química*** (generalmente de los péptidos que producen la respuesta inmune).

8. PREPARACIÓN DE DISTINTAS CLASES DE VACUNAS Y OTRAS ESTRATEGIAS CONTRA EL SUBTIPO DE VIRUS DE GRIPE H5N1

Título (abreviado) del trabajo	Características de la vacuna	Referencia
(...) Non-adjuvanted & adjuvanted vaccine against H5N1 influenza		<i>Lancet.</i> 57:1937, 01
(...) Reverse genetics for rapid development of influenza vaccines	Puede producirse en 4 semanas	<i>Lancet.</i> 363:1099, 04
(...) Reverse genetics for influenza A virus vaccine production	Usa un solo plásmido	<i>PNAS.</i> 46:1825, 05
(...) Adeno-viral-vector-based pandemic influenza vaccine (...)	Respuesta humoral y celular	<i>Lancet.</i> 367:475, 06
(...) Inactivated Subvirion (...) H5N1 Vaccine	Virus crecidos en huevos	<i>N. Engl. J. Med.</i> 354:1343, 06
Flu-vaccine makers toil boost supply	Países que inician producción	<i>Nature.</i> 440:1099, 06
(...) An inactivated split-virion (...) (H5N1) vaccine: phase I trial		<i>Lancet.</i> 367:1657, 06
(...) An inactivated adjuvanted whole-virion (...) H5N1 vaccine		<i>Lancet.</i> 368:991, 06
Vaccines developed for H5N1 highly pathogenic (...) in China	Es una vacuna H5N2 inactivada	<i>Ann. N. Y. Ac. Sci.</i> 1081, 06
Newcastle disease virus expressing H5 hemagglutinin (...)	Vacuna bivalente contra NDV y gripe	<i>PNAS.</i> 103:8197, 06
Engineered viral vaccine (against) avian influenza and New. Dis		<i>PNAS.</i> 103:8203, 06

Título (abreviado) del trabajo	Características de la vacuna	Referencia
Newcastle disease virus-based live attenuated vaccine (...) H5N1		<i>J. Virol.</i> 81:150, 07
Inactivated influenza H5N1 whole-virus vaccine with Al adjuv		<i>Vaccine.</i> 25:3554, 07
Nucleic acid-based antiviral drugs against (...) influenza viruses	Oligonucleótidos, dsRNA	<i>Vaccine.</i> 25:3175, 07
Virus-like particle vaccine (...) against (...) influenza viruses	Contiene NA y prot. M1	<i>J. Virol.</i> 81:3514, 07
Virus-epitope vaccine design: informatic matching (...)		<i>Mol. Immunol.</i> 44:1253, 07
Influenza vaccines: The challenge of antigenic drift	Vacuna universal, conteniendo la prot. M2 y NP	<i>Vaccine.</i> 25:6852, 07
Flu virus Research (...) but No Magic Bullet		<i>Scient. Med.</i> 319:1178, 08
Beating the Flu in Single Shot	Prot. M2e + prot HBc → cel. Infectada	<i>Scient. Am.</i> (08/2008)
GSK bird flu vaccine	La comisión europea ha aprobado la vacuna «Prepandrix» (de Glaxo SmithKline). Novartis lo intenta con «Aflunov». Ambas contra el H5N1	<i>Nature Biotech.</i> 26:846, 08
For an H5N1 influenza vaccine	«Vacunas de virus enteros inactivados son superiores a las de fragmentos o subunidades víricas»	<i>PloS Pathog.</i> 4: e1000138 (09/2008)

Otras estrategias aún en estudio frente al H5N1

ARN interferente. *RANF*, Monografía XXI, 187, **06**.

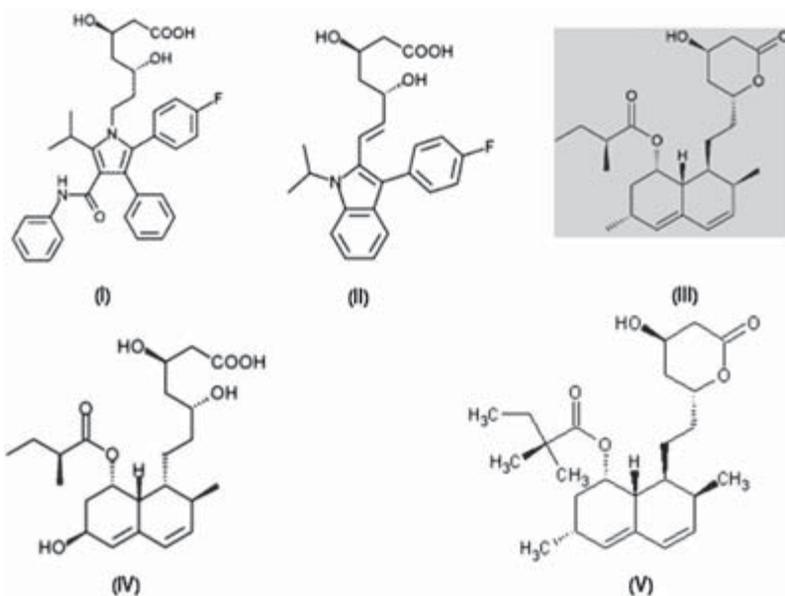
IFN-stimulated gene
15 functions as a critical
antiviral molecule against
influenza (...).
PNAS 104: 1371, **07**.

Cytotoxic therapy for severe
avian influenza
A (H5N1) infection.
Lancet 367:870, **07**.

[...] Supresión of a host
antiviral response
by influenza A Virus.
PNAS 105: 13093, **08**.

9. OTROS POTENCIALES AGENTES ANTIGRIPALES

Recuérdese que las ESTATINAS actualmente autorizadas para uso terapéutico [atorvastatina (I), fluvastatina (II), lovastatina (III),



pravastatina (IV) y simvastatina (V)] son compuestos cíclicos, que funcionan como inhibidores de la enzima 3-hidroxi-3-metilglutaril-CoA-hidrolasa (EC. 3.1.2.5), que cataliza una de las primeras etapas de la biosíntesis del colesterol en el hígado.

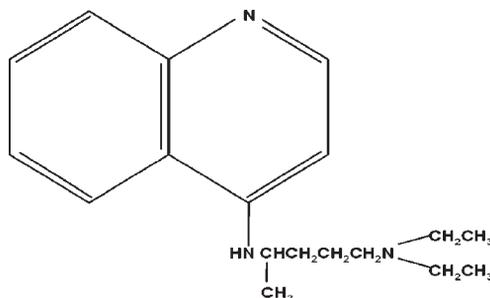
Aquí, interesa sólo destacar que, entre otras importantes funciones —como la de evitar el incremento excesivo de los niveles sanguíneos de las LDL (= colesterol «malo»)—, ejercen un efecto anti-inflamatorio al actuar modulando la acción de las citocinas proinflamatorias, además de disminuir la adhesión de los leucocitos, etc. Concretamente, la atorvastatina favorece la liberación de las interleucinas 4, 5 y 10.

También, por mecanismo tal vez distinto al de la hidrolasa antes indicada —por tanto, de tipo no hipolipolemiante—, ejercen un efecto antiviral, que se utiliza para combatir el virus de la hepatitis C. En consecuencia, recientemente se ha propuesto el uso de estatinas como agentes antigripales, sugiriéndose que quizá, al interferir la biosíntesis del colesterol componente de la membrana de la célula hospedadora (donde se fija el virus para su penetración y luego su liberación), o por otro mecanismo, bloquearían el ciclo biológico de dicho virus.

A los agentes de lucha contra la gripe que causa el virus H5N1 actualmente autorizados (vacunas, oseltamivir, zanamivir) se intenta añadir otros como las estatinas, que tienden a paliar los graves efectos inflamatorios y cardiovasculares subsiguientes, ocasionados por la desregulación de las citocinas, aun cuando el/los mecanismo/s mediante los cuales «las estatinas ejercen sus efectos beneficiosos en pacientes con bacteriemia y sepsis no son bien conocidos» (27). En realidad, su eventual empleo en la profilaxis y tratamiento en relación con el riesgo de una pandemia de gripe era (en el año 2006) sólo una hipótesis (27).

En el año 2007, en el estudio realizado usando ratones infectados con virus H2N2 y tratados con «gemfibrozil», fármaco empleado para rebajar la trigliceridemia, se ha observado que se inhibe la liberación de citocinas proinflamatorias al actuar aquél como ligando sintético vinculado a la acción de los peroxisomas (32).

Distinto es el mecanismo según el cual actúa la cloroquina, compuesto que ha sido asimismo propuesto para complementar los efectos beneficiosos atribuidos a estatinas y «gemfibrozil»:



«La cloroquina se acumula en el endosoma, donde interfiere la acidificación, y por ello daña la fusión del virus» [con la célula hospedadora] (33).

Por otro lado, así como los intentos de usar «corticosteroides para controlar la inflamación excesiva estuvieron asociados a efectos secundarios sin mejoría en la pervivencia», un tratamiento inmunomodulador con una combinación de zanamivir (inhibidor de la neuraminidasa vírica) y de los bloqueadores de la inflamación «celecoxib» (COX-2, inhibidor de la ciclo-oxigenasa-2) y «mesalazine» (que contribuye a disminuir los niveles sanguíneos de citocinas y eicosanoides proinflamatorios) «incrementa la pervivencia de ratones infectados con una cepa altamente patogénica de virus de gripe A/H5N1» (34).

Independientemente de la eventual utilidad terapéutica de estos agentes del grupo de los moduladores de citocinas, que se estima suprimen o aminoran los efectos perjudiciales para los pacientes (ocasionados por la desregulación de éstas en casos de infección por H5N1), la opinión ya antes expresada por numerosos especialistas y reiterada por D. S. Fedson en 2008 (27, 33) advierte que sería prácticamente imposible disponer oportunamente de cantidades suficientes de vacunas y/o oseltamivir/zanamivir en todo el mundo en el caso de producirse la esperada pandemia que causaría este virus. Sólo los países productores de vacunas y de los mencionados inhibidores de neuraminidasa se hallarían en una situación menos peligrosa.

Asimismo, el elevado coste de todos estos agentes, inasequible para los países pobres, además de la inevitable tardanza en la preparación de las vacunas, constituye otra barrera en cuanto a su empleo.

Por el contrario, el reducido coste de los moduladores de citocinas, por ser «genéricos» de fabricación económica —el tratamiento de cinco días con simvatatina costaría unos 2 \$, mientras que el de oseltamivir sería de 560-590 \$ (27)—, considera Fedson que contribuiría a mitigar, al menos, los temidos efectos perjudiciales de dicha esperada pandemia.

No obstante, R. Salomón *et al.* (35) consideran que los resultados de las investigaciones por ellos realizadas «refutan el paradigma popular de que la denominada «tormenta por citocinas» —[*cytokine storm*]

— es la causa de la muerte debida a la infección por H5N1». Y añaden: «La inhibición temprana de la replicación vírica es más prometedora que la inhibición de la respuesta por citocinas para promover la supervivencia del hospedador en la infección por virus de la gripe H5N1».

Ahora bien, Fedson (33) replica a esta opinión estimando que los experimentos de Salomón y colaboradores fueron «hechos con número pequeño de ratones» como para poder concluir que los «agentes anti-inflamatorios e inmunomoduladores sean o no beneficiosos en el tratamiento de infecciones por H5N1 en ratones o humanos».

Obsérvese que, en cualquier caso, ambas posibilidades no parece que sean totalmente contrapuestas, sino que hasta quizá podrían resultar complementarias.

10. SITUACIÓN ACTUAL

Probablemente, «éste es el estado actual de la cuestión». Otros trabajos —si hay tiempo y medios suficientes para realizarlos— deberán contribuir a que en un futuro no lejano se disponga de una información más completa, tal vez definitiva, y verosímilmente más esperanzadora que la ahora existente.

Las medidas preventivas puestas en práctica en Europa, ya desde años atrás, han podido influir favorablemente —además de otros factores, como tal vez el cambio climático, que ha modificado rutas y épocas de migraciones aviarias— haciendo que el número de casos reconocidos de propagación por el H5N1 haya sido escaso últimamente.

No obstante, desde 2006 (véase hasta esa fecha la publicación de la referencia 3), se han registrado oficialmente, al menos: Un brote en el Estado de Brandemburgo (Alemania), en diciembre de 2007; un caso en aves en libertad, en el Reino Unido, en febrero de 2008; y ha sido necesario sacrificar 1.400 aves (ocas, patos, pollos y pavos) en una granja alemana, cercana a la localidad de Görlitz y a la frontera con Polonia, en octubre de 2008, en evitación de riesgos, para prevenir el contagio por un pato.

En cuanto al número de personas que hubieran fallecido en el mundo víctimas de este subtipo, la OMS lo calculaba, hasta agosto de 2008, en no menos de 245.

Todo ello confirma que el peligro para los humanos subsiste.

El artículo editorial de la revista *Nature*, de 10-07-2008, titulado: «*The long war against flu*» (= La larga guerra contra la gripe), comienza así: «El hecho de que la cepa H5N1 no haya aún causado una pandemia no debe ser motivo de complacencia. Preparativos para lo inevitable deben ser redoblados para mitigar la potencial devastación» (36). Y, unas páginas más adelante, en otro trabajo se hace la siguiente pregunta (que reitera dudas anteriores): *Ready for avian flu?* (= ¿Preparados para la gripe aviar?) (37). En él, una vez más se recomienda coordinar esfuerzos y las reservas de fármacos en beneficio de todos. Pero no aparece de modo categórico una contestación a la delicada pregunta planteada...

Cabe pensar, ¿se habrán aprovechado debidamente las «lecciones sobre el virus de 1918 acerca del origen de las pandemias de gripe», según se solicitaba ya en 2005, poco después de la «reconstrucción» de dicha cepa de virus? (38).

El porvenir no parece muy tranquilizador cuando en agosto de 2008 se vuelve a recordar —nada menos que en la revista *Nature Biotechnology* (39)— que, además del riesgo por el temido H5N1, «no conocemos si la próxima pandemia será por el virus H5N1, el H2, el H7 o el H9».

11. AGRADECIMIENTOS Y DEDICATORIA

Al Académico Profesor Alfonso Domínguez-Gil Hurlé, por haber facilitado publicaciones acerca de fármacos anti-inflamatorios.

A doña Beatriz Cabezas y a don Javier Ibáñez, por su indicación de datos sobre estatinas.

A don Manuel Tirado Juárez, de esta Real Academia, por la transcripción del texto.

El autor desea dedicar este trabajo, como sencillo homenaje póstumo, al muy apreciado colega Académico, Excmo. Señor don Juan Manuel Reol Tejada, quien siempre mostró especial interés por el tema aquí tratado.

12. BIBLIOGRAFÍA

1. Cabezas, J. A. (1990) Datos sobre las pandemias de la gripe de 1889-90 y 1918-19 en Madrid y Salamanca, y estudios sobre la sialidasa (...). *Discurso de recepción como Académico de Número, R. Acad. Nac. Farm.* Madrid.
2. Cabezas, J. A. (1991) Études sur la sialidase et l'esterase des virus de la grippe. *Discurso de incorporación como Académico Correspondiente en l'Académie Nationale de Pharmacie*, Paris.
3. Cabezas, J. A. (2006) Gripe aviar: Situación actual. *An. R. Acad. Nac. Farm.* 72: 301-315.
4. Cabezas, J. A. & Hannoun, C. (1990) La gripe y sus virus. *Inv. Ciencia.* 159: 62-69.
5. Cabezas, J. A. (2004) Datos actuales sobre virus de la gripe de patos salvajes y pollos, y virus de la gripe tipo C. *Monografía conjunta de las R. Acad. Nac. de Medicina y Farmacia.*
6. Cabezas, J. A. (2006) Inhibidores de la neuraminidasa (...). *R. Acad. Nac. Farm. Monografía XXI*, 187-239.
7. Cabezas, J. A. (2005) Nuevos datos acerca del virus causante de la pandemia de gripe de 1918-19 y su relación con los de la gripe aviar. *An. R. Acad. Nac. Farm.* 71: 83-110.
8. Ahn, I. [...], Jung, J., Son, H. S. (2006) Genomic Analysis of Influenza A Viruses, including Avian Flu (H5N1) Strains. *Eur. J. Epidemiol.* 21: 511-519.
9. Ubenauer, J. C., Denson, J. [...] & Naeve, C. W. (2006) Large-Scale Analysis of Avian Influenza Isolates. *Science.* 311: 1576-1580.
10. Smith, G. F. D. [...] Webster, R. G. & Guan, Y. (2006) Emergence and predominance of an H5N1 influenza variant in China. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 103: 16936-16941.

11. Chen, H. [...] Peiris, J. S. M. & Guan, Y. (2006) Establishment of multiple sublinages of H5N1 influenza virus. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 103: 2845-2850.
12. Rambaut, A. [...] Taubenberger, J. K. & Holmes, E. C. (2008) The genomic and epidemiological dynamics of human influenza A virus. *Nature.* 453: 615-619.
13. Butler, D. (2006) Alarms ring over bird flu mutations. *Nature.* 439: 248-249.
14. Normile, D. (2006) Genomic Analysis Hints at H5N1 Pathogenicity. *Science.* 311: 457.
15. Satterly, N. [...] Levy, D. E. & Fontoura, B. M. A. (2007) Influenza virus targets the mRNA export machinery and the nuclear pore complex. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 104: 1853-1858.
16. Jackson, D. [...] Pérez, D. R. & Lamb, R. A. (2008) A new influenza virus virulence determinant: The NS1 protein four C-terminal residues modulate pathogenicity. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 105: 4381-4386.
17. Grimm, D. [...] García-Sastre, A. [...] & Kochs, G. (2007) Replication fitness determines high virulence of influenza A virus in mice carrying functional MX1 resistance gene. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 104: 6806-6811.
18. McAuley, J. L., Hornung, F. [...] & McCullers, J. A. (2007) Expression of the 1918 Influenza A Virus PB1-F2 Enhances the Pathogenesis of Viral and Secondary Bacterial Pneumonia. *Cell Host & Microbe.* 2: 240-249.
19. Conenello, G. M. [...] Tumpey, T. & Palese, P. (2007) Single Mutation in the PB1-F2 of H5N1 (HK/97) and 1918 Influenza A Viruses Contributes to Increased Virulence. *PLoS Pathogens.* 25-10-2007.
20. Papas, C. [...] García-Sastre, A. [...] & Tumpey, T. M. (2008) Single gene reassortant identify a critical role for PB1, HA, and NA in the high virulence of the 1918 pandemic influenza virus. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 105: 3064-3069.
21. Schnell, J. R. & Chou, J. J. (2008) Structure and mechanism of the M2 proton channel of influenza A virus. *Nature.* 451: 591-595.
22. Stouffer, A. L. [...] Stayrook, S. & Degrado, W. F. (2008) Structural basis for the function and inhibition of an influenza virus proton channel. *Nature.* 451: 596-599.
23. Kash, J. C. [...] Taubenberger, J. K., & García-Sastre, A. (2006) Genomic analysis of increased host immune and cell death responses induced by 1918 influenza virus. *Nature.* 443: 578-581.
24. Enserink, M. (2007) Digging Deeper Into the 1918 Flu Mystery. *Science.* 29-09-2007.
25. Kobasa, D. [...] Feldman, H. & Kawaoka, Y. (2007) Aberrant innate immune response in lethal infection of macaques with the 1918 influenza virus. *Nature.* 445: 319-323.
26. Greger, M. (2006) Bird Flu. Lantern Books. New York, p. 57.
27. Fedson, D. S. (2006) Pandemic influenza: A Potential Role for Statins in Treatment and Profilaxis. *Clin. Infect. Dis.* 43: 199-205.
28. Jong, M. N. [...] Hien, T. T. & Farrar, J. (2006) Fatal outcome of human influenza A (H5N1) is associated with high viral load and hypercytokinemia. *Nature Medic.* 12: 1203-1207.

29. Fukhmoto, Y., Okumura, A. [...] & Morishima, T. (2007) Serum levels of cytokines and EEG findings in children with influenza associated with mild neurological complications. *Brain & Develop.* 29: 425-430.
30. Cheung, C. Y. [...] Guan, Y. & Peiris, J. S. (2002) Induction of proinflammatory cytokines in human macrophages by influenza A (H5N1) viruses: a mechanism for the unusual severity of human disease. *Lancet.* 360: 1831-1837.
31. Peiris, J. S. [...] Yuen, K. Y. & Guan, Y. (2004) Re-emergence of fatal human influenza A subtype H5N1 disease. *Lancet.* 363: 617-619.
32. Budd, A. [...] Wood, J. & Clark, J. (2007) Increased Survival after Gemfibrozil Treatment of Severe Mouse Influenza. *Antimicrob. Agents & Chemother.* 51: 2965-2968.
33. Fedson, D. S. Confronting an influenza pandemic with inexpensive generic agents: can it be done? *Lancet.* 16-04-2008.
34. Zheng, B.-J. [...] Jin, D.-Y. & Yuen, K.-Y. (2008) Delayed antiviral plus immunomodulator treatment still reduces mortality in mice infected by high inoculum of influenza A/H5N1 virus. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 105: 8091-8096.
35. Salomon, R., Hoffmann, E. & Webster, R. G. (2007) Inhibition of the cytokine response does not protect against lethal H5N1 influenza infection. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 104: 12479-12481.
36. [Editorial]. The long war against flu. *Nature.* 454: 137 (2008).
37. Yamada, T., Dautry, A. & Walport, M. (2008) Ready for avian flu? *Nature.* 454: 162.
38. Belshe, M. D. (2005) The origins of Pandemic Influenza-Lessons from the 1918 Virus. *N. Engl. J. Med.* 353: 2209-2211.
39. Aldridge, S. (2008) GSK bird flu vaccine. *Nature Biotechnol.* 26: 846.

OTRAS REFERENCIAS

SOBRE ARTÍCULOS RELACIONADOS CON EL PRESENTE TRABAJO (APARECIDOS CON POSTERIORIDAD A LA REDACCIÓN DEL MISMO) QUE HAN SIDO INCORPORADAS DURANTE LA REVISIÓN DE LAS PRUEBAS DE IMPRENTA DE ÉSTE

- Das, K. [...], Krug, R. M. & Montelione, G. T. (2008) Structural basis for suppression of a host antiviral response by influenza A virus. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 105: 13093-13098.
- Yu, X. [...], Tumpey, T. M. [...] & Crowe, J. E. (2008) Neutralizing antibodies derived from the B cells of 1918 influenza pandemic survivors. *Nature* 455: 532-535.
- Bornholdt, Z. A., Prasad, B. V. V. (2008) X-ray structure of NS1 from a highly pathogenic H5N1 influenza virus. *Nature* 0744/doi: 10.1038.
- Russell, R. [...], Gamblin, S. J. & Skehel, J. J. (2008) Structure of influenza hemagglutinin in complex with an inhibitor of membrane fusion. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 105: 17736-17741.

- Modis, Y. (2008) How influenza virus is locked out of the cell. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 105: 18647-18648.
- Yen, H.-L. [...], Bus, D. [...] & Webster, R. G. (2009) Changes in H5N1 influenza virus hemagglutinin binding domain affect systemic spread. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 106: 286-291.
- Dias, A. [...], Cusack, S. & Ruigrock, R. W. (2009) The cap-snatching endonuclease of influenza virus polymerase resides in the PA subunit. *Nature* 07745/ doi: 10.1038.

* **Información de contacto:**

Doctor José Antonio Cabezas Fernández del Campo.
Académico de Número de la Real Academia Nacional de Farmacia.
Paseo Carmelitas, 43. Salamanca (España).