
EDITORIAL

Evolución molecular del virus dengue: un área de investigación prioritaria.

El dengue es una enfermedad febril, aguda e infecciosa que afecta humanos, producida por un virus de ARN del género *Flavivirus*, familia *Flaviviridae*. El genoma viral codifica para una poliproteína que es posteriormente procesada dando lugar a 3 proteínas estructurales (prM/M, E y C) y 7 no estructurales (NS1, NS2A, NS2B, NS3, NS4A, NS4B, NS5) (1). Posee 4 serotipos antigénicamente relacionados (DENV-1 al 4), cualquiera de los cuales puede producir indistintamente el cuadro clínico que varía desde una forma leve, muchas veces asintomática; fiebre dengue o dengue clásico (DC), hasta una condición severa; fiebre hemorrágica por dengue o dengue hemorrágico (DH), la cual puede llevar a la muerte a través del desarrollo del síndrome de choque por dengue (SCD). Su transmisión se realiza a través de la picadura de mosquitos hematófagos del género *Aedes*, principalmente *Aedes aegypti*.

Esta enfermedad se encuentra distribuida en gran parte de los países tropicales en desarrollo, siendo endémica en muchos de ellos, en los que produce epidemias en forma estacional y causa un estimado de ~100.000.000 nuevos casos por año, y a pesar de mostrar bajas tasas de mortalidad, genera un importante impacto económico y social (2). En nuestro país, el dengue se encuentra presente oficialmente desde finales de la década de los 60 y es endémico desde finales de los años 80. Entre 1989 y 1990, ocurrió en nuestro país la segunda mayor epidemia de DH ocurrida a nivel mundial,

solo superada por la de Cuba en 1981, siendo ambas asociadas a DENV-2 (3).

Aun cuando los mecanismos moleculares involucrados en el desarrollo del DH/SCD no se encuentran del todo entendidos, existen factores de riesgo reconocidos, que tratan de explicar la ocurrencia de DH/SCD: (i) la infección secundaria de individuos con historia de primoinfección previa por un serotipo heterólogo –la hipótesis más ampliamente aceptada– en la cual la presencia de anticuerpos subneutralizantes facilitarían la entrada del virus vía receptor de Fc, a las principales células blanco (monocitos/macrófagos), generando una infección más efectiva de los mismos con la subsecuente mayor carga viral. Esto se traduciría en desregulación en la producción de ciertas citocinas proinflamatorias y compuestos como el óxido nítrico, los cuales serían directa o indirectamente responsables del desarrollo de DH/SCD (4,5), (ii) factores dependientes del hospedador (como edad, condición nutricional o tipo de HLA) (Añez G. y Valero N., información no publicada) y (iii) la presencia de cepas, subtipos o *genotipos* más virulentos (6).

En este sentido, fue Rebeca Rico-Hesse (6) a principios de la década pasada, la primera en reportar las relaciones filogenéticas entre DENV-1 y 2. Posteriormente y a través del desarrollo de técnicas de secuenciación más eficientes, ha sido posible disponer de una importante cantidad de secuencias completas del genoma viral de todos los serotipos. Por medio de estudios fi-

logenéticos de aislados del virus alrededor del mundo, se ha establecido dentro de cada uno de sus serotipos, hasta la fecha, 3 genotipos para DENV-1 (I, II, y III), aunque algunos autores incluyen dos genotipos más denominados IV y V (6, 7), 6 para DENV-2 (Americano, Asiático/Americano, Asiático I, Asiático II y Selvático, el cual es exclusivo de primates no humanos), 4 para DENV-3 (I, II, III, IV); algunas clasificaciones incluyen el genotipo V (8), y 4 para DENV-4 (I, II, III y Selvático, también exclusivo de primates no humanos) (1).

El estudio de secuencias de DENV ha brindado también información acerca de su origen. La hipótesis más aceptada es la que ubica a África como sitio originario del mismo, debido entre otras razones a que otros Arbovirus relacionados con DENV pueden ser hallados en ese continente, así como a la observación de que su principal vector (*A. aegypti*) pudiese tener origen africano. Reciente información ha cuestionado esta teoría y ha direccionado a Asia como posible lugar de origen de este *Flavivirus*, basado en el hecho de que este virus puede ser aislado tanto en monos (en estado salvaje), como en humanos en el continente asiático (1, 9).

En relación a los mecanismos de evolución, tal cual sucede con otros virus de ARN, DENV es tendente a presentar altas tasas de mutación debido a una ARN polimerasa intrínsecamente susceptible de errores. Este virus exhibe abundante variación genética, sin que esto de lugar a la formación de cuasiespecies. Hasta el momento no existe todavía evidencia importante de que la selección natural actúe en este virus como un todo, teniendo como observación importante que la selección positiva (o Darwiniana) es un proceso relativamente raro, que ocurre solo esporádicamente a través del genoma y dentro de los serotipos. La presión de selección dominante que actúa en DENV es selección purificante. Por otro

lado, la recombinación como mecanismo evolutivo en DENV es controversial (1, 7). Este proceso es teóricamente posible, dado que cuenta con algunos elementos a favor como el hecho de haber sido previamente demostrado en otros miembros de la familia *Flaviviridae*. Además de esto, dada la enorme cantidad de mosquitos y humanos infectados, existe importante posibilidad de ocurrencia de recombinación. La evidencia existente hasta ahora reconoce que para este virus, la recombinación es un proceso relativamente poco común y prácticamente no tiene mayores efectos a nivel de su evolución poblacional (1).

En Venezuela, son pocos los estudios que han sido realizados para conocer los genotipos de DENV circulantes. Salas y cols. (10), fueron los primeros en describir la epidemiología molecular de los aislados de DENV en el país entre 1990 y 1997, reportando co-circulación de los serotipos 1, 2 y 4 durante el período estudiado. Estos autores sugieren por primera vez la posibilidad de que el incremento en el número de casos severos vistos en el país desde 1989, pudiesen deberse a la introducción del genotipo asiático en sustitución del genotipo autóctono caribeño (Americano). Goncalvez y cols. (7), estudiaron la evolución de DENV-1 en el país y compararon estos aislados con otras secuencias publicadas provenientes de varias localidades alrededor del mundo. Estos autores reportan también la circulación en nuestro país del genotipo americano (genotipo V en la clasificación por ellos reportada), el cual ha mostrado potencialidad para causar indistintamente ambas formas clínicas; DC y DH/SCD.

Posteriormente, han sido publicados estudios sobre la epidemiología molecular de DENV-2 y DENV-3 en Venezuela. En este sentido, se ha demostrado que los aislados de DENV-2 que han circulado en el país son de origen asiático, lo cual queda demostrado por el hecho de poseer estos la sustitución

ción D → N en la posición E390, la cual además de ser característica del genotipo asiático, está relacionada con alto potencial para producir DH. Para estos autores, los aislados venezolanos de DENV-2 evolucionaron *in situ*, siendo posible diferenciar un número de linajes distintos co-circulantes, más que introducción repetida de cepas procedentes de otras localidades (3).

Por su parte, DENV-3 circuló en Venezuela en los años 60s y 70s, demostrándose que el virus aislado para esa época pertenecía al genotipo V. Luego de esto, este serotipo desaparece del país y fue re-introducido en el año 2000. En esta última aparición, fue el causante de una epidemia de grandes proporciones, siendo los aislados de DENV-3 circulantes en esta oportunidad clasificados dentro del genotipo III. Este genotipo es el mismo que causó un importante número de casos en Centroamérica en 1994, desde donde se habría diseminado a otros países del continente y el cual está asociado a la cepa que causó epidemias de DH en Sri Lanka e India entre 1989 y 1991. Se ha demostrado que al igual que DENV-2, DENV-3 ha evolucionado *in situ* en nuestro país (8).

La importancia de los estudios de evolución molecular en dengue radica en el hecho de que a través del conocimiento del serotipo y su genotipo circulante, podría inferirse la procedencia de esos aislados, siendo posible reconstruir las vías de introducción/desplazamiento del virus dentro del país, así como el origen geográfico (procedencia) de los mismos. Esta información podría constituirse en marcadores epidemiológicos precoces para la toma de medidas de control por parte de las autoridades competentes, así como para conocer si los genotipos circulantes se asocian o no a mayor riesgo de padecer DH/SCD en nuestra población. Además de esto, a partir de los

estudios genómicos del virus podrían obtenerse conocimientos básicos importantes de la biología viral, los cuales serían de amplia utilidad en estudios tendentes a la búsqueda de soluciones terapéuticas y preventivas.

Son necesarios más trabajos (sobre todo que incluyan análisis de genoma viral completo), que examinen a profundidad aislados de todos los serotipos de DENV circulantes en el Estado Zulia y en Venezuela desde los años 90, así como la relación que existiría entre la evolución molecular del virus y la presencia de enfermedad severa en la población del país. Determinar a ciencia cierta como ocurre desde el punto de vista genómico el proceso de extinción/re-aparición de serotipos entre períodos epidémicos, es también un elemento susceptible de ser estudiado más profundamente en un país donde la enfermedad es endémica pero presenta además epidemias recurrentemente, como es el caso de Venezuela. Resultaría interesante además, la promoción en la creación de grupos de bioinformática y análisis de genomas dentro de los laboratorios de virología que trabajan con DENV y otras arbovirosis, con el objeto de facilitar el manejo de la información derivada de la secuenciación de estos aislados virales.

A pesar de su impacto en salud pública, resta mucho por conocer de la fisiopatología de esta enfermedad, de su ecología, su genómica y el efecto de los cambios evolutivos en el mismo, todo lo cual se apuntala como una excitante y floreciente área de investigación, no solo para ayudar a responder las interrogantes existentes sobre su inmunopatogénesis, sino como una herramienta para acelerar el desarrollo de estrategias terapéuticas como la tan esperada vacuna tetravalente costo-efectiva, que esté disponible en corto tiempo en todos los países afectados por este flagelo.

Germán Áñez

Molecular evolution of dengue virus: a necessary field of research.

Dengue is a viral disease present in tropical developing countries where cause an important number of new cases annually. There are four serotypes (DENV-1 to 4), which can cause a clinical spectrum varying from a mild disease; dengue fever, to a potential life-threatening form; dengue hemorrhagic fever (DHF). The molecular mechanism to explain the developing of DHF remains uncertainly, but it has been related to previous immunity to a different serotype, host-dependending factors (age, nutritional status, HLA type) and to viral genotypes. In this sense, have been described a number of genotypes among the serotypes, some of which has been associated with increased severity. In Venezuela, since 1989 have been reported cases due to all the viral serotypes, but there are few studies attempting to determine the genotype circulating in both epidemic and endemic situations. In all the reports, Venezuelan isolates are related to Asian genotypes, some of which have been associated with high risk to develop DHF. It is necessary more studies to analyze the whole viral genome from isolates collected in last years, in order to get information about how and why occur the viral extinction process in epidemics settings, its geographical origin and if certainly there are genotypes associated with DHF circulating in the country. Despite its importance to public health, it is necessary more research to understand deeply the dengue physiopathology. Genomics seems to be an important tool to achieve this objective and to help to develop required therapeutics and prophylactic strategies in a short time.

1. **Holmes EC.** The evolutionary biology of dengue virus. *Novartis Found Symp* 2006; 277: 177-87; discussion 187-92, 251-253.
2. **Añez G, Balza R, Valero N, Larreal Y.** Impacto económico del dengue y del dengue hemorrágico en el Estado de Zulia, Venezuela, 1997-2003. *Rev Panam Salud Publica* 2006; 19(5):314-320.
3. **Uzcátegui NY, Camacho D, Comach G, Cuello de Uzcátegui R, Holmes EC, Gould EA.** Molecular epidemiology of dengue type 2 virus in Venezuela: evidence for in situ virus evolution and recombination. *J Gen Virol* 2001; 82:2945-2953.
4. **Chareonsirisuthikul T, Kalayanaroj S, Ubol S.** Dengue virus (DENV) antibody-dependent enhancement of infection upregulates the production of anti-inflammatory cytokines, but suppresses anti-DENV free radical and pro-inflammatory cytokine production, in THP-1 cells. *J Gen Virol* 2007; 88:365-375.
5. **Valero N, Espina LM, Añez G, Torres E, Mosquera JA.** Short report: increased level of serum nitric oxide in patients with dengue. *Am J Trop Med Hyg* 2002; 66(6):762-764.
6. **Rico-Hesse R.** Molecular evolution and distribution of dengue viruses type 1 and 2 in nature. *Virology* 1990; 174:479-493.
7. **Goncalvez AP, Escalante AA, Pujol FH, Ludert JE, Tovar D, Salas RA, Liprandi F.** Diversity and evolution of the envelope gene of dengue virus type 1. *Virology* 2002; 303:110-119.
8. **Uzcátegui NY, Comach G, Camacho D, Salcedo M, Cabello de Quintana M, Jiménez M, Sierra G, Cuello de Uzcátegui R, James WS, Turner S, Holmes EC, Gould EA.** Molecular epidemiology of dengue virus type 3 in Venezuela. *J Gen Virol* 2003; 84:1569-1575.
9. **Wang W-K, Sung T-L, Lee C-N, Lin T-Y, King C-C.** Dengue type 3 virus in plasma is a population of closely related genomes: quasispecies. *J Virol* 2002; 76:4662-4665.
10. **Salas R, Tovar D, Barreto A, Miller E, Leitmeyer K, Rico R.** Serotipos y genotipos de virus dengue circulantes en Venezuela, 1990-1997. *Acta Cient Venez* 1998; 49(1):33-37.