

Estrategias virales para el transporte intracelular del virus dengue

Viral strategies for intracellular transport of dengue virus

Andrea I. Trujillo-Correa*, Juan C. Gallego-Gómez†

El dengue es la enfermedad viral transmitida por artrópodos más importante en el mundo y es causada por cualquiera de los cuatro serotipos del virus dengue (DENV).¹ La dependencia de los virus por la célula hospedera no está limitada exclusivamente a la transcripción, transducción y replicación del genoma viral para generar nuevas partículas infecciosas; sino que, además, requiere toda la maquinaria de transporte celular, ya que las partículas mayores de 50 nm son restringidas por la naturaleza viscosa del citosol, debido a que el citoesqueleto y el resto de estructuras intracelulares se convierten en una barrera para que los virus lleguen hasta las factorías virales.² Para muchos virus envueltos y desnudos se demostró que después de la entrada interactúan con los elementos del citoesqueleto asociados a las proteínas motoras, para llegar hasta los sitios especializados de replicación y, posteriormente, salir de la célula.³

Es probable que la interacción entre el DENV y su receptor de membrana active una serie de eventos dinámicos que, como ocurre con otros virus, promuevan la reorganización del citoesqueleto para permitir la entrada de las partículas virales a la célula. Otro hecho importante es la reorganización del citoesqueleto mediado por citocinas,⁴ lo que incrementa la permeabilidad vascular y, posiblemente, lleve al

desarrollo de las manifestaciones hemorrágicas. Pese a ello, los detalles sobre la participación del citoesqueleto durante la infección con DENV no se han estudiado con profundidad.

Para llevar a cabo nuestros experimentos, células VERO infectadas fueron fijadas en diferentes momentos de la infección con tampón de citoesqueleto para preservar estructuras celulares. Los filamentos de actina fueron marcados con phalloidina conjugada con el fluorocromo *Alexa 594* (marcaje rojo en las imágenes); la proteína viral de Envoltura se marcó con un anticuerpo policlonal seguido de un secundario anticonejo conjugado con *Alexa 488* (marcaje verde en las imágenes) y el núcleo se marcó con el intercalante de *DNA hoesch* (marcaje azul en las imágenes).

Nuestros resultados muestran la morfología característica de los filamentos de actina en fibroblastos, formando fibras de estrés en las células sin infectar (*figura 1*); sin embargo, en momentos tempranos de la infección se induce un remodelamiento de la actina para formar proyecciones que pueden facilitar el desarrollo de la infección (*figura 2*), como ya se describió para otros virus y se puede observar claramente en el recuadro ampliado sobre la *figura 2*. Otras proyecciones del citoesqueleto de actina de-

*Microbióloga y Bioanalista, Universidad de Antioquia. Magíster en Biología con énfasis en Biología celular y molecular de la infección viral y estudiante de doctorado en Biología, Instituto de Biología, Programa para el estudio y control de enfermedades tropicales, PECET, Universidad de Antioquia. †Biólogo Genetista, Doctorado en Biología Molecular y Celular, Universidad Autónoma de Madrid. Profesor del departamento de Microbiología y Parasitología, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia. Director de la Unidad de vectores virales y terapia génica, Grupo de Neurociencias de Antioquia. Asesor Científico de la Sede de Investigación Universitaria, SIU, Universidad de Antioquia. Contacto: Andrea Trujillo, andretu@gmail.com
Recepción: 7-04-10. Aceptación: 13-04-10.

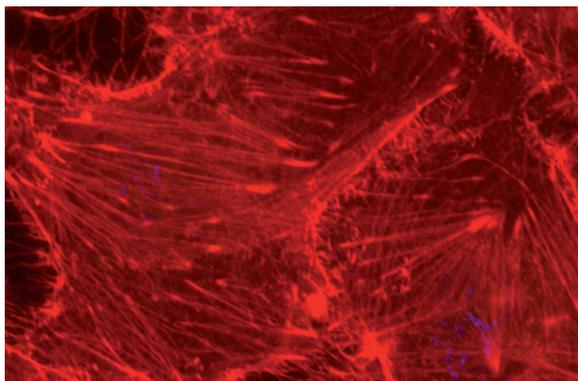


Figura 1. Control sin infección.

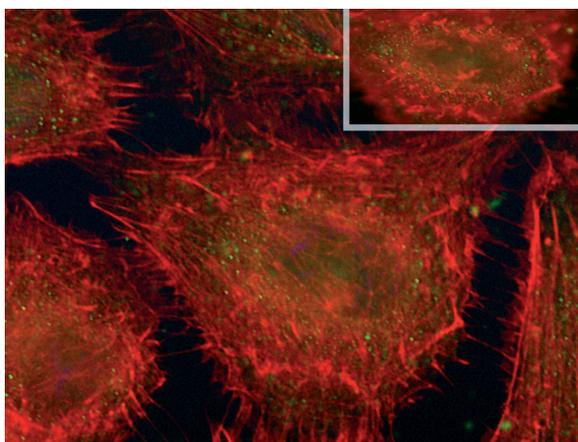


Figura 2. Células Vero infectadas con DENV 2 hpi.*

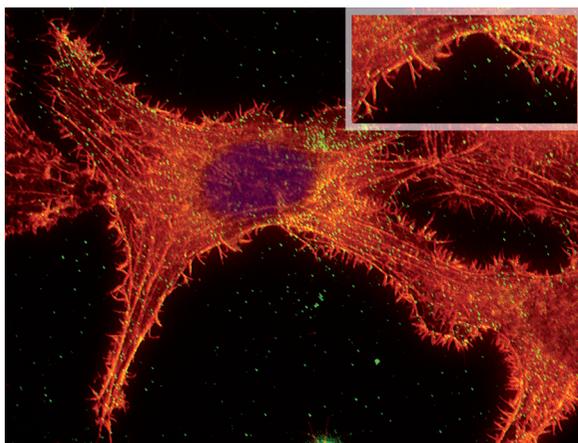


Figura 3. Células Vero infectadas con DENV 24 hpi.

nominadas filopodios se observan con claridad en la periferia celular asociadas a partículas virales (figura 3), y como se demostró recientemente, la formación de

estas estructuras se da gracias a la activación de dos miembros de la familia de proteínas de señalización *Rho GTPasas* (Rac1 y Cdc42).⁵

En conclusión, los virus no solo interactúan físicamente con el citoesqueleto para poder dirigir el transporte, reclutando proteínas motoras; además, tienen un papel activo modulando las cascadas de señalización de las *Rho GTPasas* e induciendo el remodelamiento de actina, todo para favorecer la replicación viral.⁶

FUENTES DE FINANCIACIÓN

Este trabajo contó con el apoyo de COLCIENCIAS (Departamento Administrativo de Ciencia, Tecnología e Innovación de Colombia), en las subvenciones No. 11150418079 y 111540820511.

CONFLICTO DE INTERESES

Los autores declaramos la ausencia de conflicto de intereses o responsabilidades compartidas.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Gubler DJ. Epidemic dengue/dengue hemorrhagic fever as a public health, social and economic problem in the 21st century. *Trends Microbiol.* 2002 Feb; 10(2): 100-3.
2. Luby-Phelps K. Cytoarchitecture and physical properties of cytoplasm: volume, viscosity, diffusion, intracellular surface area. *Int Rev Cytol.* 2000;192:189-221.
3. Greber UF, Way M. A superhighway to virus infection. *Cell.* 2006 Feb 24; 124(4): 741-54.
4. Kanlaya R, Pattanakitsakul SN, Sinchaikul S, Chen ST, Thongboonkerd V. Alterations in actin cytoskeletal assembly and junctional protein complexes in human endothelial cells induced by dengue virus infection and mimicry of leukocyte transendothelial migration. *J Proteome Res.* 2009 May; 8(5): 2551-62.
5. Zamudio-Meza H, Castillo-Álvarez A, Gonzalez-Bonilla C, Meza I. Cross-talk between Rac1 and Cdc42 GTPases regulates formation of filopodia required for dengue virus type-2 entry into HMEC-1 cells. *J Gen Virol.* 2009 Dec; 90(Pt 12): 2902-11. Epub 2009 Aug 26.
6. Pelkmans L. Viruses as probes for systems analysis of cellular signalling, cytoskeleton reorganization and endocytosis. *Curr Opin Microbiol.* 2005 Jun; 8(3): 331-7.

*Horas después de la infección.