

La infección del virus de la bursitis infecciosa aviar ocurre mediante macropinocitosis

M. C. Giménez¹, J. F. Rodríguez³, M. I. Colombo^{1,2} y L. R. Delgui^{1,2}

Recursos humanos en formación: M. C. Giménez

¹Universidad Juan Agustín Maza

²Instituto de Histología y Embriología (IHEM), UNCuyo-Conicet, Mendoza, Argentina

³Centro Nacional de Biotecnología-Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CNB-CSIC), España
ldelgui@fcm.uncu.edu.ar

Introducción

El virus de la bursitis infecciosa aviar (IBDV o Infectious Bursal Disease Virus) es el agente etiológico de la enfermedad de Gumboro, una severa afección inmunosupresora de las aves que produce una altísima mortalidad, ocasionando graves pérdidas en el mercado avícola en todo el mundo. El IBDV, integrante de la familia *Birnaviridae*, es un virus desnudo cuyo genoma está compuesto de ácido ribonucleico (ARN) de doble cadena y cubierto por una cápside proteica.

Diversos aspectos relacionados al ciclo de infección del IBDV son aún desconocidos. En nuestro grupo de investigación hemos abordado el estudio de su vía de internalización celular, siendo éste uno de los primeros pasos necesarios para que el virus lleve adelante su ciclo de vida dentro de la célula hospedadora. Dado que existen diferentes mecanismos de endocitosis –proceso por el cual la célula introduce en su interior moléculas grandes o partículas a través de su membrana– que suelen ser utilizados por los virus para su internalización, se analizaron varios de ellos, con particular énfasis en la vía macropinocítica.

Metodología

En primer lugar, teniendo en cuenta el importante papel del citoesqueleto de actina en el proceso de macropinocitosis, se analizó el efecto del pretratamiento de células susceptibles (HeLa y QM-7) con inhibidores de la polimerización de la actina (citocalasina D y latrunculina B) sobre la infección por el IBDV, detectando la proteína viral VP3 por la técnica de Western blot y microscopía confocal (inmunofluorescencia). Posteriormente se evaluó el efecto del pretratamiento de células susceptibles con un inhibidor selectivo del intercambiador Na^+/H^+ (NHE-1), involucrado en la formación de los macropinosomas [5-ethylisopropyl Amiloride (EIPA)]. Además se realizó el análisis ultraestructural de la cinética de internalización viral y del efecto del pretratamiento de células susceptibles con citocalasina D y latrunculina B sobre la infección

por el IBDV. Este análisis se llevó a cabo mediante microscopía electrónica de transmisión (TEM o Transmission Electron Microscopy).

Resultados

Hemos podido comprobar que la integridad del citoesqueleto de actina y la funcionalidad del intercambiador NHE-1 son requerimientos necesarios para la infección de células por el IBDV. Estas evidencias sugieren fuertemente que el virus utiliza la vía de la macropinocitosis para su ingreso a las células. Además, el análisis ultraestructural de la entrada del IBDV nos ha permitido observar estructuras de la membrana celular asociadas a la entrada del virus morfológicamente compatibles con la formación de macropinosomas. En presencia de citocalasina D o latrunculina B se observan cambios morfológicos que apoyan a la macropinocitosis como la vía empleada por el virus para ser endocitado por las células.

Publicaciones

Recientemente hemos publicado el trabajo "The endosomal pathway and the Golgi complex are involved in the Infectious Bursal Disease Virus life cycle" en *Journal of Virology* (2013) y el grupo se encuentra preparando actualmente el manuscrito correspondiente para su publicación: "Host Cell Internalization of Infectious Bursal Disease Virus Involves a Macropinocytic Pathway".

Conclusión

El conjunto de los datos obtenidos por nuestro grupo indica fuertemente que el virus utiliza la vía macropinocítica como principal mecanismo de internalización celular.