

01 DE AGOSTO DE 2006

El virus del dengue revela su secreto circular

El primer paso en la transmisión de los virus transportados por mosquitos no es ningún misterio: consiste en la picadura del molesto insecto lo que permite que el virus entre en la circulación sanguínea de la víctima. Pero en el caso de algunos de los virus más peligrosos transportados por insectos, los detalles de lo que sucede después han sido poco claros.

En un descubrimiento que podría ayudar a que los científicos desarrollen formas de prevenir o de tratar ciertas infecciones, unos investigadores conducidos por una becaria internacional del Instituto Médico Howard Hughes (HHMI) en la Argentina han identificado un elemento genético que el virus del dengue utiliza para replicarse, lo que activa una enfermedad potencialmente fatal conocida como fiebre hemorrágica del dengue.

"Al principio nos desconcertó la característica de ciclización de este virus. Ahora reconocemos que cumple la función de llevar al promotor de la SLA cerca del sitio de iniciación."

— Andrea V. Gamarnik

En el número del 15 de agosto de 2006, de la revista *Genes & Development*, publicado el 1 de agosto de 2006 en Internet, la viróloga Andrea Gamarnik y sus colegas en la Fundación Instituto Leloir en Buenos Aires, describen la forma en la que una enzima viral reconoce y amplifica el material genético necesario para ensamblar nuevos virus del dengue. Sus resultados proporcionan el primer modelo de replicación de ARN de la familia viral que incluye a los virus del Nilo Occidental, de la encefalitis de St. Louis y de la hepatitis C.

Estos virus, conocidos como flavivirus, causan millones de casos de enfermedades humanas por año, pero no existe ninguna vacuna o droga antiviral para controlar la mayor parte de las infecciones. La fiebre del dengue, que es endémica en muchas regiones tropicales y subtropicales, consiste en una enfermedad severa y de tipo gripal que enferma a más de 50

millones de personas y mata a 25.000 individuos al año.

Una vez que un virus entra en una célula huésped, su principal prioridad es copiar su código genético para poder hacer más virus. Los flavivirus son tan eficientes en esta tarea que pueden producir decenas de miles de copias de su genoma -que está compuesto por ácido ribonucleico, o ARN- a tan solo horas de infectar una célula.

Para el dengue y otros flavivirus, el primer paso es producir proteínas virales, entre las que se encuentra una enzima que puede copiar ARN. Pero el ARN viral no es el único ARN en una célula infectada. Por lo tanto, una vez que la enzima llamada polimerasa de ARN que depende de ARN (RdRp, por sus siglas en inglés) es producida, la misma se encuentra rodeada por el ARN celular, creando un dilema: ¿Cómo logra la RdRp distinguir el ARN viral del ARN celular, para replicar la molécula correcta?

El año pasado, Gamarnik obtuvo la primera pista cuando su grupo identificó dos secuencias de ARN ubicadas en los extremos del genoma del virus del dengue. Estas secuencias cortas interactúan durante la replicación de ARN, dándole forma circular al genoma de ARN viral. El equipo de Gamarnik publicó esos resultados en el número de junio de 2005 de *Journal of Virology*.

Otros estudios del ciclo vital del virus del dengue revelaron otra pieza del ARN del virus que recluta a la enzima RdRp. Esa secuencia, que se encuentra en un extremo del genoma, adopta una estructura de tipo tallo y lazo característica que los científicos sospecharon podría ser importante para su función.

Para analizar si la RdRp dependía de esa forma de tallo y lazo para reconocer el ARN viral, los científicos crearon copias del genoma del dengue con cambios leves que alterarían sus estructuras. Los ARNs mutados fueron entonces insertados en células de mosquito o en células de hámster para ver si el ARN viral se copiaba.

Los científicos se sorprendieron al encontrar que la secuencia de tallo y lazo o SLA (por sus siglas en inglés) era esencial para la replicación viral. Cambios en sólo uno o dos ladrillos de construcción de esta estructura fueron suficientes para detener el proceso de replicación. Eso nos dijo que la RdRp probablemente distingue al ARN viral al reconocer la SLA, dijo Gamarnik.

Para confirmar el vínculo vital entre la RdRp y la SLA, los investigadores permitieron que partículas virales que no podían replicarse evolucionaran en células crecidas en placas de laboratorio. Las mutaciones espontáneas que ocurrieron en las SLA frecuentemente restauraron la actividad de la RdRp y la capacidad de replicación viral.

Los científicos no esperaban encontrar que la actividad de la RdRp dependiera de una secuencia en el extremo lejano del genoma, a miles de nucleótidos del extremo donde la enzima comienza a copiar el ARN.

El nuevo descubrimiento tiene sentido, dijo Gamarnik, porque la forma circular adoptada por el virus junta los extremos distantes de su genoma. Al principio nos desconcertó la característica de ciclización de este virus, dijo Gamarnik. Ahora reconocemos que cumple la función de llevar al promotor de la SLA cerca del sitio de iniciación.

Paul Ahlquist, investigador del HHMI en la Universidad de Wisconsin-Madison y experto en virus de ARN, dijo que los resultados del equipo de Gamarnik explican observaciones anteriores de su laboratorio y de otros que se requiere la unión entre los extremos 5 prima y 3 prima del genoma viral para la replicación del dengue y de varios otros flavivirus médicamente importantes. Estas pistas sugieren mecanismos posibles por los cuales los flavivirus podrían regular algunos pasos de replicación característicos, y en última instancia podrían proporcionar las fundaciones para nuevas estrategias contra los flavivirus, dijo Ahlquist.