

La internalización 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}

¹Universidad Juan Agustín Maza

²IHEM, UNCuyo-CONICET, Mendoza, Argentina ³CNB-CSIC, España.

ldelgui@fcm.uncu.edu.ar

El *Virus de la Bursitis Infecciosa Aviar* (IBDV) 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. IBDV, integrante de la familia *Birnaviridae*, es un virus desnudo cuyo genoma está compuesto de ARN de doble cadena y cubierto por una cápside proteica. Diversos aspectos relacionados al ciclo de infección de IBDV son aún desconocidos. En nuestro grupo de investigación, hemos abordado el estudio de la vía de internalización celular del virus, 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 que suelen ser utilizados por los virus para su internalización, se analizaron varios de ellos, con particular énfasis en la vía macropinocítica.

En primer lugar, y 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 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 IBDV. Este análisis se llevó a cabo mediante Microscopía Electrónica de Transmisión (TEM).

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 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 de 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.

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