

Ébolavirus: biología molecular y evasión de la respuesta inmune

Ebolavirus: molecular biology and immune response evasion

Dr. Pablo Ricardo Betancourt Álvarez^I, Dra. Yusimy Luján Risco^{II}, Dr. Roger Ramírez Zayas^I, Dra. Osaida Calderín Marín^{II}

^I Universidad de Ciencias Médicas "Carlos J. Finlay", Camagüey, Cuba.

^{II} Hospital Provincial Docente "Manuel Ascunce Domenech", Camagüey, Cuba.

RESUMEN

La actual epidemia de enfermedad por virus Ébola que azota al África Occidental ha cobrado la vida de alrededor de 9 000 personas con más de 22 000 infectados en seis países, y algunos casos aislados han llegado a ciudades de Europa y Estados Unidos. Aunque el curso clínico de la enfermedad es bien conocido, los mecanismos específicos que explican su patogenicidad no han sido completamente delineados. Los casos fatales de infección por Ébolavirus están marcados por un fallo catastrófico de las respuestas inmune innata y adaptativa, mediado por proteínas codificadas por el virus, así como por propiedades asociadas a su estructura. El genoma del Ébolavirus está constituido solamente por siete genes que codifican unas 10 proteínas, suficientes para desencadenar una enfermedad cuya letalidad varía del 40 al 90 %. En el centro de la desregulación inducida por el Ébola se encuentra una temprana y coordinada actuación de las proteínas VP24, VP30 y VP35, que conduce a niveles elevados de replicación viral, a una inapropiada temporización de la cascada de liberación de linfocinas y a la muerte, tanto de células presentadoras de antígenos, como de células efectoras. Los complejos mecanismos del Ébola para regular selectivamente la respuesta inmune y su patogenicidad variable en diferentes especies hospederas, convierten a este virus en un adversario formidable, así como de un notable interés científico.

Palabras clave: ébolavirus, biología molecular, evasión de la respuesta inmune.

ABSTRACT

The current Ebolavirus disease outbreak that strikes West Africa has claimed the life of around 9 000 people and has infected more than 22 000 in six countries, and

some isolated cases have reached cities of Europe and the United States. Though the clinical course of the disease is well known, the specific mechanisms of its pathogenicity have not been fully delineated yet. Fatal cases of Ebolavirus disease are marked by a catastrophic failure of both innate and adaptive immune responses, mediated by virus-encoded proteins as well as properties associated with its structure. Ebolavirus genome comprises only seven genes encoding about 10 proteins, enough to cause a disease which fatality fluctuates from 40 to 90 %. At the heart of Ebola-induced immune dysregulation is an early and coordinated disruption by VP24, VP30, and VP35 that leads to elevated levels of virus replication, a cascade of inappropriately timed cytokine release, and death of both antigen-presenting and responding immune cells. The complex mechanisms of Ebola to selectively regulate immune responses and its variable pathogenicity in different host species makes this virus both, a challenging foe and scientifically interesting.

Keywords: ebolavirus, molecular biology, immune response evasion.

“La mayor amenaza para la continua dominación del hombre sobre el planeta es el virus”
Joshua Lederberg-Premio Nobel de Fisiología/Medicina (1958)

INTRODUCCIÓN

El 25 de marzo de 2014, el Centro para el Control y Prevención de Enfermedades de Estados Unidos (CDC, por sus siglas en inglés), emitió un comunicado sobre un nuevo brote epidémico de la enfermedad por el virus del Ébola (EVE), el cual comenzó en diciembre de 2013 en la República de Guinea. El 8 de agosto de 2014, la Organización Mundial de la Salud (OMS) declaró un estado de emergencia de salud pública de importancia internacional.^{1,2}

A diferencia de los primeros brotes, limitados a comunidades aisladas de lugares remotos de África y con cifras de pacientes infectados que no sobrepasaban unos pocos cientos, la actual epidemia que azota al África Occidental ha cobrado la vida de alrededor de 9 000 personas con más de 22 000 infectados en seis países (Guinea, Liberia, Sierra Leona, Nigeria, Senegal y Mali), principalmente en ciudades capitales, y algunos casos aislados han llegado a ciudades de Europa y Estados Unidos.

El genoma del Ébolavirus está constituido solamente por siete genes que codifican unas 10 proteínas, suficientes para desencadenar una enfermedad cuya letalidad varía del 40 al 90 %. Los casos fatales de infección por Ébolavirus están marcados por un fallo catastrófico de las respuestas inmune innata y adaptativa, mediado por proteínas codificadas por el virus, así como por propiedades asociadas a su estructura.

Aunque el curso clínico de la enfermedad es bien conocido, los mecanismos específicos que explican su patogenicidad no han sido completamente delineados. El aislamiento de las cadenas de ADN complementarias y el desarrollo de sistemas

de expresión, han permitido el estudio de los productos génicos del Ébolavirus, bajo condiciones menos restrictivas y ha facilitado la comprensión de los mecanismos del daño celular inducido.

En este trabajo se hace una revisión de la biología molecular del Ébolavirus y algunos de los mecanismos de evasión de la respuesta inmune que explican, en parte, su patogenicia.

DESARROLLO

La familia *Filoviridae* está constituida por tres géneros: Marburgvirus, Ébolavirus, y el recientemente identificado Cuevavirus. Dentro del género Ébolavirus se encuentran cinco especies: Zaire, Sudán, Bundibugyo, Bosque Tai y Reston. Los Filovirus fueron identificados por primera vez como agentes causantes de un síndrome de enfermedad hemorrágica en Marburg, Alemania, en 1967. Nueve años después, los dos primeros Ébolavirus fueron descritos en la República Democrática del Congo (antiguo Zaire) y Sudán. Desde entonces más de 30 brotes epidémicos de EVE han infectado a miles de personas, con una tasa de fatalidad media cercana al 65 % en humanos.¹

Ciclo vital

Las partículas del Ébola son filamentosas, cubiertas y contienen un genoma constituido por ARN de cadena simple y sentido negativo (figura 1). Aunque inicialmente el Ébola ataca a macrófagos y células dendríticas, es capaz de infectar a casi todos los tipos celulares con excepción de los linfocitos.³

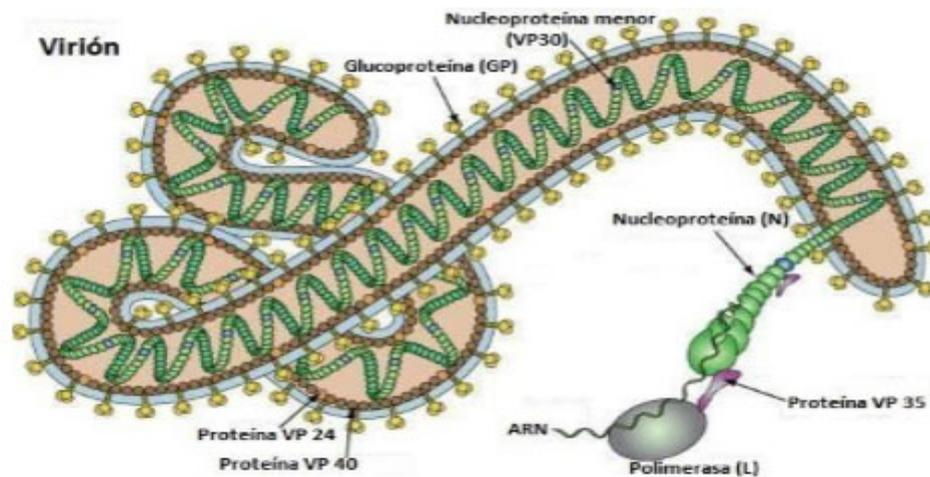


Fig. 1. Estructura molecular del Ébolavirus. (Tomado de: viralzone.expasy.org).

Varias proteínas expresadas por las células en sus membranas plasmáticas han sido responsabilizadas con la unión a las partículas virales, entre ellas, la lectinas tipo-C, integrinas, TIM-1 y Axl.⁴

Una vez unida a la membrana plasmática, la glucoproteína de la envoltura viral induce la ingestión de la partícula por macropinocitosis. Este proceso parece ser dependiente de la acción de moléculas de la superficie celular, incluidas las TIM-1 y Axl.⁵

Después de la incorporación de las partículas virales a los endosomas, estos pasan a ser endosomas tardíos al interactuar con lisosomas y disminuir su pH; en estas condiciones, la glucoproteína de la envoltura viral es degradada por enzimas lisosomales tipo cisteínproteasas (catepsina B y L) y de esta forma se eliminan regiones altamente glucosiladas de estas moléculas y se exponen dominios previamente inaccesibles que permiten la unión al receptor *Niemann-Pick C1* (NPC1).⁶ Aunque la evidencia actual sugiere que la unión al receptor NPC1 puede ser suficiente para producir la fusión de las membranas viral y celular, todavía no se ha establecido si proteínas adicionales del huésped son necesarias (ambiente reductor, alteraciones del pH, actividad adicional de proteasas).^{6,7}

Una vez que las membranas viral y celular se fusionan, la partícula viral se incorpora descubierta al citoplasma y su genoma de sentido negativo se transcribe al ARNm con asistencia de las proteínas virales asociadas a la nucleocápside. El genoma viral consiste en siete genes (figura 2) (VP24, nucleoproteína, VP30, VP35, proteína de la matriz o VP40, ARN polimerasa dependiente de ARN o polimerasa L, y la glucoproteína) que se transcribe al ARNm, y resulta en la producción de al menos diez proteínas. La transcripción del genoma se realiza a través de un complejo formado por VP30, VP35 y la polimerasa L, unido al genoma cubierto de la nucleoproteína.^{8,9}

Genoma del Virus Ebola

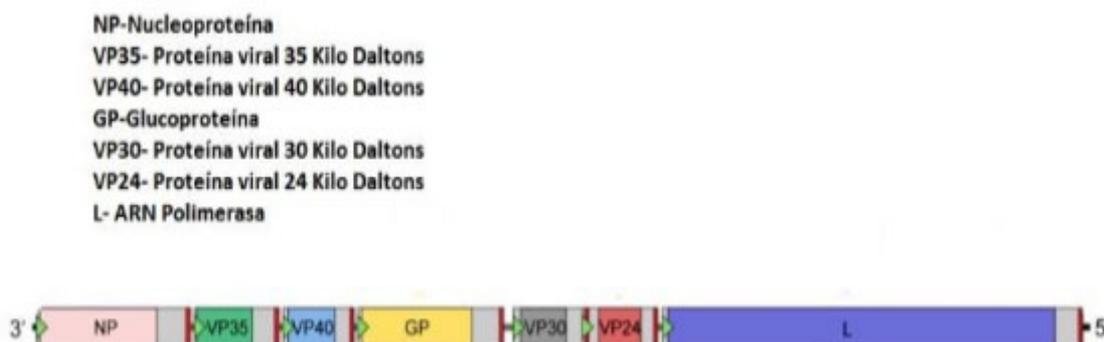


Fig. 2. Genoma del Ébolavirus. (Tomado de: viralzone.expasy.org).

La fosforilación de VP30 conduce a su disociación del complejo VP35/L y es la señal para cambiar de transcripción a replicación.⁹ A continuación, el genoma viral es replicado y cubierto por NP, VP24, VP30 y VP35. Durante el ensamblaje, la ARN polimerasa se asocia con el complejo de la ribonucleoproteína a través de su interacción con VP35. La ribonucleoproteína se asocia entonces con la proteína de la matriz VP40 y las partículas virales emergen a través de la membrana plasmática dentro de regiones de microdominios de balsas lipídicas.¹⁰

Evasión de la inmunidad

- *Mimetismo apoptótico*

Las partículas de Ébolavirus pueden alcanzar una micra de longitud, lo que hace muy difícil que la entrada del virus se produzca a través de las vías clásicas de endocitosis mediada por clatrina o caveolina, lo que justifica los requerimientos de macropinocitosis. Particularmente interesante resulta el incremento en la presencia de fosfatidilserina (FS) en la superficie de la envoltura viral que puede estar presente.¹¹

La fosfatidilserina es un lípido que se encuentra primariamente en la capa interna de las membranas celulares y a través de los mecanismos de muerte celular por apoptosis es expuesta al exterior como parte de los cuerpos apoptóticos. Esta señal es captada por las células vecinas, incluyendo las fagocíticas, que comienzan a ingerir los detritos vía macropinocitosis en un proceso mediado por moléculas TIM-1 y Axl, sin inducir una respuesta inflamatoria.¹²

Lo anterior sugiere la posibilidad de que, de forma similar a otros virus grandes como los *vacciniavirus*, el Ébola puede inducir la ingestión por macropinocitosis al semejar cuerpos apoptóticos a las células fagocíticas. Este "mimetismo apoptótico" es antiinflamatorio e induce una incorporación rápida de virus grandes a la célula y evita de esta forma los factores de inmunidad humoral y celular.¹³

- *Anulación de la alarma del interferón (IFN)*

La evasión de la respuesta de la inmunidad innata es de tal importancia para los virus, que han desarrollado evolutivamente mecanismos para eludir esta respuesta. El Ébola es capaz de inhibir las respuestas de IFN tipo I y II en las células diana, especialmente macrófagos, monocitos y células dendríticas. El resultado final es un defecto en la maduración de las células dendríticas y la disminución de la activación y proliferación de las células T, que junto con la apoptosis conduce a la linfopenia característica de la EVE.

Estudios en modelos animales y cultivo de tejidos sugieren que, tanto la patogenia como el antagonismo del IFN, están relacionados con VP35 y VP24.^{14,15}

VP35 es un cofactor para la ARN polimerasa en la síntesis de ARN y se ha propuesto que actúa uniendo a la polimerasa L a NP. Además, desempeña una función prominente en la inhibición del IFN α y β a través de múltiples mecanismos.

RIG-I y MDA-5 son receptores de reconocimiento de patógenos del sistema innato que detectan ARN citosólicos extraños. RIG-1 reconoce 5'-trifosfatos de extremos romos, y MDA-5 detecta ARN largos de doble cadena. A través de ambas vías se activa el IPS-1, y subsecuentemente, NF- κ B, IRF-3 e IRF-7, lo que resulta en la expresión de IFN tipo-I y citocinas proinflamatorias. Experimentos anteriores determinaron que VP35 interfería con la vía del RIG-I, al impedir la fosforilación del IRF-3. Posteriormente se demostró que interactuaba con el dominio N-terminal de la cinasa IKK ϵ , lo que impide la fosforilación de IRF-3 y actúa como un sustrato señuelo para la cinasas IKK ϵ /TBK-1. Además, la unión de VP35 con IKK ϵ impide su interacción con otras proteínas, incluidos IRF-7 y IPS-1. El resultado neto de estas interacciones es la inhibición de la inducción de genes por el promotor de respuesta al IFN.¹⁶

Estudios bioquímicos y estructurales demostraron que VP35 contiene un dominio C-terminal inhibidor del IFN (IID) con dos secuencias de aminoácidos básicos. Una de ellas se centra en el residuo R312 y participa en la unión al ARN de doble cadena, de manera muy similar a como lo hace RIG-I. Observaciones de estructuras de ARN unidos y no unidos revelaron que VP35 es capaz de unirse, tanto al eje fosfato como al extremo de la molécula de ARN, en forma de dímeros.

Las mutaciones de los aminoácidos básicos centrados en R312 anulan la unión al ARN de doble cadena, y los análisis estructurales sugieren que tales mutaciones afectan la dimerización de VP35. Algunos experimentos que utilizan virus recombinantes que incorporan VP35_{R312A} (mutante) muestran atenuación de la virulencia y disminución, tanto del crecimiento viral como del antagonismo al IFN, que sugiere que la unión de IID a los ARN de doble cadena y la dimerización de VP35, desempeñan funciones clave en el ciclo de vida viral, así como en la patogénesis.¹⁷

Mientras la inmunidad innata está intacta, la respuesta del hospedero a la infección viral causa la secreción de IFN con el objetivo de provocar respuestas antivirales en las células vecinas, estimular la respuesta de las células hematopoyéticas e incrementar la presentación de antígenos. El IFN secretado se une a receptores tipo I y II, e induce señales vía proteínas adaptadoras que resultan en la fosforilación y subsecuente dimerización de las proteínas transductoras de señales y activadoras de la transcripción (STAT). Posterior a ser dimerizadas y fosforiladas, estas proteínas son transportadas al núcleo donde se unen a los elementos de respuesta al IFN e inducen la expresión de genes.¹⁸ Debido a la importancia de estas vías en la inducción de la expresión de genes antivirales, es común que los virus desarrollen mecanismos para contrarrestarlas. Por ejemplo, el virus del dengue bloquea la fosforilación de STAT-1 y actúa vía activación de las proteasas para degradar a las STAT-2.¹⁹

En experimentos iniciales con el Ébola se encontró que el virus no solo bloqueaba la producción de IFN, sino que también inhibía la respuesta celular que normalmente acompaña la vía de señalización del IFN α/β (Tipo I) e IFN γ (Tipo II). Este bloqueo de señales estuvo asociado con la expresión de la proteína VP24 y posteriormente se demostró que evitaba la acumulación de nuclear de STAT-1, que participa en ambos tipos de cascadas de propagación de señales, tipo I (dímero fosforilado STAT-1/STAT-2) y tipo II (dímero fosforilado STAT-1/STAT-1).¹⁸

Por lo tanto, el Ébola no solo disminuye la alarma que produce el IFN, sino también inhibe la respuesta a la alarma después que la primera ha sido escuchada. Esta actuación coordinada entre VP35 y VP24, conduce al antagonismo altamente efectivo de la respuesta inmune innata mediada por IFN.

- Deterioro de la respuesta de ARN inhibitorios

La infección de células por virus ARN activa vías de síntesis de ARN inhibitorios específicos en los hospederos, que silencian la expresión de genes virales al fragmentar el ARN viral en pequeños ARN inhibitorios (siRNA) que se unen y bloquean transcritos de ARN complementarios.

De forma similar a las tácticas para la inhibición del IFN, el Ébola emplea dos proteínas virales diferentes para alterar la respuesta innata de ARN inhibitorio en mamíferos (VP35 y VP30). Esta teoría es apoyada por experimentos previos que encontraron que VP35 interactúa con dos proteínas (TRBP y PACT), componentes del complejo RISC - siRNA y parece mediar la actividad supresora de ARN inhibitorio. De manera interesante, otra proteína del Ébola, VP30, también se une al complejo del RISC y actúa como supresor de la actividad de ARN inhibitorio.²⁰

- Secuestro de funciones celulares del hospedero (Traducción)

Las células del hospedero frenan la infección viral al disminuir la síntesis celular de proteínas, en un esfuerzo por evitar o retardar la replicación viral. Esto se logra a través de una proteína cinasa dependiente de ARN de doble cadena (PKR). A través

de su unión al ARN de doble cadena y su consecuente activación, PKR fosforila la subunidad α del factor-2 de iniciación de la traducción en eucariontes (eIF - 2a). Se ha demostrado que la expresión de la proteína VP35 bloquea la actividad de PKR y estimula la expresión de proteínas luego que las células son tratadas con IFN tipo I. Datos recientes sugieren que este efecto es mediado por el dominio VP35 IID.²¹

- El plan de liberación de la teterina

La teterina es un factor celular inducible por el IFN que se ha comprobado que evita la gemación de los virus envueltos a través de la membrana plasmática. Contiene dos dominios anclados a la membrana que se supone media la inhibición de la gemación al anclar las membranas viral y celular. La teterina fue descrita por primera vez como antagonista de los retrovirus al impedir la gemación de las partículas del VIH-1. Estos estudios demostraron que la gemación de partículas virales era recuperada por la expresión de VIH-1 Vpu.²²

Cuando las partículas virales del Ébola fueron ensambladas con VP40 en presencia de sobreexpresión de teterina, se observó una disminución similar de la liberación de partículas virales, mientras que una expresión simultánea de VIH-1 Vpu restableció la liberación de partículas virales.²²

Experimentos recientes sugieren que residuos de aminoácidos dentro del dominio transmembranal de la glucoproteína del Ébola contribuyen al antagonismo de la teterina.²³

Entre los mecanismos propuestos para el antagonismo GP-teterina se encuentran: alteración de la integridad de la teterina; interferencia estérica de la teterina en su unión con las membranas viral y celular; y exclusión de la teterina de la región de la membrana plasmática a través de la cual las partículas virales emergen.²⁴

- El hospedero contraataca: bloqueo de entradas y salidas

La relación entre replicación viral eficiente y patogénesis es un equilibrio delicado que, cuando se pierde, puede conducir a la muerte del hospedero. Es por eso que los virus han evolucionado para evadir las respuestas inmunes de una forma selectiva y regulada que facilite una replicación viral controlada y una transmisión de la progenie.

Existen al menos dos genes inducibles por el IFN que, hasta el momento, no parecen ser contrarrestados durante la infección por Ébolavirus y sus productos conducen a un descenso en la infectividad. El primero sería el de las proteínas transmembranales inducidas por IFN (IFITMs) que constituyen factores de restricción ampliamente activos, descritos por primera vez como inhibidores de la influenza A, y actúan frente a virus envueltos que incluyen el Ébola y el Marburg.²⁵

Las IFITMs se encuentran en múltiples superficies celulares acompañando las vías de incorporación de los virus a través de las membranas donde bloquean su entrada. Se han propuesto varios mecanismos antivirales, incluyendo la acumulación de colesterol, la inhibición de la fusión de las vesículas que contienen virus en cuerpos multivesiculares, cambios en la dinámica del flujo de membranas, o alteraciones en la curvatura de las membranas (que restringen la capacidad de fusión entre las membranas viral y celular).²⁶

Experimentos recientes con IFITM-3 y virus influenza A, sugieren que su actuación sería bloquear una etapa, aun no definida, entre la hemifusión de las membranas viral y celular y la formación del poro de fusión. De esta forma, IFITM-3 permite

que se mezclen los lípidos de las membranas viral y celular, pero no que se forme completamente el poro de fusión, lo que evita que el contenido de ribonucleoproteína viral pueda acceder al citoplasma, lo que bloquea la infección.²⁷

El otro gen inducido por el IFN que bloquea la infección por Ébola es ISG-15, un gen antiviral cuyo producto, cuando se conjuga con una proteína diana, causa alteraciones en su actividad, localización celular o estabilidad. Se ha demostrado que afecta a muchos virus incluyendo influenza A/B, hepatitis B, VIH-1, herpes simple tipo 1, citomegalovirus, y Ébola.²⁸

En el caso del Ébola, la actividad antiviral de ISG-15 estuvo asociada a la disrupción de la gemación mediada por VP40, en ensayos con partículas virales semejantes al Ébola. La gemación de este virus normalmente ocurre por ubiquitinación de VP40, mediada por Nedd4. Dos grupos encontraron que ISG-15 interactúa con Nedd4 e impide la ubiquitinación de VP40, y conduce a una gemación defectuosa de las partículas virales.²⁹

Todas estas investigaciones sugieren que varios genes estimulados por el IFN y con potente efecto antiviral, son blanco de los mecanismos desarrollados evolutivamente por el Ébola para regular su entrada y salida de las células del hospedero.

- *Regulando la balanza de la respuesta inmune*

Una paradoja en la enfermedad por virus Ébola es que, tanto la supervivencia como la mortalidad, están ligadas a la generación de una potente repuesta inmune en el hospedero. Los pacientes que sobreviven, así como los asintomáticos, tienen niveles elevados de células T y una respuesta temprana de las células T citotóxicas.³⁰

La captación rápida del Ébolavirus por los macrófagos y células dendríticas no solo resulta en su translocación a los tejidos periféricos y linfoides, sino también explica el déficit en los no-supervivientes, de secreción de citocinas necesarias inmediatamente después de la exposición para el control de la infección. Experimentos que utilizan macrófagos derivados de monocitos cultivados *in vitro* mostraron que la infección por Ébola inhibe la secreción de factor de necrosis tumoral α (FNT- α), interleucinas (IL) 6 e IL-10, consistentes con hallazgos asociados a desenlaces fatales de la enfermedad. Conjuntamente, las células dendríticas expuestas, ya sea a virus vivos o inactivados, perdieron la capacidad de expresar moléculas imprescindibles para la coestimulación de las células T, lo que resulta en inhibición de la proliferación de las células T CD4.

En estudios con muestras de sangre obtenida de sujetos humanos infectados, se encontró que las repuestas de IL-6 y FNT- α al inicio de la enfermedad, fueron superiores en los sujetos que sobrevivieron con respecto a los que no lo hicieron. En etapas posteriores, la IL-6 se mantuvo más elevada en supervivientes, pero la diferencia con los no-supervivientes no fue tan dramática debido a incrementos en el segundo grupo. En contraste con la IL-6, el FNT- α en los no-supervivientes fue mucho mayor que en supervivientes en etapas avanzadas de la enfermedad. Es interesante notar que la IL-10 puede ser crítica en la modulación de esta respuesta.

Aunque la IL-10 estuvo ligeramente elevada en supervivientes, probablemente como un mecanismo de retroalimentación para controlar la respuesta inflamatoria, el incremento fue de corta duración, como es de esperar una vez que las citocinas

han regresado a los niveles normales. De cualquier forma, la IL-6 estuvo de 6 a 10 veces más elevada en los casos fatales y permaneció elevada hasta la muerte. Además, la activación de monocitos/macrófagos medida por los niveles de neopterinina fue de 2 a 10 veces mayor y consistentemente elevada en los casos fatales, lo que indica una activación inmune desregulada.³¹

Aunque estudios más recientes muestran diferentes patrones para citocinas específicas³⁰, existe una tendencia general de los supervivientes a tener una respuesta pro y antiinflamatoria balanceada de corta duración; y los no-supervivientes, una tardía y prolongada respuesta inflamatoria que conduce a la "tormenta de citocinas".

- *Camuflaje y desorientación: evitando la respuesta inmune adaptativa*

Una consecuencia fatal e irreversible de la destrucción de las células hematopoyéticas por el Ébola es la disminución de la presentación de antígenos. Este resultado es consistente con la observación de pobre respuesta de la inmunoglobulina G (IgG) en infecciones fatales, mientras que niveles elevados de IgG están asociados con la supervivencia.

En el Ébola han evolucionado múltiples mecanismos que permiten eludir la efectividad de la respuesta humoral: partículas virales alargadas y filamentosas que contienen glucoproteínas (GP) estables, representan un obstáculo potencial para la eficiente inhibición por anticuerpos; mientras que el plegamiento de los filamentos virales puede crear "bolsones" de glucoproteína aún más inaccesibles para la unión de anticuerpos. Además, la fuerte glucosilación en el dominio semejante a la mucina de la glucoproteína puede limitar el acceso a epítomos claves para la neutralización eficiente.

El acceso a los anticuerpos está restringido, además, por la rápida ingestión por macropinocitosis y la unión a un receptor intracelular. Adicionalmente, el virus oculta el dominio de unión al receptor debajo de una cubierta glucídica, que solo es expuesto y se une al receptor luego de su eliminación mediada por catepsinas.³²

Además de la GP anclada a la membrana, el gen GP del Ébola codifica una glucoproteína de secreción (sGP) de 364 aminoácidos que resulta idéntica a la GP en sus 205 residuos N-terminal, que es secretada por las células infectadas pero no está presente en los viriones.

La transcripción alternativa del gen GP, sorprendentemente, no es la estructura trimérica de GP asociada a la membrana, sino una GP de secreción dimérica. El balance de la expresión de estas dos proteínas es gobernado por la alternancia de la polimerasa en sitios de edición del ARN. Esto ha conducido a la especulación de que sGP actúa modulando o desorientando la respuesta inmune del hospedero.³³

La mejor evidencia para esta hipótesis proviene de un artículo que demuestra en ratones, que la sGP promueve la evasión inmune al servir de señuelo de GP para los anticuerpos y presenta un epítipo alternativo no neutralizante a la respuesta inmune humoral. Extraordinariamente, la evidencia sugiere que alrededor del 80 % de la expresión del gen GP es sGP. Esto puede ser debido, en parte, a presiones de selección para balancear la toxicidad debido a los efectos de GP y sus requerimientos en las partículas virales y la evasión de la respuesta inmune del hospedero dirigida contra GP.³⁴

En conjunto, estos datos sugieren que la expresión por el Ébola de sGP y GP es un proceso regulado rigurosamente, en el cual la protección contra la inmunidad y la producción de partículas virales son balanceadas a través de la edición de ARN.

Además de los mecanismos de evasión inmune a través de las características estructurales del virión y la glucoproteína, esta última posee propiedades inmunosupresoras directas.³⁵

La glucoproteína secretada interactúa con los neutrófilos y distorsiona la unión entre Fcγ RIIIIB y CR3. Además, la GP transmembranal, GP2, tiene semejanza estructural con glucoproteínas retrovirales que poseen un segmento peptídico inmunosupresor que impide la activación y proliferación de los linfocitos.³⁶

Los estudios que miden la respuesta *in vivo* de células T a antígenos específicos, son limitados por la dificultad de obtener y preservar muestras de linfocitos viables de sujetos infectados y supervivientes del Ébola. Sin embargo, algunos estudios sugieren que durante el curso de la enfermedad hay un decrecimiento dramático del número absoluto de células T debido a una apoptosis concomitante. Esto afecta, tanto la eliminación directa (mediada por células T) de las células infectadas de virus, como las respuestas antivirales humorales dependientes de células T.³⁷

En su conjunto, múltiples investigaciones sugieren una compleja interrelación entre factores pro y antiinflamatorios, que resultan en una respuesta inmune balanceada y supervivencia del hospedero o desregulación y muerte.

CONCLUSIONES

La infección fatal por Ébola está marcada por un fallo catastrófico de la inmunidad innata y adaptativa, que es mediado por proteínas codificadas por el virus, así como propiedades asociadas con la estructura viral.

En el centro de la desregulación inducida por el Ébola se encuentra una actuación temprana y coordinada de las proteínas VP24, VP30 y VP35, que conduce a niveles elevados de replicación viral, a una inapropiada temporización de la cascada de liberación de linfocinas y la muerte, tanto de células presentadoras de antígenos, como células efectoras.

La pobre activación de la respuesta inmune adaptativa es, además, complicada con la inducción de la apoptosis de linfocitos y los mecanismos de evasión de anticuerpos.

Desde su identificación, hace casi 40 años, el genoma del Ébola ha mostrado una extraordinaria estabilidad, rasgo inusual en virus ARN con una polimerasa propensa a errores. Esto sugiere que el virus se encuentra altamente adaptado a su reservorio. Algunas hipótesis sugieren que factores de restricción adicionales del hospedero pueden jugar un papel en la limitación de la patogenicidad en las especies hospederas naturales y regularían el balance entre inmunidad y replicación viral sostenible.

Fuera de este reservorio, los brotes epidémicos persistentes como el actual en África Occidental, pueden conducir a las adaptaciones que han sido observadas longitudinalmente en la patogenicidad alterada mientras el virus se adapta a los humanos.

Por demás, los complejos mecanismos del Ébola para regular selectivamente la respuesta inmune y su patogenicidad variable en diferentes especies hospederas, convierten a este virus en un adversario formidable, así como de un notable interés científico.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Hartman AL, Towner JS, Nichol ST. Ebola and Marburg hemorrhagic fever. *Clin Lab Med.* 2010;30, 161-77.
2. Baize S, Pannetier D, Oestereich L, Rieger T, Koivogui L, Magassouba N, et al. Emergence of Zaire Ebola virus disease in Guinea. *N Engl J Med.* 2014 Oct; 371(15):1418-25. doi:10.1056/NEJMoa1404505.
3. Wool-Lewis RJ, Bates P. Characterization of Ebola virus entry by using pseudotyped viruses: identification of receptor-deficient cell lines. *J Virol.* 1998;72:3155-60.
4. Álvarez CP, Lasala F, Carrillo J, Muñiz O, Corbi AL, Delgado R. C-type lectins DC-SIGN and L-SIGN mediate cellular entry by Ebola virus in cis and in trans. *J Virol.* 2002;76, 6841-44.
5. Aleksandrowicz P, Marzi A, Biedenkopf N, Beimforde N, Becker S, Hoenen T, et al. Ebola virus enters host cells by macropinocytosis and clathrin-mediated endocytosis. *J Infect Dis.* 2011 Nov;204 (Suppl 3):S957-67. doi:10.1093/infdis/jir326.
6. Misasi J, Chandran K, Yang JY, Considine B, Filone CM, Côté M, et al. Filoviruses require endosomal cysteine proteases for entry but exhibit distinct protease preferences. *J Virol.* 2012 Mar;86(6):3284-92. doi:10.1128/JVI.06346-11.
7. Brecher M, Schornberg KL, Delos SE, Fusco ML, Saphire EO, White JM. Cathepsin cleavage potentiates the Ebola virus glycoprotein to undergo a subsequent fusion-relevant conformational change. *J Virol.* 2012 Jan;86(1):364-72. doi:10.1128/JVI.05708-11.
8. Bharat TA, Noda T, Riches JD, Kraehling V, Kolesnikova L, Becker S, et al. Structural dissection of Ebola virus and its assembly determinants using cryo-electron tomography. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2012 Mar 13;109(11):4275-80. doi:10.1073/pnas.1120453109.
9. Biedenkopf N, Hartlieb B, Hoenen T, Becker S. Phosphorylation of Ebola virus VP30 influences the composition of the viral nucleocapsid complex: impact on viral transcription and replication. *J Biol Chem.* 2013 Apr 19;288(16):11165-74. doi:10.1074/jbc.M113.461285.
10. Stahelin RV. Membrane binding and bending in Ebola VP40 assembly and egress. *Front Microbiol.* 2014 Jun 18;5:300. doi: 10.3389/fmicb.2014.00300.
11. Jemielity S, Wang JJ, Chan YK, Ahmed AA, Li W, Monahan S, et al. TIM-family proteins promote infection of multiple enveloped viruses through virion-associated phosphatidylserine. *PLoS Pathog.* 2013 Mar;9(3):e1003232. doi:10.1371/journal.ppat.1003232.
12. Biermann M, Maueroeder C, Brauner JM, Chaurio R, Janko C, Herrmann M, et al. Surface code-biophysical signals for apoptotic cell clearance. *Phys Biol.* 2013 Dec;10(6):065007. doi:10.1088/1478-3975/10/6/065007.

13. Mercer J, Helenius A. Vaccinia virus uses macropinocytosis and apoptotic mimicry to enter host cells. *Science*. 2008 Apr 25;320(5875):531-5. doi: 10.1126/science.1155164.
14. Cilloniz C, Ebihara H, Ni C, Neumann G, Korth MJ, Kelly SM, et al. Functional genomics reveals the induction of inflammatory response and metalloproteinase gene expression during lethal Ebola virus infection. *J Virol*. 2011 Sep;85(17):9060-8. doi:10.1128/JVI.00659-11.
15. Mateo M, Reid SP, Leung LW, Basler CF, Volchkov VE. Ebolavirus VP24 binding to karyopherins is required for inhibition of interferon signaling. *J Virol*. 2010 Jan;84(2):1169-75. doi:10.1128/JVI.01372-09.
16. Chiang JJ, Davis ME, Gack MU. Regulation of RIG-I-like receptor signaling by host and viral proteins. *Cytokine Growth Factor Rev*. 2014 Oct;25(5):491-505. doi: 10.1016/j.cytogfr.2014.06.005.
17. Kimberlin CR, Bornholdt ZA, Li S, Woods VL, MacRae IJ, Saphire EO. Ebolavirus VP35 uses a bimodal strategy to bind dsRNA for innate immune suppression. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2010 Jan 5;107(1):314-9. doi:10.1073/pnas.0910547107.
18. Ivashkiv LB, Donlin LT. Regulation of type I interferon responses. *Nat Rev Immunol*. 2014 Jan;14(1):36-49. doi:10.1038/nri3581.
19. Green AM, Beatty PR, Hadjilaou A, Harris E. Innate immunity to dengue virus infection and subversion of antiviral responses. *J Mol Biol*. 2014 Mar 20;426(6):1148-60. doi:10.1016/j.jmb.2013.11.023.
20. Fabozzi G, Nabel CS, Dolan MA, Sullivan NJ. Ebolavirus proteins suppress the effects of small interfering RNA by direct interaction with the mammalian RNA interference pathway. *J Virol*. 2011 Mar;85(6):2512-23. doi:10.1128/JVI.01160-10.
21. Schümann M, Gantke T, Mühlberger E. Ebola virus VP35 antagonizes PKR activity through its C-terminal interferon inhibitory domain. *J Virol*. 2009 Sep;83(17):8993-7. doi:10.1128/JVI.00523-09.
22. Neil SJ, Zang T, Bieniasz PD. Tetherin inhibits retrovirus release and is antagonized by HIV-1 Vpu. *Nature*. 2008 Jan 24;451(7177):425-30. doi: 10.1038/nature06553.
23. Gnirb K, Fiedler M, Krämer-Kühl A, Bolduan S, Mittler E, Becker S, et al. Analysis of determinants in filovirus glycoproteins required for tetherin antagonism. *Viruses*. 2014 Apr 9;6(4):1654-71. doi:10.3390/v6041654.
24. Kaletsky RL, Francica JR, Agrawal-Gamse C, Bates P. Tetherin-mediated restriction of filovirus budding is antagonized by the Ebola glycoprotein. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2009 Feb 24;106(8):2886-91. doi:10.1073/pnas.0811014106.
25. Huang IC, Bailey CC, Weyer JL, Radoshitzky SR, Becker MM, Chiang JJ, et al. Distinct patterns of IFITM-mediated restriction of filoviruses, SARS coronavirus, and influenza A virus. *PLoS Pathog*. 2011 Jan 6;7(1):e1001258. doi:10.1371/journal.ppat.1001258.
26. Perreira JM, Chin CR, Feeley EM, Brass AL. IFITMs restrict the replication of multiple pathogenic viruses. *J Mol Biol*. 2013 Dec 13;425(24):4937-55. doi: 10.1016/j.jmb.2013.09.024.
27. Desai TM, Marin M, Chin CR, Savidis G, Brass AL, Melikyan GB. IFITM3 Restricts Influenza A Virus Entry by Blocking the Formation of Fusion Pores following Virus-Endosome Hemifusion. *PLoS Pathog*. 2014 Apr 3;10(4):e1004048. doi:10.1371/journal.ppat.1004048.

28. Harty RN, Pitha PM, Okumura A. Antiviral activity of innate immune protein ISG15. *J Innate Immun.* 2009;1(5):397-404. doi: 10.1159/000226245.
29. Liu Y, Harty RN. Viral and host proteins that modulate filovirus budding. *Future Virol.* 2010 Jul 1;5(4):481-491.
30. Wauquier N, Becquart P, Padilla C, Baize S, Leroy EM. Human Fatal Zaire Ebola Virus Infection Is Associated with an Aberrant Innate Immunity and with Massive Lymphocyte Apoptosis. *PLoS Negl Trop Dis.* 2010 Oct 5;4(10). pii: e837. doi: 10.1371/journal.pntd.0000837.
31. Baize S, Leroy EM, Georges AJ, Georges-Courbot MC, Capron M, Bedjabaga I, et al. Inflammatory responses in Ebola virus-infected patients. *Clin Exp Immunol.* 2002 Apr;128(1):163-8.
32. Martinez MJ, Volchkova VA, Raoul H, Alazard-Dany N, Reynard O, Volchkov VE. Role of VP30 phosphorylation in the Ebola virus replication cycle. *J Infect Dis.* 2011 Nov;204 Suppl 3:S934-40. doi:10.1093/infdis/jir320.
33. Mohan GS, Li W, Ye L, Compans RW, Yang C. Antigenic subversion: a novel mechanism of host immune evasion by Ebola virus. *PLoS Pathog.* 2012;8(12):e1003065. doi: 10.1371/journal.ppat.1003065.
34. Volchkova VA, Dolnik O, Martinez MJ, Reynard O, Volchkov VE. Genomic RNA editing and its impact on Ebola virus adaptation during serial passages in cell culture and infection of guinea pigs. *J Infect Dis.* 2011 Nov;204 Suppl 3:S941-6. doi: 10.1093/infdis/jir321.
35. Chepurinov AA, Tuzova MN, Ternovoy VA, Chernukhin IV. Suppressive effect of Ebola virus on T cell proliferation in vitro is provided by a 125-kDa GP viral protein. *Immunol Lett.* 1999 Jun 1;68(2-3):257-61.
36. Yaddanapudi K, Palacios G, Towner JS, Chen I, Sariol CA, Nichol ST, et al. Implication of a retrovirus-like glycoprotein peptide in the immunopathogenesis of Ebola and Marburg viruses. *FASEB J.* 2006 Dec;20(14):2519-30.
37. Sanchez AJ, Lukwiya M, Bausch D, Mahanty S, Sanchez AJ, Wagoner KD, et al. Analysis of human peripheral blood samples from fatal and nonfatal cases of Ebola (Sudan) hemorrhagic fever: cellular responses, virus load, and nitric oxide levels. *J Virol.* 2004 Oct;78(19):10370-7.

Recibido: febrero 23, 2015.

Aceptado: junio 08, 2015.

Dr. Pablo Ricardo Betancourt Álvarez . Universidad de Ciencias Médicas "Carlos J. Finlay". Camagüey.

E-mail: pabloricardoba@gmail.com