

# PATOGÉNESIS DE DENGUE: CONSIDERACIONES MOLECULARES

PATHOGENESIS OF DENGUE: MOLECULAR CONSIDERATIONS

PATOGÊNESE DA DENGUE: CONSIDERAÇÕES MOLECULARES

**EDUARDO JURADO COBEÑA,<sup>1,2</sup> MARY REGATO ARRATA,<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup> Instituto Nacional de Investigación en Salud Pública, Guayaquil, Ecuador

<sup>2</sup> Programa de Biotecnología, Universidad de Guayaquil, Guayaquil, Ecuador

## Resumen

El virus dengue es el arbovirus de mayor importancia a nivel mundial; alrededor de 2 500 millones de personas viven en más de 100 países endémicos. Hasta 50 millones de infecciones ocurren anualmente con 500 000 casos de fiebre hemorrágica por dengue y 22 000 muertes principalmente entre niños. En el Ecuador el dengue es una enfermedad endémica y los cuatro serotipos se encuentran circulando. Este trabajo hace una breve revisión bibliográfica de las bases moleculares de la patogenicidad; así como también de las interacciones inmunológicas moleculares virus-huésped, haciendo énfasis en los hallazgos más importantes tanto a nivel experimental cuanto a nivel clínico, finalmente se discuten las perspectivas del conocimiento actual.

**PALABRAS CLAVE:** dengue, patogenicidad, patología molecular.

## Abstract

The dengue virus is the most important arbovirus worldwide; about 2500 million people live in more than 100 endemic countries. Up to 50 million infections occur annually with 500,000 cases of hemorrhagic fever caused by dengue and 22000 deaths mainly among children. In Ecuador dengue is endemic and the four serotypes are circulating. This paper is a brief bibliographic review of the molecular basis of pathogenicity; as well as of the immunological molecular virus-host interactions, with emphasis on the most important findings both experimentally and clinically. Finally the prospects of current knowledge are discussed.

**KEYWORDS:** dengue, pathogenicity, pathology molecular.

## Resumo

O vírus da dengue é a arbovirose de maior importância ao nível global; aproximadamente 2.500 milhões de pessoas vivem em mais de cem países endêmicos. Até 50 milhões de infecções ocorrem cada ano com 500 mil casos de dengue hemorrágica e 22 000 mortos principalmente entre crianças. No Equador, a dengue é uma doença endêmica e os quatro sorotipos circulam. Este documento faz uma breve revisão da literatura das bases moleculares da patogenicidade; bem como a interações imunológicas moleculares vírus - hospedeiro, com ênfase nos achados mais importantes tanto no nível experimental como no nível clínico, finalmente, se discutem as perspectivas do conhecimento atual.

**PALABRAS-CHAVE:** dengue, patogenicidade, patologia molecular.

## INTRODUCCIÓN

El Dengue es una enfermedad febril aguda causada por los virus dengue (DENVs), transmitidos por mosquitos (*Aedes aegypti*), conformados por cuatro serotipos (DENV 1 al 4), que son miembros de la familia *flaviviridae*, género *Flavivirus*.<sup>1</sup> Hoy el dengue se ubica como la enfermedad viral transmitida por mosquitos más importante del mundo. En los últimos 50 años la incidencia se ha incrementado 30 veces. Antes de 1970 tan solo nueve países habían experimentado casos de fiebre hemorrágica por dengue (FHD); desde entonces el número se ha incrementado en más de cuatro veces y continúa creciendo.<sup>2</sup>

Una publicación reciente, basada en análisis estadísticos de bases de datos de todo el mundo, estimó que el número de infecciones de dengue en el año 2010 a nivel mundial fue 390 millones, de los cuales 96 millones tuvieron una manifestación aparente (algún nivel de manifestación clínica de la enfermedad).<sup>3</sup>

En el Ecuador se encuentran circulando los cuatro serotipos de dengue. El serotipo 1 ingresó en 1988, el serotipo 2 en 1990, el serotipo 4 en 1992 y el serotipo 3 ingresó en el año 2000.<sup>4</sup>

## PECADO ORIGINAL ANTIGÉNICO

Este fenómeno fue descrito por primera vez por el Dr. Thomas Francis, Jr. en 1960 en su artículo "On the Doctrine of Original Antigenic Sin",<sup>5</sup> ya que él y sus colaboradores notaron que cuando un individuo se infectaba secuencialmente con diferentes cepas del virus de influenza, aparentemente cada una de las cepas dejaba su "huella", ya sea ligera o marcadamente. En otras palabras la primera exposición del individuo a una cepa particular del virus determinaba como serían las respuestas subsecuentes y moldeaban el patrón de anticuerpos contra influenza en ese individuo en particular.<sup>6</sup>

Luego Hoskins y colaboradores publicaron un estudio en la década del 70 desafiando la política anual de vacunar a las personas con cepas inactivadas de virus influenza basándose en un análisis de una campaña de vacunación en adolescentes de una escuela y cuatro brotes en el período comprendido entre los años 1970-76, concluyendo que las vacunaciones anuales repetidas no podrían conferir protección contra las epidemias de influenza en el largo plazo (lo que se conoce como 'Paradoja de Hoskins'). Una revisión de dichos estudios reveló, sin embargo,

que la mayoría de los sujetos del estudio no fueron vacunados consistentemente cada año y que gran parte de los datos presentados no fueron, por ende, relevantes al problema de la vacunación anual repetida contra influenza.<sup>7</sup>

El "pecado original antigénico" en infecciones secundarias con DENV es definida como la dominancia de anticuerpos que reaccionan de forma cruzada (o respuestas de células T) tanto a un primer serotipo infectante de DENV (el "antígeno original") como al serotipo infectante actual (serotipo de la infección secundaria).<sup>8</sup> El Incremento Dependiente de Anticuerpos (IDA) de la infección con DENV ha sido propuesto como el mecanismo temprano responsable de provocar Fiebre Hemorrágica de Dengue (FHD) así como también el Síndrome de Choque por Dengue (SCD).

Anticuerpos que reaccionan en forma cruzada contra los serotipos de dengue, que fueron producidos después de una primera infección con un determinado serotipo, oponen al virus de un segundo serotipo infectante para formar complejos inmunes infecciosos que ingresan a través de las células del huésped que tienen el receptor de Fragmento cristalizante (Fc). Esto resulta en un incremento del número de células infectadas y una mayor cantidad de partículas virales replicadas por cada célula infectada. Al final del ciclo de la enfermedad, altos niveles de citoquinas, posiblemente debido a la eliminación de células infectadas por parte de las células T, resulta en permeabilidad vascular, conduciendo a choque y a la muerte.<sup>9</sup>

Los tipos de Receptores de Fragmento cristalizante (FcR) involucrados en la infección mediada por inmuno-complejos DENV-anticuerpo, han sido investigados intensivamente y existe el consenso de que tanto FcRI (expresado en: macrófagos, monocitos, neutrófilos, eosinófilos y CD) como FcRIIa (expresado en macrófagos, neutrófilos, eosinófilos, plaquetas, CD y Células de Langerhans), facilitan la infección mediada por IDA en células blanco naturales de DENV así como en líneas celulares susceptibles a DENV.<sup>10</sup>

## INVASIÓN DEL VIRUS Y CICLO DE VIDA

A pesar de las intensas investigaciones, la identidad de los receptores celulares que median la entrada de los flavivirus y la posterior infección son, hasta ahora, pobremente conocidos;<sup>11</sup> la tabla 1 resume los receptores propuestos a la fecha.

**TABLA 1. PROPIEDADES Y EXPRESIÓN DE LOS DIFERENTES RECEPTORES PARA FLAVIVIRUS PROPUESTOS A LA FECHA**

MOLÉCULA	PROPIEDADES	CÉLULAS	VIRUS
Sulfato de heparina	Glicosaminoglicanos	Mamífero	DENV, JEV, MEV, TBEV, YFV, WNV
GRP78/ HSP70/90	Proteínas de Choque Térmico	Mamífero, mosquito	DENV, JEV
DC-SIGN/L-SIGN	Lectinas Tipo C	Mamífero	DENV, WNV
Receptor de manosa.		Mamífero	DENV
CLEC5A		Mamífero	DENV, JEV
mosGCTL-1		Mosquito	WNV
Receptor Laminina	Receptor de Laminina de alta afinidad	Mamífero, mosquito	DENV, WNV
Prohibitin	Modulador de función mitocondrial y transcripción	Mosquito	DENV
Receptores TIM	Receptores de fosfatidilserina	Mamífero	DENV, WNV, YFV, DENV, WNV, YFV
Receptores TAM		Mamífero	
Integrina $\alpha v \beta 3$	Receptor de Vitronectina	Mamífero	DENV, WNV, JEV
Receptor carroñero Clase B type I	Receptor de lipoproteína de alta densidad	Mamífero	DENV
Claudin-1	Componente de las uniones estrechas (zonula occludens)	Mamífero	DENV
NKp44	Receptor activador de Células Asesinas Naturales (Natural Killer cells)	Mamífero	DENV, WNV

TIM: Dominio de mucina y de inmunoglobulina de células T; TAM: TYRO3, AXL y MER; DENV: Dengue virus; JEV: Virus de encefalitis Japonesa; MEV: Virus de la encefalitis de Murray; TBEV: Virus de encefalitis transmitido por garrapatas; YFV: Virus de fiebre amarilla; WNV: Virus del Nilo occidental.

(Tomado de Perera-Lecoin, Meertens, Carnec, & Amara, 2013)

La partícula de DENV está cubierta con una bicapa lipídica derivada del hospedador. El genoma del DENV es una molécula de ARN de sentido positivo, de once mil bases de largo que codifica diez proteínas virales: 3 proteínas estructurales, Cápside (C), Membrana (M), Envoltura (E), y 7 proteínas no estructurales (NS), NS-1, NS2A, NS2B, NS3, NS4A, NS4B, y NS5. El DENV ingresa a las células del hospedador a través de endocitosis mediada por receptor.

La proteína E en la superficie viral es el principal actor para el acoplamiento viral, endocitosis, remoción de la cubierta viral y fusión con la célula del huésped. La proteína E contiene tres dominios funcionales (I, II y III). El dominio II contiene un péptido de fusión, mientras que el dominio III es considerado como un dominio

de unión que se liga a los receptores celulares y dirige a las partículas de DENV hacia los compartimentos endosomales de la célula del hospedador, donde ocurre la decapsulación viral, liberando al ARN viral en el citoplasma, este ARN tiene sentido positivo (mensajero), por lo que la traducción de proteínas es iniciada inmediatamente.

El ARN genómico viral inicialmente produce una poliproteína ininterrumpida la cual es subsecuentemente cortada en proteínas individuales en el lumen del Retículo Endoplásmico (RE). El corte de pre-cápside M (prM), E, NS1, and NS4B precede a aquellos de las otras NS y C. Las Proteasas de la célula huésped y proteasas virales NS2B-NS3 son requeridas para el corte de las proteínas virales; la NS3 es además una helicasa, la cual se une a NS5 (la ARN polimerasa dependiente de ARN), para habilitar la replicación de ARN viral en los denominados complejos de replicación viral (CR) cerca de las membranas celulares en el citoplasma de la célula.

Las recién sintetizadas proteínas E y PrM se insertan en la membrana del RE, mientras que el nuevo ARN sintetizado se asocia con C para formar la nucleocápside en el lado citosólico de la membrana del RE. Por medio de un mecanismo denominado “budding,” los nucleocápsides se unen con la membrana acoplado a PrM y E, formando las partículas de progenie viral en la cisternae del RE. Esas partículas virales son transportadas al aparato de Golgi y luego son colocadas al interior de la vesícula secretoria hacia la superficie celular para su posterior liberación extracelular. Una furin proteasa localizada en el aparato de Golgi corta prM en un paso final de la replicación viral y la progenie madura de virión secretado extracelularmente contiene a la proteína M.<sup>12</sup>

La mayoría de proteínas de DENV juegan un rol crucial en las funciones biológicas y la patogénesis. La proteína de la Envoltura (E) del DENV es un receptor viral para unión y fusión a las células del huésped tales como monocitos (macrófagos), células dendríticas (CD), células B, células T, basófilos, células endoteliales, células epiteliales y hepatocitos.<sup>13</sup>

### DENGUE, PATOGÉNESIS

Modificadores de la magnitud de la respuesta hacia la enfermedad de dengue incluyen la secuencia específica de dos infecciones con DENV,

el intervalo entre infecciones y las contribuciones por parte del huésped humano; tales como, edad, grupo étnico, enfermedades crónicas y sus características genéticas.<sup>9</sup> Actualmente se ha demostrado que la glicosilación ligada a N afecta los procesos de invasión y replicación del genoma así como el empaquetamiento de viriones de la progenie de DENV,<sup>14</sup>; más sin embargo, las vías de biosíntesis de glicanos no requieren un templete genético. Las estructuras de glicano varían entre especies y son moduladas por factores que pueden diferir grandemente entre los distintos tipos celulares. Esos factores contribuyen a la dificultad de entender la naturaleza complicada de la glicosilación en virus,<sup>12</sup> tabla 2.

**TABLA 2. CÉLULAS HUMANAS Y SUS RECEPTORES INVOLUCRADOS EN LA INVASIÓN CELULAR DEL DENV.**

CÉLULA → RECEPTOR ↓	MONOCITOS	MΦ	CEL. DENDRÍTICAS	CEL. ENDOTELIALES	HEPATOCITOS
Hsp 70					X
Hsp 90					X
GRP 78					X
Sulfato heparina	X	X			X
CD205(Recept manosa)	X	X			
Proteína Asoc a CD14	X	X			
CLEC-5A	X	X			
DC-SIGN (CD209)	X	X	X*		
L-SIGN (CD209L)				(células sinusoidales endotel. del hígado)	

Adaptado de Sun & Kochel, 2013 (\*Células dendríticas inmaduras expresan en mayor cantidad este receptor).

En un estudio en el que se utilizó ratones humanizados como modelo, los investigadores reportaron que en adición a los monocitos/macrófagos, los leucocitos B y T fueron también infectados por DENV y podían ser detectados tan temprano como 24 horas posinfección en el bazo, pero más evidentemente en la médula ósea después de varios días; más sin embargo, no pudieron detectar anticuerpos en dicho modelo.<sup>15</sup>

La inmunopatogénesis de la infección por DENV involucra respuestas inmunes específicas del hospedador, incluyendo activación celu-

lar inmune, la liberación de citoquinas (IL-1β, IL-2, IL-6, IL-10, IL-13, IL-18, factor inhibidor de migración de macrófago, Factor de crecimiento tumoral-β, FNT, e IFNs) y quimioquinas (IL-8, proteína-1 quimio attractante de monocito, y células T), activación del complemento, producción de mediadores inflamatorios y autoinmunidad.

Recientemente, basados en estudios de asociación de genoma completo se ha determinado que los factores genéticos del hospedador, incluyendo los antígenos leucocitarios humanos, receptores de anticuerpos, mediadores inmunes o inflamatorios, moléculas de unión, citoquinas y otros factores inmunorreguladores, están asociados con la patogénesis de las formas severas de dengue (13 y referencias al interior).

La Infección de CD derivadas de monocitos humanos con aislados de DENV clínicos provenientes de un caso no fatal de dengue (Brasil en 2002) y un caso fatal (Paraguay en 2007), que presentó complicaciones viscerales, demostró que la cepa proveniente del caso fatal, exhibió una habilidad de replicación mucho más alta que aquella de la cepa proveniente del caso no fatal. Adicionalmente la cepa del caso fatal provocó el incremento de la producción de citoquinas proinflamatorias así como elevadas tasas de apoptosis celular.<sup>16</sup>

La apoptosis de células mononucleares de sangre periférica (CMSP) fue examinada en estudios de cohorte de niños con FD y FHD. Alrededor de la defervescencia, la apoptosis de CMSP fue alta en niños con FHD en comparación con niños con FD y niños de casos febriles que no eran dengue. Linfocitos T CD8+ comprendieron al menos la mitad del pico apoptótico de CMSP en los niños. Apoptosis fue también encontrada en células T CD8+ específicas de péptido DENV en pacientes con enfermedad aguda. Un mecanismo posible de muerte celular programada en células T es la apoptosis de células presentadoras de antígeno infectadas con DENV (células dendríticas, macrófagos, etc.) los cuales causan apoptosis de células T.<sup>12</sup>

La proteína no estructural NS1 en su forma soluble se une a una variedad de tipos de células las cuales son posibles blancos para infección, incluyendo hepatocitos y células endoteliales; el reclutamiento de la proteína de unión C4b (C4BP, por sus siglas en inglés) que es el regu-

lador primario de la fase líquida de las vías de activación del complemento clásica y de lectina, hacia células infectadas por NS1 podría hacer que la lisis por complemento sea más difícil y permitir una producción de viriones sostenida.<sup>17</sup>

Marinho y colaboradores<sup>18</sup> encontraron que los pacientes infectados con DENV mostraron elevados niveles en el plasma de SC5b-9 (parte del complejo de ataque a membrana o MAC por sus siglas en inglés), especialmente en pacientes con alto riesgo de desarrollar sangrado y extravasación de fluidos. Por lo que sugieren a SC5b-9 como un marcador predictivo.

### CÉLULAS T

La asociación entre el nivel de células T Invariantes Asesinas Naturales (iNKT por sus siglas en inglés) activadas y la severidad de la infección por DENV en datos obtenidos en humanos, sugiere que las células iNKT activadas podrían contribuir a la patogénesis de formas severas de dengue en infecciones secundarias.<sup>19</sup>

Rivino y colaboradores<sup>20</sup> demostraron que las células T CD4+ y CD8+ específicas de DENV se especializan en distintas proteínas virales. Las células T CD4+ se dirigen contra las mismas proteínas que se cree son reconocidas por las células B, las cuales están presentes en la partícula viral (E y CAP) o que son secretadas/presentadas en la superficie de las células infectadas (NS1). En contraste las células T CD8+ reconocen principalmente las proteínas no estructurales NS3 y NS5.

### IMPLICACIONES PARA POLIMORFISMOS DE ANTÍGENO LEUCOCITARIO HUMANO (HLA)

Los epítomos de células T son de ~10-20 aminoácidos de longitud, presentados en la superficie de células presentadoras de antígeno, que se unen al Complejo Mayor de Histocompatibilidad (MHC) en la superficie de células T.<sup>8</sup>

Las células T reconocen los componentes de un epítomo derivado de un patógeno particular presentado por una molécula MHC específica. Por ello un epítomo dado elicitará una respuesta en individuos que expresan moléculas MHC capaces de unirse a ese epítomo en particular. Las moléculas MHC son extremadamente polimórficas, con varios miles de variantes conocidas en humanos. Cada variante está presente con una frecuencia variable, dependiendo del linaje étnico y localidad geográfica.<sup>21</sup>

Weiskopf et al.<sup>22</sup> encontraron que la magnitud de la respuesta de las células T que está asociada con los tipos de Antígeno Leucocitario Humano (HLA por sus siglas en inglés) es lo que se relaciona con la susceptibilidad a la enfermedad.

HLA-A\*24 y -B\*57 fueron positivamente asociadas con pacientes chinos e indios que presentaron dengue con signos de alarma, mientras A\*03 podría ser protectoro en los malasio (habitantes de Malasia). HLA-A\*33 fue además positivamente asociado en pacientes con signos de alarma cuando fueron comparados con aquellos que solo presentaron FD.<sup>23</sup>

Pereira-Monteiro y colaboradores<sup>24</sup> encontraron una asociación entre alelos HLA clase I y FHD en pacientes brasileños. Luego del análisis estadístico respectivo, el alelo HLA-A\*01 se considera un factor de riesgo para desarrollar FHD, mientras que el alelo HLA-A\* 31 sugirió un rol protectoro potencial contra FHD, el cual ellos sugieren debe ser posteriormente investigado.

Un estudio en pacientes venezolanos basado en el análisis de la frecuencia de alelos HLA clase I y II observó una susceptibilidad incrementada a la fiebre del dengue clásico (FD) en pacientes con alelo HLA-B\*57; una susceptibilidad disminuida al desarrollo de la FHD en pacientes HLA-A\*03 y una susceptibilidad incrementada al desarrollo de la FHD en pacientes con HLA-B\*40. Así también, individuos con HLA-DRB1\*15 podrían ser más susceptibles a la infección con DENV.<sup>25</sup>

### IDA, ANTICUERPOS MATERNALES

Observaciones epidemiológicas tempranas reportaron que infantes nacidos de madres inmunes a DENV estuvieron expuestos a un riesgo mayor de desarrollar las formas severas de la enfermedad al momento de ser infectados con cualquiera de los serotipos de DENV. A partir de esas observaciones emergió la hipótesis del Incremento Dependiente de Anticuerpos (IDA) en la severidad de la enfermedad, por ello los anticuerpos maternos adquiridos anti-DENV reaccionan de forma cruzada pero fallan en neutralizar las partículas de DENV, resultando en viremias mayores, lo que está correlacionado con severidad incrementada de la enfermedad.

A pesar de que experimentos tanto In vivo como In vitro han respaldado indirectamente la hipó-

tesis de IDA, evidencia experimental directa ha sido escasa. Por ello un modelo de ratón de IDA, en el que la infección con DENV-2 de ratoncitos jóvenes nacidos de madres inmunes a DENV-1 condujo a muerte temprana, presentando una alta viremia y extravasación incrementada, en comparación con ratoncitos infectados con DENV-2 nacidos de madres que nunca habían sido expuestas al antígeno de DENV (naive) ratifica esta teoría.

En ese modelo (IDA) los autores demostraron el rol de TNF- $\alpha$  en extravasación inducida por DENV de capilares sanguíneos. Más aún, al momento de la infección con una cepa mutante atenuada de DENV-2, los ratoncitos nacidos de madres inmunes a DENV-1 desarrollaron enfermedad letal acompañada con pérdida vascular mientras que los ratoncitos infectados nacidos de madres naive a la infección no mostraron manifestación clínica alguna.<sup>26</sup>

Según Richter y colaboradores<sup>27</sup> los anticuerpos si incrementan la infectividad de partículas inmaduras de DENV en macrófagos.

#### TRATAMIENTO

A pesar de la carencia de evidencia convincente de sus beneficios, ensayos con corticosteroides en dengue continúan, basados en que el desmejoramiento de una respuesta inmune sobre activa, podría prevenir o tratar formas de dengue severas en las que una profunda extravasación de líquidos ocurre. Hay poca evidencia actualmente respecto de los efectos de los corticosteroides sobre los complejísimos mecanismos inmunológicos que ocurren en dengue. Sin embargo, los efectos benéficos aparentes de los corticosteroides administrados durante casos de choque severo no pueden ser ignorados, debido a la alta mortalidad asociada con las formas más severas de dengue.<sup>28</sup>

Luego de hacer un análisis utilizando herramientas bioinformáticas, Senthilvel y colaboradores<sup>29</sup>, encontraron que el flavonoide quercetina extraído a partir de hojas de papaya (*Carica papaya*) tiene actividad anti dengue significativa al formar enlaces hidrógeno con el complejo proteasa NS2B-NS3 de DENV tipo 2.

La inhibición de la entrada del DENV para evitar la infección, es un enfoque atractivo para desarrollar antivirales potentes y

específicos. Dichas moléculas harán efecto sin tener que ingresar a las células, evitando así las limitantes químicas y estructurales que requieren otro tipo de moléculas que sí requieren ingresar a la célula para cumplir su efecto terapéutico.

Así también tendrán la ventaja adicional de potencialmente limitar la hiper activación del sistema inmune del hospedador que conduce a formas severas de dengue<sup>30</sup>. Sin embargo es importante considerar si tales alternativas terapéuticas podrían tener un impacto clínico positivo, ya que el pico de la viremia típicamente ocurre en las primeras 48 horas de enfermedad lo cual es antes de que la mayoría de los pacientes busquen atención médica.<sup>31</sup>

#### PERSPECTIVAS

Khadka y colaboradores triplicaron el número de interacciones reportadas entre proteínas de humanos y proteínas de DENV e identificaron 93 proteínas humanas que no habían sido previamente vinculadas a la replicación de DENV, 60 de las cuales no habían sido relacionadas a ningún otro virus.<sup>32</sup> Investigaciones posteriores para dilucidar la naturaleza molecular compleja de los receptores de DENV son requeridas.<sup>33</sup>

Yeo y colaboradores observaron una amplia regulación negativa de los genes involucrados en la respuesta de defensa del hospedador (tanto innata como adaptativa) en individuos asintomáticos cuando los compararon con individuos con síntomas; así también observaron una sobre regulación selectiva de algunos genes.

Los genes regulados negativamente incluyen: TNF $\alpha$  (TNF), IL8 (quimioquina producida por monocitos estimulados, capaz de causar granulación de neutrófilos), C1S (parte del sistema del complemento), factor B (CFB, vía alterna del complemento), IL2, IL3, IL4, IL5, IL8, IL9, IL10, IL13, CD80, CD28 (la cual es expresada en células T para proveer señal co-estimuladora para activación de células T al momento de unirse a CD80, que también fue regulada negativamente), IL18, MMP8, MMP10, MMP12, MMP15, MMP16 y MMP24 (MMPs son una familia de proteínas que cortan la mayoría de constituyentes de la matriz extracelular).

Los genes sobre regulados incluyen: RANTES (CCL5) que es una quimioquina que recluta

células T, eosinófilos y basófilos al sitio de infección, MIP-1a (CCL3L1/CCL3L3), MIP-1b (CCL4L1), TGF $\beta$  (TGFB) que es una citoquina multifuncional que puede actuar como pro-inflamatoria o anti-inflamatoria dependiendo de su concentración, y TIMP1 la cual es un inhibidor de MMPs. También determinaron que las moléculas presentadoras de antígeno a células T (MHC clase I, encontrada en todas las células nucleadas; y MHC clase II, expresada en células B, macrófagos y células dendríticas), fueron sobre reguladas en los pacientes asintomáticos.<sup>34</sup>

Buscando correlaciones de “virulencia”, muchos investigadores comparan las propiedades genotípicas o fenotípicas de virus que han sido aislados de casos clínicos de enfermedad que varían en severidad. Sin embargo este enfoque ignora la única medida disponible de virulencia viral, la tasa de incidencia de enfermedad sobre el total de infecciones. Para infección secundaria con DENV, esto significa el ratio de enfermedad clínica debida a una cepa viral específica sobre el total de infecciones secundarias de DENV con dicha cepa. La virulencia es reconocida cuando los ratios con virus genotípicamente o fenotípicamente distintos no son los mismos.<sup>35</sup>

La patogénesis de DENV no está bien entendida, parcialmente debido a la ausencia de buenos modelos animales. Las medidas de control del vector son la única arma contra el dengue hoy en día, mientras se espera por mejoras en el diagnóstico, tratamiento clínico y una vacuna efectiva.<sup>36</sup> Con respecto al tema de control del vector, una cepa transgénica del principal vector del DENV, *Aedes aegypti*, designada como OX3604C, fue diseñada por ingeniería genética para que las hembras presenten un fenotipo sin alas.<sup>37</sup>

### CONCLUSIONES

Tomados juntos, estos estudios revelan que las asociaciones entre la genética del hospedador, DENV y las resultantes clínicas son complejas. La pregunta de cuántos genes contribuyen a la susceptibilidad a dengue, como éstos interactúan para causar manifestaciones severas, y el extenso al cual los mecanismos de patogénesis podrían ser genéticamente predichos, permanece desconocido. Todavía es un desafío el identificar epítomos apropiados para vacunas y exploración posterior es necesaria para identificar medicinas candidato específicas.<sup>38</sup>

### AGRADECIMIENTOS

A la Secretaría de Educación Superior, Ciencia, Tecnología e Innovación (SENESCYT) y a la comunidad mundial de investigadores por su continuo aporte científico.

### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Westaway, E. G. et al. Flaviviridae. *Intervirology* 24, 183-192 (1985).
- WHO | Impact of Dengue. WHO at <<http://www.who.int/csr/disease/dengue/impact/en/>>
- Bhatt, S. et al. The global distribution and burden of dengue. *Nature* 496, 504-507 (2013).
- Álava, A., Mosquera, C., Mosquera, C., Vargas, W. & Real, J. Dengue en el Ecuador 1989-2002. *Rev. Ecuat. Hig. Med. Trop.* 42, 11-34 (2005).
- Francis, T. J. On the doctrine of original antigenic sin. *Proc. Am. Philos. Soc.* 104, 572-578 (1960).
- Paul, J. R. Thomas Francis, Jr., 1900-1969: A Biographical Memoir. (National Academy of Sciences, 1974).
- Beyer, W. E., de Bruijn, I. A., Palache, A. M., Westendorp, R. G. & Osterhaus, A. D. The plea against annual influenza vaccination? ‘The Hoskins’ Paradox’ revisited. *Vaccine* 16, 1929-1932 (1998).
- Zompi, S. & Harris, E. Original antigenic sin in dengue revisited. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 110, 8761-8762 (2013).
- Guzman, M. G., Alvarez, M. & Halstead, S. B. Secondary infection as a risk factor for dengue hemorrhagic fever/dengue shock syndrome: an historical perspective and role of antibody-dependent enhancement of infection. *Arch. Virol.* 158, 1445-1459 (2013).
- Modhiran, N., Kalayanaraj, S. & Ubol, S. Subversion of Innate Defenses by the Interplay between DENV and Pre-Existing Enhancing Antibodies: TLRs Signaling Collapse. *PLoS Negl Trop Dis* 4, e924 (2010).
- Perera-Lecoin, M., Meertens, L., Carnec, X. & Amara, A. Flavivirus Entry Receptors: An Update. *Viruses* 6, 69-88 (2013).
- Sun, P. & Kochel, T. J. The Battle between Infection and Host Immune Responses of Dengue Virus and Its Implication in Dengue Disease Pathogenesis. *Sci. World J.* 2013, (2013).
- Tsai, T.-T. et al. An emerging role for the anti-inflammatory cytokine interleukin-10 in dengue virus infection. *J. Biomed. Sci.* 20, 40 (2013).
- Mondotte, J. A., Lozach, P.-Y., Amara, A. & Gamarnik, A. V. Essential Role of Dengue Virus Envelope Protein N Glycosylation at Asparagine-67 during Viral Propagation. *J. Virol.* 81, 7136-7148 (2007).
- Mota, J. & Rico-Hesse, R. Dengue Virus Tropism in Humanized Mice Recapitulates Human Dengue Fever. *PLoS ONE* 6, e20762 (2011).
- Silveira, G. F. et al. Dengue Virus Type 3 Isolated from a Fatal Case with Visceral Complications Induces Enhanced

- Proinflammatory Responses and Apoptosis of Human Dendritic Cells. *J. Virol.* 85, 5374-5383 (2011).
17. Avirutnan, P. et al. Binding of flavivirus nonstructural protein NS1 to C4b binding protein modulates complement activation. *J. Immunol. Baltim. Md 1950* 187, 424-433 (2011).
  18. Marinho, C. F. et al. Down-Regulation of Complement Receptors on the Surface of Host Monocyte Even as In Vitro Complement Pathway Blocking Interferes in Dengue Infection. *PLoS ONE* 9, (2014).
  19. Matangkasombut, P. et al. Invariant NKT Cell Response to Dengue Virus Infection in Human. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 8, (2014).
  20. Rivino, L. et al. Differential Targeting of Viral Components by CD4+ versus CD8+ T Lymphocytes in Dengue Virus Infection. *J. Virol.* 87, 2693-2706 (2013).
  21. Weiskopf, D. & Sette, A. T-cell immunity to infection with dengue virus in humans. *Front. Immunol.* 5, 93 (2014).
  22. Weiskopf, D. et al. Comprehensive analysis of dengue virus-specific responses supports an HLA-linked protective role for CD8+ T cells. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 110, E2046-E2053 (2013).
  23. Rathakrishnan, A. et al. Clinical and Immunological Markers of Dengue Progression in a Study Cohort from a Hyperendemic Area in Malaysia. *PLoS ONE* 9, (2014).
  24. Monteiro, S. P. et al. HLA-A\* 01 allele: a risk factor for dengue haemorrhagic fever in Brazil's population. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 107, 224-230 (2012).
  25. Fernández-Mestre, M. et al. HLA Alleles and Dengue Virus Infection in Venezuelan Patients: A Preliminary Study. *Inmunología* 28, 96-100 (2009).
  26. Ng, J. K. W. et al. First Experimental In Vivo Model of Enhanced Dengue Disease Severity through Maternally Acquired Heterotypic Dengue Antibodies. *PLoS Pathog.* 10, (2014).
  27. Richter, M. K. S. et al. Immature Dengue Virus Is Infectious in Human Immature Dendritic Cells via Interaction with the Receptor Molecule DC-SIGN. *PLoS ONE* 9, (2014).
  28. Rajapakse, S., Rodrigo, C., Maduranga, S. & Rajapakse, A. C. Corticosteroids in the treatment of dengue shock syndrome. *Infect. Drug Resist.* 7, 137-143 (2014).
  29. Senthilvel, P. et al. Flavonoid from *Carica papaya* inhibits NS2B-NS3 protease and prevents Dengue 2 viral assembly. *Bioinformation* 9, 889-895 (2013).
  30. De La Guardia, C. & Leonart, R. Progress in the Identification of Dengue Virus Entry/Fusion Inhibitors. *BioMed Res. Int.* 2014, (2014).
  31. Whitehorn, J. et al. Dengue Therapeutics, Chemoprophylaxis, and Allied Tools: State of the Art and Future Directions. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 8, (2014).
  32. Khadka, S. et al. A Physical Interaction Network of Dengue Virus and Human Proteins. *Mol. Cell. Proteomics* 10, M111.012187 (2011).
  33. Hidari, K. I. P. J. & Suzuki, T. Dengue virus receptor. *Trop. Med. Health* 39, 37-43 (2011).
  34. Yeo, A. S. L. et al. Lack of Clinical Manifestations in Asymptomatic Dengue Infection Is Attributed to Broad Down-Regulation and Selective Up-Regulation of Host Defence Response Genes. *PLoS ONE* 9, (2014).
  35. Guzmán, M. G. et al. Dr. Guzmán et al. Respond to Dr. Vaughn. *Am. J. Epidemiol.* 152, 804-804 (2000).
  36. Back, A. T. & Lundkvist, A. Dengue viruses -an overview. *Infect. Ecol. Epidemiol.* 3, (2013).
  37. Valdez, M. R. W. de et al. Genetic elimination of dengue vector mosquitoes. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 108, 4772-4775 (2011).
  38. Lan, N. T. P. & Hirayama, K. Host genetic susceptibility to severe dengue infection. *Trop. Med. Health* 39, 73-81 (2011).