

La replicación del virus del dengue induce respuestas de estrés en el retículo endoplasmático rugoso y en el aparato de Golgi, tanto en células de vertebrados como de invertebrados (mosquitos)

Dengue Virus Replication in Vertebrate and Mosquito Cells Induces Stress Responses in the Endoplasmic Reticulum and in the Golgi Complex

Recibido: 06/04/2022 | Aceptado: 07/07/2022

MERCEDES VIETTRI

Departamento de Infectómica y Patogénesis Molecular, Centro de Investigación y de Estudios Avanzados (Cinvestav), Ciudad de México, México

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3290-2952>

FERNANDO RODRÍGUEZ LEÓN

Departamento de Infectómica y Patogénesis Molecular, Centro de Investigación y de Estudios Avanzados (Cinvestav), Ciudad de México, México

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1360-0577>

JOSÉ LUIS ZAMBRANO

Centro de Microbiología y Biología Celular, Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas (IVIC), Caracas, Venezuela

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9884-2940>

JUAN E. LUDERT^a

Departamento de Infectómica y Patogénesis Molecular, Centro de Investigación y de Estudios Avanzados (Cinvestav), Ciudad de México, México

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4790-7681>

RESUMEN

Las infecciones con el virus del dengue, transmitidas al humano por mosquitos del género *Aedes* sp., constituyen un problema de salud pública para las regiones tropicales y subtropicales del planeta. El ciclo de replicación del virus del dengue se lleva a cabo principalmente en el citoplasma de las células, en estrecha asociación con organelos membranosos como el retículo endoplasmático rugoso y el complejo de Golgi. En esta revisión se analiza la respuesta al estrés de estos organelos, ante la infección viral, tanto en células de vertebrados como de mosquitos, y se discuten las implicaciones de esta respuesta en la biología de estos agentes.

Palabras clave

virus del dengue; virus del Zika; retículo endoplasmático rugoso; aparato de Golgi; respuestas de estrés del retículo endoplasmático rugoso; respuestas de estrés del aparato de Golgi.

ABSTRACT

Infections with dengue virus, transmitted to humans by mosquitoes of the *Aedes* sp. genus, constitute a public health problem for the tropical and subtropical regions of the planet. The replication cycle of dengue

^a Autor de correspondencia: jludert@cinvestav.mx

Cómo citar: Viettri M, Rodríguez León F, Zambrano JL, Ludert JE. La replicación del virus del dengue induce respuestas de estrés en el retículo endoplasmático rugoso y en el aparato de Golgi, tanto en células de vertebrados como de invertebrados (mosquitos). *Univ. Med.* 2022;63(3). <https://doi.org/10.11144/Javeriana.umed63-3.deng>

virus takes place mainly in the cytoplasm of cells, in close association with membranous organelles such as the rough endoplasmic reticulum and the Golgi apparatus. In this review, the stress response of these organelles, both in vertebrate and mosquito cells, to viral infection is analyzed and the implications of this response in the biology of these agents, discussed.

Keywords

dengue virus; Zika virus; rough endoplasmic reticulum; Golgi apparatus; Unfolded Protein Response; Golgi stress response.

Introducción

El dengue es la enfermedad viral transmitida por mosquitos más importante dentro de la salud pública mundial. En la actualidad, más de 120 países, ubicados en las regiones tropicales y subtropicales del planeta, son endémicos para esta enfermedad, y se estima que cerca de dos tercios de la población del mundo vive en zonas de riesgo a la infección (1,2). El virus del dengue (DENV) es transmitido a los humanos por la picadura de mosquitos hembra del género *Aedes*, especialmente por *Aedes aegypti* en zonas urbanas. Aunque la infección por el DENV suele cursar de manera asintomática, la infección también puede presentarse con manifestaciones clínicas diversas, que van desde un dengue sin signos de alarma (fiebre por dengue) hasta un dengue grave (dengue hemorrágico) (1). El dengue sin signos de alarma se caracteriza por fiebre alta (≥ 38 °C), cefalea, dolor retrocular, artralgias, mialgias, malestar general, entre otras manifestaciones, y suele resolverse en cuestión de días. Sin embargo, una fracción de los pacientes puede evolucionar a dengue grave, el cual se caracteriza por extravasación de plasma y hemorragias, que pueden llevar a un choque hipovolémico y a la muerte (2,3,4). Los hallazgos de laboratorio en pacientes infectados incluyen trombocitopenia, hemoconcentración o alteraciones en los tiempos de coagulación y en la homeostasis de los lípidos (4). Los síntomas del dengue pueden ser fácilmente confundidos con otras enfermedades virales, y aun con enfermedades bacterianas; por ello, es necesario el diagnóstico confirmatorio por laboratorio (1,2,3,4). En la actualidad no existen tratamientos antivirales específicos para dengue,

y aunque existe una vacuna disponible, la misma presenta limitaciones en su uso (5,6,7).

El DENV pertenece a la familia *Flaviviridae*, género *Flavivirus* (del latín *flavus*, que significa amarillo; así que es el virus de la fiebre amarilla, el virus tipo de la familia). El virión del DENV posee simetría icosaédrica (esférico) y está compuesto por tres proteínas estructurales (C: cápside; prM: premembrana, y E: envoltura) y además presenta una envoltura lipídica. El genoma está compuesto por una molécula de ARN de polaridad positiva (es decir, que presenta la misma polaridad que el ARNm de las células), de aproximadamente 10 Kb. Otros miembros del género *Flavivirus* son el virus del Zika (ZIKV), el virus del oeste del Nilo y el virus de la encefalitis japonesa, también transmitidos por mosquitos. Se han identificado 4 serotipos del DENV (DENV1-DENV4), que están determinados por la variabilidad genética de la proteína E (7,8,9). La infección del humano con un serotipo en particular confiere inmunidad prolongada o de por vida. Sin embargo, una persona puede volver a infectar con un serotipo distinto y padecer dengue por segunda ocasión (8,9,10). Además, las infecciones secundarias presentan riesgo aumentado (entre 100 y 1000 veces) de evolucionar a dengue grave. Las infecciones terciarias y cuaternarias, aunque en teoría posibles, ocurren solo en muy raras ocasiones, debido a la inmunidad cruzada que se genera después de la segunda infección (9,10).

Ciclo replicativo del virus del dengue

In vitro, el DENV muestra un amplio tropismo y es capaz de infectar a una gran diversidad de células que incluyen no solo células humanas y de mosquito, sino también de varias especies de animales, como monos y hámsteres (7). El ciclo de replicación del DENV inicia con la interacción de la proteína E del virión con diversos receptores localizados en la membrana de las células diana como los glucosaminoglucanos, lectinas tipo C como DC-SIGN, receptores de manosa, receptores de fosfatidilserina o proteínas de la inmunoglobulina-mucina de linfocitos T (11,12).

Una vez unido, el virión se internaliza a la célula por endocitosis mediada por clatrina y es transportado a endosomas tempranos o intermedios. En los endosomas, el bajo pH induce cambios conformacionales profundos en la proteína E que llevan a la fusión de la envoltura lipídica del virión con la membrana del organelo y a la subsecuente liberación de la nucleocápside al citoplasma celular. El desensamblaje de la cápside es un proceso poco conocido, que termina con la liberación del genoma viral en el citoplasma y su traducción a proteínas en los ribosomas del retículo endoplásmico rugoso (RER). Dada su naturaleza monocistrónica, el genoma es traducido como una poliproteína, procesada por la proteasa viral NS3 y proteasas del hospedero (algunas aún desconocidas), para generar las tres proteínas estructurales C, prM y E, y siete proteínas no estructurales (NS1, NS2A, NS2B, NS3, NS4A, NS4B y NS5). Estas últimas cumplen funciones durante la replicación viral y además modulan la respuesta innata de la célula (12,13,14).

La replicación del genoma viral se lleva a cabo en invaginaciones de la membrana del RER, que el propio virus induce, conocidos como paquetes vesiculares o VP (15). Dentro de los VP se encuentran las proteínas NS3 y NS5 formando un complejo. La proteína NS3 posee una función catalítica como proteasa, pero presenta también funciones de helicasa; por su parte, la proteína NS5 es la polimerasa viral ARN dependiente de ARN, y posee además actividad de metiltransferasa (13,14,15). También asociada a los VP, pero por el lado del lumen del RER, se encuentra la proteína NS1, presumiblemente cumpliendo funciones de andamiaje para el complejo replicativo (15,16,17). Finalmente, embebidas en la membrana del RER se encuentran las proteínas NS4A y NS4B, las cuales son responsables de inducir la curvatura de la membrana (15,18).

Una vez que el genoma ha sido replicado a través de intermediarios de replicación de ARN de doble cadena, el proceso de ensamblaje comienza con la asociación de dímeros de la proteína C con el ARN viral progenie, seguido de la gemación de membranas del RER que

contienen el complejo glucoproteínico prM-E. Durante el ensamblaje y la liberación de las partículas nacientes, proteínas del hospedero regulan el tráfico intracelular y la adición y procesamiento de azúcares a la glucoproteína E. Posterior al ensamblaje, los viriones inmaduros se transportan por medio de la vía secretora clásica o constitutiva, a través del aparato de Golgi hacia el espacio extracelular. El último paso en la maduración del virión es un reordenamiento de prM-E debido al pH ácido del Golgi y a la acción de una proteasa residente de Golgi llamada *furina*. Las partículas virales se liberan de la célula mediante exocitosis (14,18,19). La figura 1 muestra un esquema del ciclo replicativo completo del DENV.

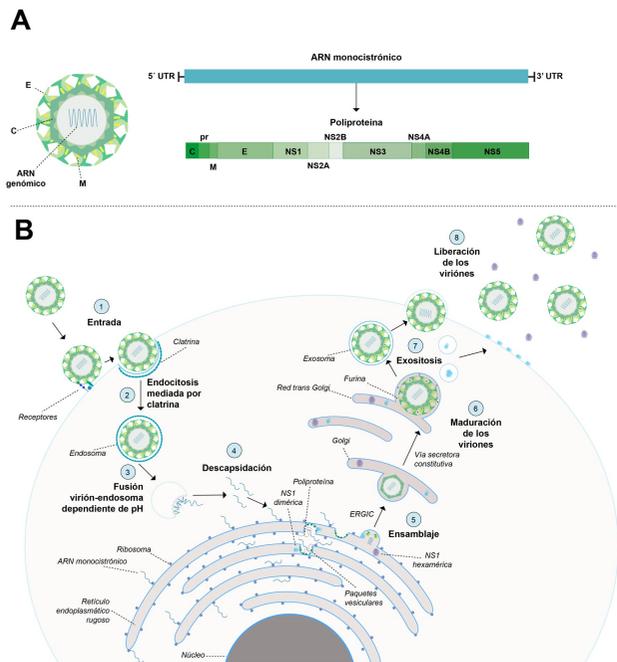


Figura 1.
Ciclo replicativo del virus del dengue.

A) Estructura icosaédrica del virión del DENV. Está constituido por tres proteínas estructurales (C: cápside; prM: premembrana, y E: envoltura). El genoma está compuesto por una molécula de ARN de polaridad que codifica una poliproteína que es procesada por proteasas virales y celulares para generar las tres proteínas estructurales, y siete proteínas no estructurales (NS1, NS2A, NS2B, NS3, NS4A, NS4B y NS5). **B)** El ciclo de replicación del DENV inicia con la interacción del virión con sus receptores (1). El virión se internaliza a la célula por endocitosis mediada por clatrina y es transportado a través de endosomas (2). Cambios en el pH en el endosoma induce cambios conformacionales que llevan a la fusión de la envoltura lipídica del virión con la membrana del endosoma (3), y la subsecuente descapsidación de la nucleocápside que libera el genoma en el citoplasma y su traducción en el retículo endoplasmático rugoso (4). La replicación del genoma viral y el ensamblaje ocurre en paquetes vesiculares en el retículo endoplasmático (5). Los viriones inmaduros se transportan por medio de la vía secretora constitutiva, a través del aparato de Golgi hacia el espacio extracelular donde ocurre la maduración final de las partículas virales que ocurre gracias a la acción de la furina (6). Los viriones maduros son transportados mediante exosomas (7) hasta su liberación al exterior celular junto con la proteína NS1 hexamérica (8).

Junto a los viriones, las células infectadas con DENV también secretan NS1 a la glucoproteína no estructural. En el citoplasma de la célula, NS1 se encuentra asociada, como un dímero, a las membranas intracelulares y a los complejos de replicación (16,17,20). Sin embargo, una fracción de NS1 es secretada de la célula como hexámero (16,17,20,21). En células de vertebrados, NS1 es secretada siguiendo la misma ruta clásica de secreción de los viriones, es decir, a través del complejo de Golgi (21). En contraste, en células de mosquitos, NS1 es secretada a través de una ruta no clásica, independiente del aparato de Golgi y que depende de caveolina y otras proteínas asociadas (22,23).

Respuesta de estrés del retículo endoplasmático rugoso

La respuesta de estrés del RER, también conocida como respuesta UPR (por sus siglas en inglés *Unfolded Protein Response*) ocurre como una respuesta de la célula al excederse la capacidad de procesamiento del RER, durante la síntesis de proteínas (figura 2). El exceso de proteínas mal plegadas o incorrectamente ensambladas es detectado por la célula a través de la proteína Bip (también conocida como GRP78), que actúa como sensora y bloqueadora de las tres vías de activación PERK, IRE-1 y ATF-6. La activación de la UPR a través de sus vías IRE-1 y ATF-6 conduce al aumento en la síntesis de lípidos y a la activación de genes de proteínas chaperonas; ello resulta en una expansión del volumen y en la capacidad de plegamiento del RER. Por su parte, la activación de la vía PERK induce la fosforilación del factor de iniciación eIF2 α y el arresto general de la traducción de proteínas. Si la respuesta UPR no logra restablecer la homeostasis celular y la situación de estrés no se corrige, la célula termina activando cascadas de muerte celular programada (autofagia o apoptosis).

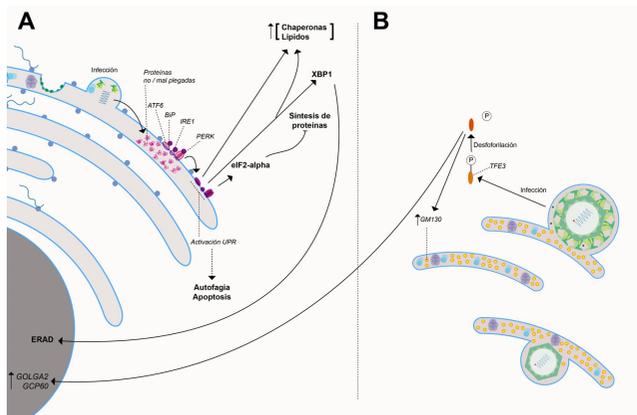


Figura 2. Respuesta de estrés en el retículo endoplasmático rugoso y en el aparato de Golgi durante la infección del virus del dengue.

A) Durante la infección del DENV, las células hospedadoras pierden la homeostasis celular, entre otras causas, por la acumulación de proteínas no o mal plegadas. La vía de estrés del retículo endoplasmático rugoso (UPR) tiene tres sensores (ATF6, IRE1 y PERK) que se encuentran unidos a la chaperona BiP (GRP78), la vía de UPR se activa cuando se desacopla la proteína BiP de los sensores debido a la presencia de proteínas mal plegadas. Las vías ATF6 e IRE1 conducen a la sobreexpresión de chaperonas y de contenido lipídico para aumentar la superficie de procesamiento del retículo endoplasmático. La activación de IRE1 también conduce a la activación de XBP1 que se transloca al núcleo para la activación de los genes ERAD. La vía PERK activa a eIF2 α que bloquea la síntesis de proteínas hospedadoras. De no recuperar la homeostasis de la célula, la activación de la UPR puede culminar con la activación de autofagia o la apoptosis. **B)** En células infectadas con DENV se induce una respuesta de estrés del Golgi (GSR) a través de la activación de TEF3, el cual es desfosforilado y translocado al núcleo; allí activa la vía GASE para inducir la expresión de los genes *GOLGA2* y *GCP60*, entre otros.

Dada la estrecha relación entre la replicación de los flavivirus y el RER, no es de extrañar que la replicación del DENV active la respuesta de UPR en las células infectadas (24,25,26). Sin embargo, además de activarla, el DENV es capaz de modular la UPR y utilizarla para generar una respuesta celular de supervivencia. La UPR tiene interacciones complejas con la maquinaria de autofagia celular, los mediadores de la apoptosis, la inmunidad innata y las reacciones proinflamatorias. Por lo tanto, el

DENV modula selectivamente estos mecanismos celulares durante la infección para mejorar tanto la replicación viral como su capacidad de evadir la inmunidad innata del huésped (25,27).

La infección por DENV activa las tres vías de la UPR; la vía de PERK se activa temprano en la infección, seguida de la activación de la vía IRE1-XBP1 en la mitad de la infección y de la ATF6 más tardíamente en la infección. La activación de la vía PERK es parte de la respuesta antiviral de la célula, ya que resulta en atenuación de la traducción de proteínas. Sin embargo, durante la infección por DENV, la fosforilación de eIF2 α dependiente de PERK solo se activa transitoriamente y temprano durante la infección (a las 6 horas posinfección, aproximadamente), y luego se revierte rápidamente (27). De esta forma, la infección por DENV asegura la producción continua de sus proteínas y facilita la producción de viriones. Se desconoce el mecanismo de desfosforilación y activación del eIF2 α , pero se ha sugerido que involucra la participación de proteínas del DENV (25,26,27,28,29). La infección por DENV también activa la vía IRE1-XBP1 y un subconjunto de genes activados por XBP1, involucrados en la degradación de proteínas asociada al RER (o respuesta ERAD, de sus siglas en inglés, *Endoplasmic Reticulum Associated protein Degradation*), lo que alivia el estrés de RER. La activación de la vía XBP1 es inducida por las glucoproteínas E y NS1 y las proteínas hidrofóbicas pequeñas ancladas al RER (NS2A, NS2B y NS4B). Además, el DENV puede inhibir los mediadores de la apoptosis vía IRE1-XBP1, lo que da como resultado una mayor supervivencia celular y una mayor replicación viral (25,26,27,28,29).

La autofagia es un proceso catabólico celular que promueve la formación de vacuolas autofágicas para degradar y reciclar los constituyentes celulares (26,29,30). Desempeña un papel importante en la regulación del crecimiento y desarrollo celular y está implicada en ciertas patologías. La activación de esta respuesta celular promueve la eliminación de componentes virales y facilita la presentación de antígenos virales. Sin embargo, se sabe que

el DENV modula el proceso, lo cual favorece la infección, ya que la inducción de autofagia protege a células infectadas de la apoptosis (26,31,32,33,34). Se ha demostrado que la activación de la autofagia durante la infección por DENV requiere la activación de la vía PERK de la UPR (32,34,35). La vía PERK activada regula la sobreproducción de especies reactivas de oxígeno e incrementa el reciclaje de la autofagia durante la infección por DENV. Aunque se considera que la contribución de las especies de oxígeno a la formación de autofagosomas es modesta, PERK cumple un papel importante en el mantenimiento de altos niveles de autofagia y contribuye a la producción de partículas virales maduras e infectivas. Además, las vesículas de doble membrana formadas durante la autofagia proporcionan una plataforma para la replicación viral. Por lo tanto, se ha sugerido que la UPR desempeña un papel importante en la mediación y activación de la autofagia en células infectadas por DENV, lo que facilita la replicación viral (32,33,34,35).

Respuesta de estrés del aparato de Golgi

El aparato de Golgi es un conjunto de membranas lamelares cuya principal función es recibir las proteínas recientemente sintetizadas en el retículo endoplásmico, procesarlas postraduccionalmente y transportarlas hasta diferentes organelos, así como a la membrana plasmática y al espacio extracelular; por ello, la función de este organelo es esencial para procesos celulares, como el metabolismo, la diferenciación, la proliferación y la migración celular (36,37,38). El volumen del aparato de Golgi en el interior de la célula puede sufrir adaptaciones en respuesta a la demanda celular, sin que esto implique un desequilibrio homeostático. Sin embargo, cuando esta demanda sobrepasa la capacidad funcional del aparato de Golgi, las proteínas no son procesadas ni secretadas correctamente. Para compensar la sobrecarga funcional y evitar fallas en el procesamiento y secreción de proteínas, la célula activa varias vías de señalización que buscan

restablecer la homeostasis del aparato de Golgi, lo cual se conoce como la *respuesta de estrés del aparato de Golgi* (GSR, por *Golgi Stress Response*) (38,39,40), así como se ve en la figura 2.

El aparato de Golgi posee regiones o zonas funcionales que incluyen la red de cis-Golgi, cis-Golgi, Golgi medio, trans-Golgi y la red de trans-Golgi. Cada una de estas regiones está relacionada con funciones específicas de este organelo (41). A diferencia de la respuesta UPR, los mecanismos de activación de la GSR no han sido del todo dilucidados, pero con base en las zonas funcionales mencionadas, hasta el presente se han identificado seis rutas de activación de la GSR en células de mamíferos (TFE3, HSP47, CREB3, ETS, PG y Mucina (42,43). De todas ellas, la vía TFE3 (*Transcription Factor E3*) es la más estudiada hasta el momento, ya que su activación es esencial para el mantenimiento de las funciones estructurales de N-glucosilación y de transporte vesicular en condiciones de estrés del aparato de Golgi (42,43,44). En un estado fisiológicamente normal del aparato de Golgi, TFE3 está fosforilado en la serina 108 y es retenido en el citoplasma. Sin embargo, en presencia de GSR TFE3 se desfosforila y se transloca al núcleo, para unirse al elemento responsivo de estrés del aparato de Golgi y así activar la transcripción de genes diana relacionados con la modificación enzimática (*SIAT4A, SIAT10, FUT1, B3GAT2*), las proteínas estructurales de Golgi (*GM130, GCP60, giantina*) y con el transporte vesicular (*STX3A, WIPI49, RAB20*) (43,44).

En un estudio publicado recientemente, descubrimos que las infecciones por los flavivirus DENV y ZIKV activan la GSR en células infectadas (45). Este estudio constituye el primer ejemplo en la literatura de inducción de GSR por condiciones fisiológicas, y no utilizando tratamientos farmacológicos, como tradicionalmente se hace. Durante el ciclo de replicación, los DENV y ZIKV están en íntimo contacto con membranas celulares y requieren la participación de la maquinaria de la célula para la producción de partículas virales, y su posterior procesamiento y transporte desde el RER hasta el medio extracelular, a través del aparato de

Golgi (46,47,48). Así mismo, la proteína NS1 es secretada en células de vertebrados a través del aparato de Golgi, donde sufre a su paso modificaciones en sus cadenas de carbohidratos. Todos estos procesos de transporte vesicular y modificación postraduccional en las células infectadas parecen generar una mayor demanda del aparato de Golgi, lo cual resulta en la GSR por activación de la vía TFE3 (45).

Ensayos de microscopía confocal de células, tanto de vertebrados (BHK21 y Vero-E6) como de mosquito (C6/36), infectadas con DENV y ZIKV, mostraron la fragmentación del aparato de Golgi al progresar la infección, medida utilizando como marcador la proteína estructural de Golgi GM130. Así mismo, en células infectadas se observó la translocación del factor TFE3 desde el citoplasma al núcleo, lo cual indica que en células infectadas se activa la vía TFE3; la activación de la vía TFE3 se corroboró al observar la sobreexpresión de los genes *GOLGA2* y *GCP60*, dos de los genes que son regulados por TFE3 y que codifican para las proteínas GM130 y la proteína residente del Golgi GCP60, respectivamente. Finalmente, también se observó que la sola expresión de la proteína NS1 en células de vertebrados es suficiente para inducir una GSR. NS1 es una proteína que llega a alcanzar altas concentraciones (ng/ml) en el suero de los pacientes, lo cual es compatible con la idea de que NS1, por sí sola, ya sea capaz de sobresaturar al aparato de Golgi durante la infección. Es interesante hacer notar que la replicación de un virus altamente lítico, como lo es el calicivirus felino, y cuya replicación no involucra el aparato de Golgi, no induce la respuesta de GSR, lo cual indica que la activación GSR no es una respuesta inespecífica a cualquier replicación viral (45).

Comentarios finales

Dada la estrecha asociación que existe entre la replicación del DENV, ZIKV y otros flavivirus con el RER y el aparato de Golgi, así como la elevada cantidad de proteínas virales que se producen en una célula durante la infección, no es de extrañar que en células infectadas se

generen respuestas de estrés en ambos organelos. La infección por DENV causa estrés en el RER y activación de la respuesta UPR, como respuesta del hospedero. La evidencia experimental apunta a que el DENV modula esta respuesta del huésped para mejorar la replicación viral, al inhibir la apoptosis, al activar la autofagia y al suprimir la respuesta inmune innatas (35,49,50). Más aún, un reporte reciente indica que los autofagosomas generados en células infectadas por DENV son infecciosos, ya que contienen genomas completos del virus (48). Sin embargo, si bien se ha reportado que la activación de autofagia favorece la infección por DENV (49), también existen reportes contradictorios que señalan que la autofagia podría inhibir el ciclo de replicación (50), dependiendo del tipo celular. Por lo tanto, todavía queda mucho por entender sobre cómo afectan a la replicación viral, la respuesta UPR y la activación de la autofagia.

En el caso de la GSR, es claro que la infección por DENV y ZIKV activan dicha respuesta; sin embargo, aún se desconoce qué efecto ejerce dicha respuesta sobre la replicación viral, la secreción de viriones y de NS1; es decir, si la GSR favorece o antagoniza la replicación viral. Experimentos en curso en nuestro laboratorio buscan contestar esta pregunta evaluando la replicación de dengue en células impedidas de iniciar la GSR. Tampoco está claro cómo la activación y la modulación de las vías de estrés se suman a la patogénesis de la enfermedad en humanos durante la infección por DENV o ZIKV. Se necesitan más estudios para comprender la naturaleza compleja de estas interacciones, lo que proporcionaría objetivos útiles para la terapia antiviral y ampliaría nuestro conocimiento sobre la patogénesis del DENV. Dada la naturaleza aguda del cuadro clínico de dengue, y a que en la actualidad no existen tratamientos antivirales específicos contra este virus, valdría la pena considerar la posibilidad de manipular farmacológicamente estas respuestas de estrés como posible tratamiento para la patogénesis del dengue.

Financiamiento

Mercedes Viettri y Fernando Rodríguez León reciben becas del Conacyt-México para sus estudios de posgrado.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener conflicto de intereses.

Agradecimientos

Los autores agradecen al Dr. Raymundo Pérez Cruz, por su lectura crítica del manuscrito.

Referencias

1. Organización Mundial de la Salud. Dengue y dengue grave [internet]. 2022 ene 10 [citado 2022 mar]. Disponible en: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/dengue-and-severe-dengue>
2. Organización Panamericana de la Salud. Dengue: guías para la atención de enfermos en la región de las Américas [internet]. 2.^a ed. Washington; 2016. Disponible en: <https://iris.paho.org/handle/10665.2/28232?locale-attribute=es>
3. Fried JR, Gibbons RV, Kalayanarooj S, Thomas SJ, Srikiatkachorn A, Yoon I-K, et al. Serotype-specific differences in the risk of dengue hemorrhagic fever: an analysis of data collected in Bangkok, Thailand from 19 to 20 PLoS Negl Trop Dis. 2010;4:e6.
4. Muller DA, Depelsenaire ACI, Young PR. Clinical and laboratory diagnosis of dengue virus infection. J Infect Dis. 2017; 215:S89- S95. <https://doi.org/10.1093/infdis/jiw649>
5. Sridhar S, Luedtke A, Langevin E, Zhu M, Bonaparte M, Machabert T, et al. Effect of dengue serostatus on dengue vaccine safety and efficacy. N Engl J Med. 2018;26;379:327-3.
6. Deng S-Q, Yang X, Wei Y, Chen J-T, Wang X-J, Peng H-J. A review on dengue vaccine development. Vaccines (Basel). 2020;8(1):63. <https://doi.org/10.3390/vaccines8010063>
7. Halstead S. Recent advances in understanding dengue. F1000Res. 2019; 8:F10Faculty Rev-1279. <https://doi.org/10.12688/f1000research.19197.1>
8. Lindenbach B, Murray C, Thiel HJ and Rice C. Flaviviridae. En: Knipe DM, Howley PM, editores. Fields virology. 7.^a ed. Philadelphia, PA: Wolters Kluwer/Lippincott Williams & Wilkins Health; 2007. p. 712-7.
9. Harapan H, Michie A, Sasmono RT, Imrie A. Dengue: a minireview. Viruses. 2020;12:8.
10. Soo K-M, Khalid B, Ching S-M, Chee H-Y. Meta-analysis of dengue severity during infection by different dengue virus serotypes in primary and secondary infections. PLoS One. 2016;11:e0154760. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0154760>
11. Castillo-Macías A, Salinas-Carmona MC, Torres-López E. Immunology of viral infections with a high impact in Mexico: Dengue, Chikungunya, and Zika. Med Univ. 2018;19(77):198-207. <https://doi.org/10.1016/j.rmu.2017.09.001>
12. Heinz FX, Stiasny K. Proteolytic activation of flavivirus envelope proteins. En: Böttcher-Friebertshäuser E, Garten W, Klenk H, editores. Activation of viruses by host proteases. Springer; 2018.
13. Rodenhuis-Zybert IA, Wilschut J, Smit JM. Dengue virus life cycle:

- viral and host factors modulating infectivity. *Cell Mol Life Sci.* 2010;67:2773-86. <https://doi.org/10.1007/s00018-010-0357-z>
14. Apte-Sengupta S, Sirohi D, Kuhn RJ. Coupling of replication and assembly in flaviviruses. *Curr Opin Virol.* 2014; 9:134-42. <https://doi.org/10.1016/j.coviro.2014.09.020>
 15. Dios-Toro M, Prasanth KR, Bradrick SS, Garcia Blanco MA. Role of RNA-binding proteins during the late stages of Flavivirus replication cycle. *Virol J.* 2020;17(1):60. <https://doi.org/10.1186/s12985-020-01329-7>
 16. Watterson D, Modhiran N, Young PR. The many faces of the flavivirus NSprotein offer a multitude of options for inhibitor design. *Antiviral Res.* 2016;130:7-18. <https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2016.02.014>
 17. Rastogi M, Sharma N, Singh SK. Flavivirus NS1: a multifaceted enigmatic viral protein. *Virol J.* 2016;13:131. <https://doi.org/10.1186/s12985-016-0590-7>
 18. Chatel-Chaix L, Bartenschlager R. Dengue virus-and hepatitis C virus-induced replication and assembly compartments: the enemy inside-caught in the web. *J Virol.* 2014;88(11):5907-11. <https://doi.org/10.1128/JVI.03404-13>
 19. Garcia-Blanco MA, Vasudevan SG, Bradrick SS, Nicchitta C. Flavivirus RNA transactions from viral entry to genome replication. *Antiviral Res.* 2016;134:244-9. <https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2016.09.010>
 20. Alcon-LePoder S, Drouet M-T, Roux P, Frenkiel M-P, Arborio M, Durand-Schneider A-M, et al. The secreted form of dengue virus nonstructural protein NSis endocytosed by hepatocytes and accumulates in late endosomes: implications for viral infectivity. *J Virol.* 2005;79(17):11403.
 21. Sager G, Gabaglio S, Sztul E, Belov GA. Role of host cell secretory machinery in zika virus life cycle. *Viruses.* 2018;10(10):559. <https://doi.org/10.3390/v10100559>
 22. Alcalá AC, Palomares LA, Ludert JE. Secretion of nonstructural protein of dengue virus from infected mosquito cells: facts and speculations. *J Virol.* 2018;92(14):e00275-18. <https://doi.org/10.1128/JVI.00275-18>
 23. Rosales Ramirez R, Ludert JE. The Dengue Virus Nonstructural Protein (NS1) is secreted from mosquito cells in association with the intracellular cholesterol transporter chaperone caveolin complex. *J Virol.* 2019;93(4):e01985-18. <https://doi.org/10.1128/JVI.01985-18>
 24. Blázquez A-B, Escribano-Romero E, Merino-Ramos T, Saiz J-C, Martín-Acebes MA. Stress responses in flavivirus-infected cells: activation of unfolded protein response and autophagy. *Front Microbiol.* 2014;5:266. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2014.00266>
 25. Valadao AL, Aguiar RS, de Arruda LB. Interplay between Inflammation and Cellular Stress Triggered by Flaviviridae Viruses. *Front Microbiol.* 2016; 7:1233. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.01233>
 26. Tan Z, Zhang W, Sun J, Fu Z, Ke X, Zheng C, et al. ZIKV infection activates the IRE1-XBPand ATF pathways of unfolded protein response in neural cells. *J Neuroinflammation.* 2018;15(1):275. <https://doi.org/10.1186/s12974-018-1311-5>
 27. Lewy TG, Grabowski JM, Bloom ME. BiP: Master Regulator of the Unfolded Protein Response and

Crucial Factor in Flavivirus Biology. *Yale J Biol Med.* 2017;90(2):291-3.

28. Perera N, Miller JL, Zitzmann N. The role of the unfolded protein response in dengue virus pathogenesis. *Cell Microbiol.* 2017;19(5). <https://doi.org/10.1111/cmi.12734>.

29. Peña J, Harris E. Dengue virus modulates the unfolded protein response in a time-dependent manner. *J Biol Chem.* 2011;286:14226-36. <http://doi.org/10.1074/jbc.M111.222703>

30. Yu C-Y, Hsu Y-W, Liao C-L, Lin Y-L. Flavivirus infection activates the XBP pathway of the unfolded protein response to cope with endoplasmic reticulum stress. *J Virol.* 2006;80:11868-80. <https://doi.org/10.1128/JVI.00879-06>

31. Umareddy I, Pluquet O, Wang QY, Vasudevan SG, Chevet E, Gu F. Dengue virus serotype infection specifies the activation of the unfolded protein response. *Virol J.* 2007;4:91. <https://doi.org/10.1186/1743-422X-4-91>

32. Takeshige K, Baba M, Tsuboi S, Noda T, Ohsumi Y. Autophagy in yeast demonstrated with proteinase-deficient mutants and conditions for its induction. *J Cell Biol.* 1992;119:301-11. <https://doi.org/10.1083/jcb.119.2.301>

33. Tsukada M, Ohsumi Y. Isolation and characterization of autophagy-defective mutants of *Saccharomyces cerevisiae*. *FEBS Letters.* 1993;333(1-2):169-74. [https://doi.org/10.1016/0014-5793\(93\)80398-e](https://doi.org/10.1016/0014-5793(93)80398-e)

34. Lee Y-R, Lei H-Y, Liu M-T, Wang J-R, Chen S-H, Jiang-Shieh Y-F, et al. Autophagic machinery activated by dengue virus enhances virus replication. *Virology.* 2008;374:240-8. <https://doi.org/10.1016/j.virol.2008.02.016>

35. Datan E, Roy SG, Germain G, Zali N, McLean JE, Golshan G, et al. Dengue-induced autophagy, virus replication and protection from cell death require ER stress (PERK) pathway activation. *Cell Death Dis.* 2016;7:e2127. <https://doi.org/10.1038/cddis.2015.409>

36. Chia PZ, Gleeson PA. The regulation of endosome-to-Golgi retrograde transport by tethers and scaffolds. *Traffic.* 2011;12:939-47. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0854.2011.01185.x>

37. Abdel Rahman AM, Ryczko M, Nakano M, Pawling J, Rodrigues T, Johswich A, et al. Golgi N-glycan branching N acetylglucosaminyltransferases I, V and VI promote nutrient uptake and metabolism. *Glycobiology.* 2015;25:225-

38. Gao J, Gao A, Liu W, Chen L. Golgi stress response: A regulatory mechanism of Golgi function. *BioFactors.* 2021;47:964-40. <https://doi.org/10.1093/glycob/cwu105>

39. Yoshida H. ER stress response, peroxisome proliferation, mitochondrial unfolded protein response and Golgi stress response. *IUBMB Life.* 2009;61:871-9. <https://doi.org/10.1002/iub.229>

40. Sasaki K, Yoshida H. Organelle autoregulation--stress responses in the ER, Golgi, mitochondria and lysosome. *J Biochem.* 2015;157:185-95. <https://doi.org/10.1093/jb/mvv010>

41. Sasaki K, Yoshida H. Golgi stress response and organelle zones. *FEBS Lett.* 2019;593:2330-40. <https://doi.org/10.1002/1873-3468.13554>

42. Taniguchi M, Yoshida H. TFE3, HSP47, and CREB Pathways of the Mammalian Golgi Stress Response.

- Cell Struct Funct. 2017;42:27-36. <http://doi.org/10.1247/csf.16023>
43. Taniguchi M, Nadanaka S, Tanakura S, Sawaguchi S, Midori S, Kawai Y, et al. TFEis a bHLH-ZIP-type transcription factor that regulates the mammalian Golgi stress response. *Cell Struct Funct.* 2015;40:13-30. <https://doi.org/10.1247/csf.14015>
44. Oku M, Tanakura S, Uemura A, Sohda M, Misumi Y, Taniguchi M, et al. Novel cis-acting element GASE regulates transcriptional induction by the Golgi stress response. *Cell Struct Funct.* 2011;36:1-12. <https://doi.org/10.1247/csf.10014>
45. Viettri M, Zambrano JL, Rosales R, Caraballo GI, Gutiérrez-Escolano AL, Ludert JE. Flavivirus infections induce a Golgi stress response in vertebrate and mosquito cells. *Sci Rep.* 2021;11:23489. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-02929-1>
46. Kurosu T, Chaichana P, Yamate M, Anantapreecha S, Ikuta K. Secreted complement regulatory protein clusterin interacts with dengue virus nonstructural protein. *Biochem Biophys Res Commun.* 2007;362:1051-6. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2007.08.137>
47. Pierson TC, Diamond MS. The continued threat of emerging flaviviruses. *Nat Microbiol.* 2020;5:796-812. <https://doi.org/10.1038/s41564-020-0714-0>
48. Wu S-Y, Chen Y-L, Lee Y-R, Lin C-F, Lan S-H, Lan K-Y, et al. The autophagosomes containing dengue virus proteins and full-length genomic RNA are infectious. *Viruses.* 2021;13(10):2034. <https://doi.org/10.3390/v13102034>
49. Mateo R, Nagamine CM, Spagnolo J, Méndez E, Rahe M, Gale M, et al. Inhibition of cellular autophagy deranges dengue virion maturation. *J Virol.* 2013;87:1312-21. <https://doi.org/10.1128/JVI.02177-12>
50. Chen T-Y, Smartt CT. Activation of the autophagy pathway decreases dengue virus infection in *Aedes aegypti* cells. *Parasit Vectors.* 2021;14(1):551. <https://doi.org/10.1186/s13071-021-05066-w>