



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
CUAUTITLÁN

Retrovirus Endógenos en Felinos
(Revisión bibliográfica)

TESIS

PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

MÉDICA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

P R E S E N T A:

MARCELA LIZETH MORENO ARCE

ASESOR: Dr. HUMBERTO AEJANDRO MARTÍNEZ RODRÍGUEZ.

Co-ASESOR: Dr. HUGO RAMÍREZ ÁLVAREZ

CUAUTITLÁN IZCALLI, ESTADO DE MÉXICO, 2017



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

ÍNDICE	PÁGINA
Índice de abreviaturas.	3
i. Objetivo general.	5
ii. Objetivos particulares.	5
iii. Justificación.	5
iv. Metodología.	5
v. Introducción.	6
1. Clasificación de los retrovirus.	6
2. Generalidades morfológicas de los retrovirus.	6
3. Generalidades de los retrovirus endógenos (ERV).	8
3.1. Retrovirus endógenos en gatos.	18
4. EnFeLV y Leucemia Viral Felina (FeLV)	25
5. Virus RD-114.	28
5.1. Contaminación de las vacunas de animales con virus RD-114.	31
5.2. Riesgos potenciales de infecciones con el virus RD-114.	32
6. ERV identificados en diferentes órganos.	32
7. ERV involucrado en la placentación.	33
8. Metodología, identificación, prevención y uso de los retrovirus endógenos.	35
vi. Conclusión.	38
vii. Bibliografía.	40

ÍNDICE DE ABREVIATURAS

ALV o ALVs.- Virus de leucosis aviar.

ARN o RNA.- Ácido ribonucleico.

ASCT.- Transportador neutral aminoácido sodio- dependiente.

BAEV.- Retrovirus endógeno de babuino.

Bootstrap.- Se puede utilizar para colocar intervalos de confianza en filogenias y es de hecho un tipo de análisis estadístico para probar la fiabilidad de ciertas ramas en los árboles evolutivos.

Crfk.- Células de riñón felino.

CVP.- Parvovirus canino.

DNA.- Ácido desoxirribonucleico.

ELISA i.- Ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas indirecto.

ELISA.- Ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas.

EnFeLV.- Virus de leucemia viral felina endógeno.

ERV o ERVs.- Retrovirus endógenos.

ExFeLV.- Virus de leucemia viral felina exógena.

FcERV.- Retrovirus endógenos felis catus.

FeLV.- Virus de leucemia viral felina.

FER.- Fibroblastos de embrión de ratón.

FIV.- Virus de inmunodeficiencia felina.

GenBank: Es la base de datos más conocida de secuencias de ácidos nucleicos y proteínas públicamente disponibles, aproximadamente 65, 369, 091, 950 bases. Organizaciones intercambian datos diariamente, sus colaboradores reciben secuencias genéticas producidas de todo el mundo, procedentes de más de 100.000 organismos distintos.

HERV-H.- Retrovirus endógenos de humanos.

KoRV.- Retrovirus de koala.

LTR o LTRs.- Repeticiones de terminación largas.

Máxima probabilidad.- Es un algoritmo que estima la probabilidad de que a partir de un árbol y un modelo de evolución (hipótesis), observemos un alineamiento determinado de los datos.

MCC.- Carcinoma de células de merkel de la mama.

MLV.- Virus de la leucemia murina.

MMTV.- Virus del tumor mamario de ratón.

Nodos.- Es un elemento de información que reside en el árbol.

ORF u ORFs.- Marco de lectura abierto.

PCR.- Reacción en cadena de la polimerasa.

PCV.- Circovirus Porcino.

PERV o PERVs.- Retrovirus endógeno porcino.

RNAi.- Ácido ribonucleico de interferencia.

RNA_m.- Ácido ribonucleico mensajero.

RT.- Transcriptasa reversa.

RT-PCR.- Reacción de la cadena de la polimerasa en tiempo real.

SERV.- Retrovirus endógeno de los primates.

WB.- Western blot.

i. OBJETIVO GENERAL.

Describir las características generales de los retrovirus endógenos felinos.

ii. OBJETIVOS PARTICULARES.

Documentar información relacionada con retrovirus endógenos en felinos domésticos y silvestres.

Conocer la clasificación actual para los retrovirus endógenos presentes en felinos domésticos y silvestres.

Aportar información para comprender, identificar, detectar y reconocer la participación de retrovirus endógenos en el desarrollo de enfermedades de felinos y su función en felinos domésticos.

iii. JUSTIFICACIÓN.

El recopilar información para el análisis sobre retrovirus endógenos permitirá comprender su participación e interacción con retrovirus exógenos infecciosos. Para proponer medidas de control, detección y/o tratamiento de enfermedades retrovirales, asimismo es importante comprender como los retrovirus endógenos se relacionan con la extensa variabilidad de los retrovirus existentes en los felinos tanto domésticos como silvestres.

iv. METODOLOGÍA.

Con el fin de obtener información se consultó en la base de datos, libros, artículos de difusión, revistas del área, artículos científicos, memorias de reuniones y/o congresos, así mismo, se recopilaron secuencias genómicas, gráficas, cuadros e imágenes para una fácil comprensión del tema, iniciando de lo general a lo particular, esto permitió identificar qué tipos de software bioinformáticos son los utilizados para el análisis *in silico* de retrovirus endógenos, siendo estos: MEGA 6, ClustalW, Blast, ORF Finder entre otros. Esto a su vez permitió conocer el tipo de información que genera cada software. La información obtenida permitirá generar las bases para realizar modelos teóricos que puedan modular, detectar y dar tratamiento a las enfermedades retrovirales en la clínica de felinos e iniciar líneas de investigación vinculadas sobre los retrovirus endógenos.

v. INTRODUCCIÓN.

La familia viral *Retroviridae* es una de las más interesantes y complejas de los animales. El término retro significa hacia atrás, y el nombre hace referencia a que estos virus que tienen un modo de sintetizar su ácido nucleico a partir de ARN a un ADN complementario. Los retrovirus son virus con un genoma constituido por ARN, el cual se replica por medio de un ADN intermediario usando la enzima transcriptasa inversa (Cordeiro y Taroco, 2008), que integra su material genético al del huésped y se transforma en un *provirus*. Se considera que un provirus está completo cuando contiene los tres genes mayores: *gag*, *pol* y *env*, y están flanqueados por repeticiones terminales largas (LTRs) (De Luca, 2013).

1.- Clasificación de los retrovirus.

Los retrovirus se clasifican en siete géneros:

- Alpharetrovirus.
- Betaretrovirus.
- Gamaretrovirus.
- Deltaretrovirus.
- Epsilonretrovirus.
- Spumaretrovirus.
- Lentivirus.

Otra forma de clasificar a los retrovirus es como retrovirus exógenos y endógenos, lo cual se relaciona a el modo de transmisión (Miyazawa, 2010; Yoshikawa *et. al*; 2014). Generalmente los retrovirus exógenos se transmiten de forma vertical y horizontal asociados o no a células, por otro lado, los retrovirus endógenos se transmiten principalmente de forma vertical asociado a células germinales.

2.- Generalidades morfológicas de los retrovirus.

El genoma está constituido por dos moléculas idénticas de ARN de polaridad positiva de cadena sencilla, lineal y tiene una transcriptasa reversa. Morfológicamente la familia *Retroviridae* se caracteriza por incluir partículas envueltas, con un diámetro entre 80 y 120 nm, que contienen una nucleocápside enrollada dentro de una cubierta icosaédrica. La envoltura contiene glicoproteínas víricas y es adquirida al brotar por gemación a través de la membrana plasmática de la célula huésped. Existen varias proteínas en la cubierta de los virus y siete proteínas internas típicas (Fenner *et. al*; 1992, Cordeiro y Taroco, 2008).

Contiene LTR, que son secuencias repetidas que poseen una función reguladora y controlan la expresión de los otros genes virales (Figura 1), pero en general, no codifican ningún producto proteico. Desde el extremo 5' a 3' el orden genético es LTR-*gag-pol-env*-LTR (Calle *et. al*; 2013).

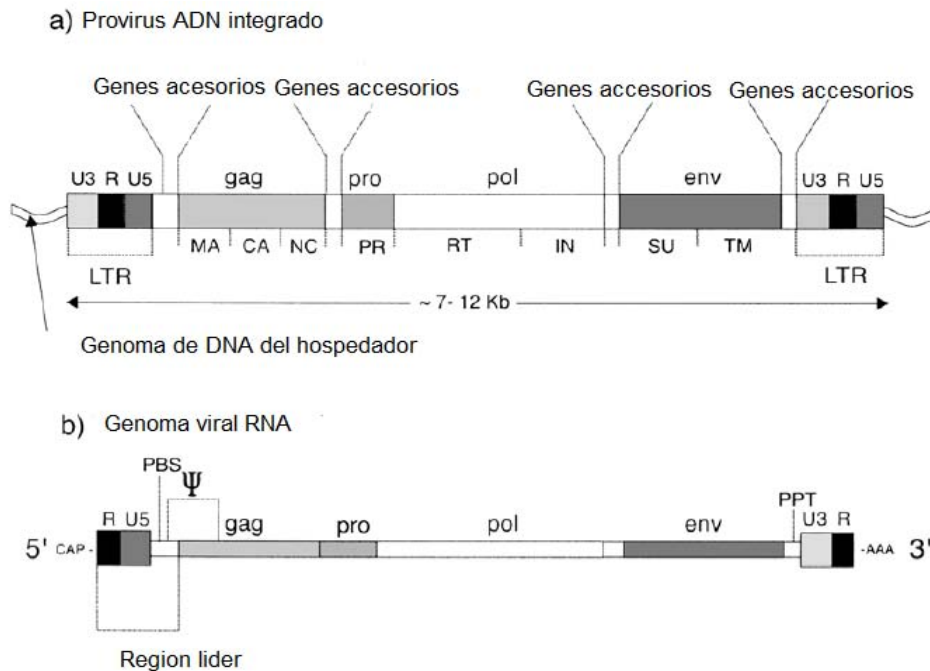


Figura 1.- Organización del genoma de los retrovirus (Gifford y Tristem, 2003).

Abreviaturas: **MA**: proteínas de la matriz, **CA**: cápside, **NC**: nucleocápside, **PR**: proteasa, **RT**: transcriptasa inversa, **IN**: integrasa, **SU**: superficie, **TM**: proteína de transmembrana (Gifford y Tristem, 2003).

El **gen gag** es el gen del antígeno asociado al grupo. Codifica las proteínas estructurales internas: P15c (proteína de matriz), P12 (función desconocida), P27 (proteína de cápside) y P10 (proteína de nucleocápside). La proteína P27 se produce en células infectadas por los retrovirus en cantidades que exceden las necesarias para la unión de nuevas partículas virales (Palmero y Carballés, 2012, Calle *et. al*; 2013). Por lo tanto, es abundante en el citoplasma de células infectadas individualmente, razón por la cual la mayoría de pruebas inmunocromatográficas disponibles están diseñadas para detectar esta proteína, que no solo circula en plasma, sino también en saliva y lágrimas (Palmero y Carballés, 2012, Calle *et. al*; 2013).

El **gen pol** codifica para la polimerasa viral o transcriptasa reversa, responsable de copiar el ARN viral en un ADN complementario (transcripción inversa), el cual podrá ser integrado posteriormente (Palmero y Carballés, 2012, Calle *et. al*; 2013).

El **gen env**, gen de la envoltura codifica los diferentes componentes de la misma (gp70 y p15e). La glicoproteína gp70 define el subgrupo viral y está fuertemente implicada en la

inducción de inmunidad específica. Los anticuerpos anti-gp70 son específicos de subgrupo y dan como resultado neutralización viral e inmunidad a reinfección. Por lo tanto, esta proteína es importante en la resistencia natural y como blanco para la producción de vacunas. Por otro lado, se considera que la proteína p15e se comporta como una proteína transmembranal cuya presencia interfiere con la respuesta inmunológica celular del huésped y así facilita la persistencia viral (Tabla 1) (Palmero y Carballés, 2012, Calle *et. al*; 2013).

Tabla 1- Principales funciones de los genes de los retrovirus.

GENES QUE CODIFICAN PROTEÍNAS	PRODUCTO DE LAS PROTEÍNAS PRECURSORAS	PRINCIPALES FUNCIONES ATRIBUIDAS
<i>Gag</i> Codificación de las proteínas p15, p10 y p27	Matriz	Proteína estructural del virus
	Cápside	Proteína estructural del virus
	Nucleocápside	Unión con el genoma viral
<i>Pol</i> Codifica a la enzima transcriptasa reversa	Proteasa	Escisión de los precursores de las proteínas. Participa en la maduración de virión.
	Transcriptasa Reversa	Transcripción reversa del ARN en ADN proviral
	Integrasa	Integración del ADN proviral en el genoma de la célula hospedadora (núcleo)
<i>Env</i> Codifica a las proteínas de la envoltura p15E y gp70	Subunidades de superficie y transmembrana	Adhesión y entrada a la célula blanco

Tomado de Valenzuela *et Al.*, 2002; Portuguez, 2014.

3.- Generalidades de los retrovirus endógenos.

Un retrovirus endógeno o ERV (De Luca, 2013), es una secuencia nucleotídica que está integrada en el genoma (ADN) del hospedador (Tandon, *et. al*; 2008^a), conserva su genoma intacto y los LTR de este tipo de virus son parecidos genéticamente, por lo que serían capaces de sintetizar partículas virales. Con la integración del genoma, los retrovirus se amplifican dentro de la célula huésped (De Luca, 2013). Los retrovirus endógenos pueden infectar a las células germinales y ser transmitidos de forma vertical, por estar presentes en el genoma y ser heredados (Gifford y Tristem, 2003), se comportan como genes

convencionales y se heredan de padres a hijos como la Ley Mendeliana lo explica (Yoshikawa *et. al*; 2014) (Figura 2). En el curso del tiempo, los ERV tienden a ser defectuosos debido a la selección contra retrovirus funcionales y debido a mutaciones aleatorias en el genoma del huésped, ya que se han formado numerosas copias en el genoma del huésped durante o después de la endogenización inicial (Figura 3), comportándose como elementos de transposición (Mata *et. al*; 2015), a diferencia de los que se transmiten principalmente de forma horizontal y que no son heredados los cuales son designados como retrovirus “exógenos” (Gifford y Tristem, 2003), estos infectan células somáticas pero no células de línea germinal y se transmiten horizontalmente por infección a través de partículas virales (Yoshikawa, *et. al*; 2014).

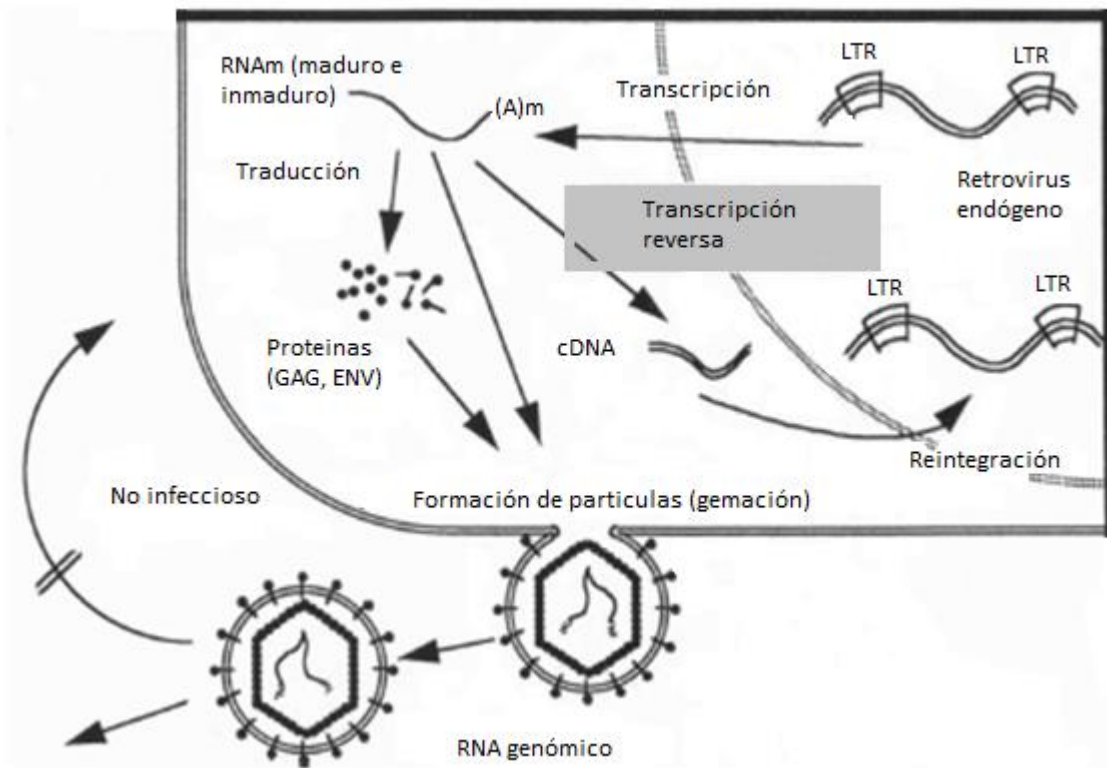


Figura 2.- Ciclo de replicación de los retrovirus endógenos (Löwer *et. al*; 1996).

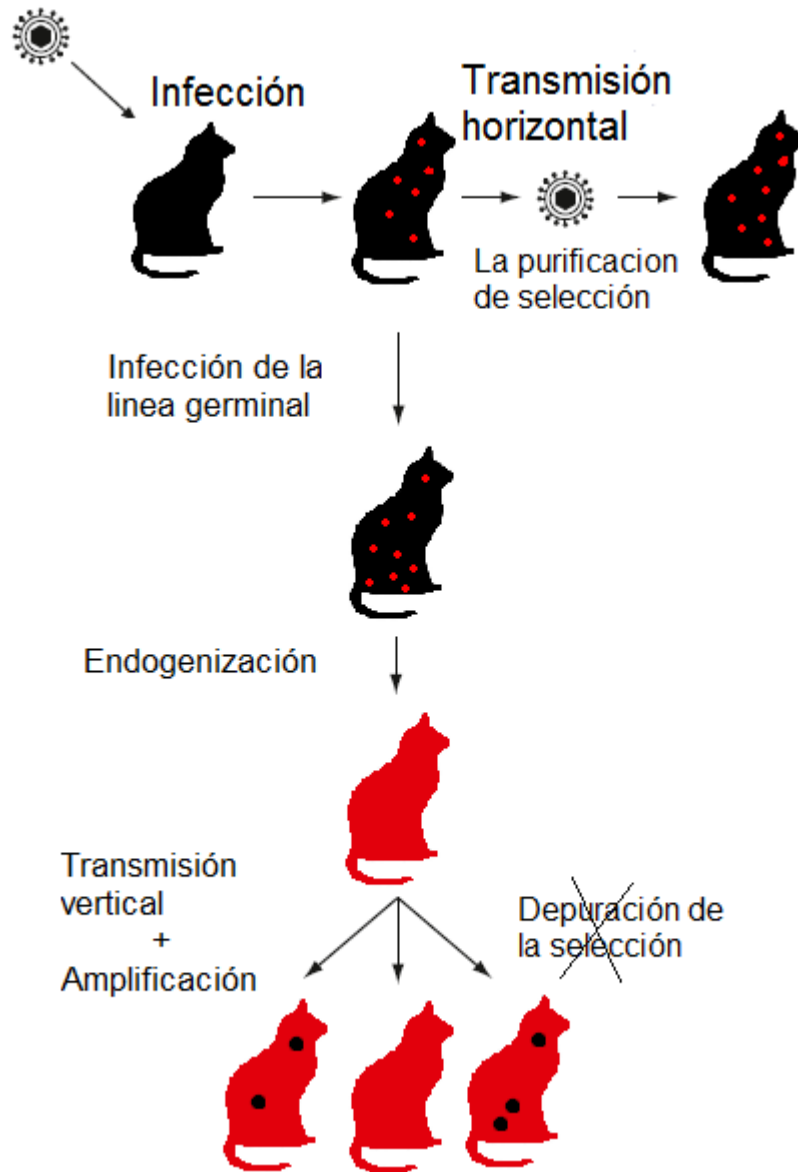


Figura 3.- Origen y evolución de los retrovirus endógenos (Modificado de: Dewannieux *et. al*; 2010).

Este tipo de retrovirus endógenos son un grupo de diverso elementos, cuya organización genética es muy similar a la de los retrovirus exógenos (Tandon *et. al*; 2007).

Los ERV representan los restos de antiguas infecciones retrovirales exógenas que ocurrieron hace millones de años con su contraparte exógena en la mayoría de los casos que se extinguieron, sólo se han observado algunas excepciones de colonizaciones actuales en las poblaciones de animales de vida libre, el retrovirus del koala (KoRV) que representa el ejemplo más destacado (Tabla 2). Esto está en contraste con otras especies donde variantes

específicas de un ERV pueden faltar en algunos individuos, en general los ERV están presentes en todos los miembros de una especie (Tsangaras *et. al*; 2015).

Tabla 2.- Diferentes especies donde se han encontrado ERV.

ANIMALES DOMÉSTICOS	ANIMALES SALVAJES
Gato	Felinos (Leones, tigres, puma, pantera)
Perros	Primates (aye- aye, babuinos, monos)
Bovinos	Roedores (Cuyo, ratas, hámster)
Ovejas	Marsupiales (Koala)
Cabras	Hurones
Cerdos	Elefantes
Aves	Comadrejas
Conejos	Oso polar
Caballos	Peces
	Rana africana

(Payne, 1998, Xiao *et. al*; 2008; Song *et. al*; 2013, Mata *et. al*; 2015, Tsangaras *et. al*; 2015, Naville y Volff, 2016).

Los ERV fueron descubiertos en la década de 1960 y 1970. Las primeras descripciones de ERV en humanos remontan a la década de 1970 (Blomberg *et. al*; 2009). Se ha encontrado que los ERV ocupan entre el 8% - 13% de los genomas mamíferos (Tabla 3), por lo que se les considera “parásitos del genoma” (Nakaya y Miyazawa, 2015, López, 2015).

Tabla 3.- Retrovirus endógenos descritos en diferentes especies y tejidos.

ESPECIES	UBICACIÓN
Humanos	Linfomas
Felinos	Linfomas, placenta
Monos	Placenta
Ratón	Placenta
Cuyes	Placenta
Ovinos	Placenta
Caprinos	Placenta
Caninos	Linfomas, líneas celulares
Aves	Fibroblastos
Bovino	Pulmón, bazo, riñón
Cerdos	Líneas celulares, tipos: A, B, B1, C, A/C

En general, una amplia diversidad de funciones se le ha asignado a los retrovirus endógenos. Mientras que en algunos estudios se suponía que los retrovirus endógenos podrían inducir tolerancia inmunológica, en otros casos, se cree que tienen un papel protector relacionada con la interferencia con los receptores celulares (Tandon, *et. al*; 2008^b).

Las secuencias LTR de los extremos de los ERVs son secuencias promotoras y reguladoras a las que se unen gran cantidad de factores de transcripción de la célula. Por eso, estas regiones LTRs pueden interferir con la expresión de otros genes del huésped y cada vez hay más datos del impacto de estos virus endógenos en la biología del huésped. Los ERVs han contribuido a remodelar la arquitectura del genoma a lo largo de millones de años y en la evolución del genoma del huésped introduciendo innovación y variabilidad genética, lo que influye en la expresión de los genes del mismo (López, 2015).

Como consecuencia de mutaciones, deleciones o recombinaciones internas, la mayoría de los retrovirus endógenos (ERV) perdieron su capacidad infectiva y de replicación. Sin embargo, en distintas líneas de células tumorales se ha observado la persistencia del marco abierto de lectura y la expresión de proteínas virales de los ERV, los retrovirus jugarían un rol en la inducción y progresión tumoral (De Luca, 2013).

Aunque las secuencias del genoma son a veces un compuesto hecho mediante la combinación de diferentes regiones de distintos individuos, cada secuencia puede ser pensada como una representante del genoma de un solo individuo (haploide). No se conoce ningún mecanismo para los ERV, por lo que el genoma contiene un registro de la historia de integraciones de ERV, debido a la recombinación cada región es al azar extraída de la población (Magiorikinis *et. al*; 2015).

Un ejemplo interesante de mencionar es lo sucedido en el caso de Leucosis Aviar, que desde 1988 se aisló una nueva cepa del virus de la leucosis aviar (ALV) a partir de gallinas de razas de carne en el Reino Unido. Estudios realizados en la cepa del virus prototipo HPRS-103 lo incluyeron en un nuevo subgrupo de virus envuelto designado J. El gen de la envoltura del subgrupo ALV-J está muy relacionado con secuencias de retrovirus endógenos presentes en el genoma normal de la gallina, sugiriendo que ALV-J es un recombinante genético. Los estudios de la secuencia del gen de la envoltura de varios aislamientos de campo de ALV-J indican que la aparición de mutaciones frecuentes llevó a la variación antigénica (Payne, 1998).

La mayoría de los ERV no se involucran en ninguna enfermedad; sin embargo, hay varios incidentes en los ERV que exhiben patogenicidad (Shimode *et. al*; 2013).

Dada la estrecha relación que se ha identificado entre virus endógenos y retrovirus infecciosos (exógenos), se ha podido establecer que comparten un ancestro común y que están vinculados genéticamente (Dewannieux, *et. al*; 2010).

Aunque durante mucho tiempo se pensó que el proceso de incorporación de provirus en el genoma era exclusivo de los retrovirus (Figura 4), hoy sabemos que muchos de los virus que infectan células eucariotas pueden acabar originando virus endógenos (López, 2015).

Además, estos informes sugieren que los ERV infecciosos pueden exhibir oncogenicidad en el huésped (aspecto común en la clínica de felinos) (Shimode *et. al*; 2013). En estos casos, los receptores de ERV infecciosos se expresan en las células del huésped mediante el uso de receptores para inducir linfoma, posiblemente a través de la inserción de los ERV en las proximidades de proto-oncogenes celulares, según Shimode *et. al*; 2013.

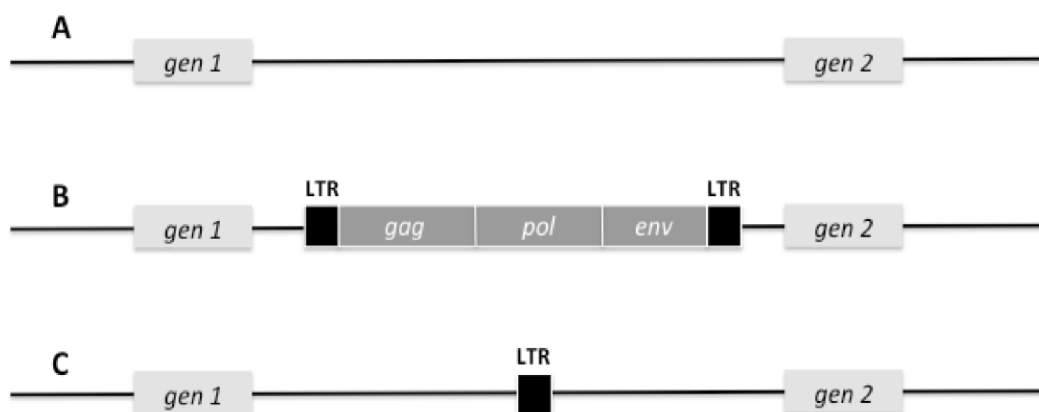


Figura 4.- Integración de genes provirales entre genes celulares.

(A) Lugar concreto entre los genes 1 y 2 del genoma del huésped donde se integrará el retrovirus. (B) Los retrovirus endógenos completos tienen los genes *gag*, *pol* y *env* rodeados de dos secuencias reguladoras

terminales denominadas LTR. (C) El 90% de los retrovirus endógenos no son activos y han perdido gran parte de los genes. Algunos solo contienen las secuencias LTR de los extremos, otros pueden tener también el gen *env* (López, 2015).

Otro aspecto interesante de comentar es como los ERV han sido implicados como agentes etiológicos de enfermedad autoinmune, debido a sus semejanzas estructurales y de secuencia con retrovirus exógenos asociados con desregulación inmune y a su expresión dependiente de la diferenciación. De hecho, se han observado partículas similares a retrovirus distintas de los conocidos retrovirus exógenos y la respuesta inmune a las proteínas de los ERV podría iniciar autoinmunidad a través de mecanismos directos o indirectos inducidos por factores ambientales o endógenos (Nakagawa y Harrison, 1996).

En algunos retrovirus endógenos se ha identificado la capacidad de transcribirse y traducirse en condiciones fisiológicas normales para las células, llegando a formar partículas virales completas, que les permite participar en procesos tan complejos como la placentación. Además de mostrar capacidad de retrotransposición (Fragmentos de un gen transcrito inversamente de manera espontánea e insertada en el ADN cromosómico) y recombinación que son una fuente importante de remodelación genómica junto con otros retroelementos que participan en la generación de retrogenes y retropseudogenes (Figura 5), que suponen un sustrato de variabilidad informacional fundamental para la aparición de nuevas estructuras y funciones. Estas funciones también están dadas por condiciones ambientales, así los cambios genómicos generados no son graduales, sino que aparecen en oleadas, de modo que se puede producir una variedad fenotípica muy extensa en momentos evolutivos concretos, coincidiendo con situaciones ambientales críticas (Sentís, 2002).

Un prerequisite para la formación de retroelementos es la transcripción reversa seguida de retrotransposición. Elementos transpuestos están flanqueados por repeticiones cortas directas del sitio de destino que se crean durante el proceso de integración (Löwer *et. al*; 1996).

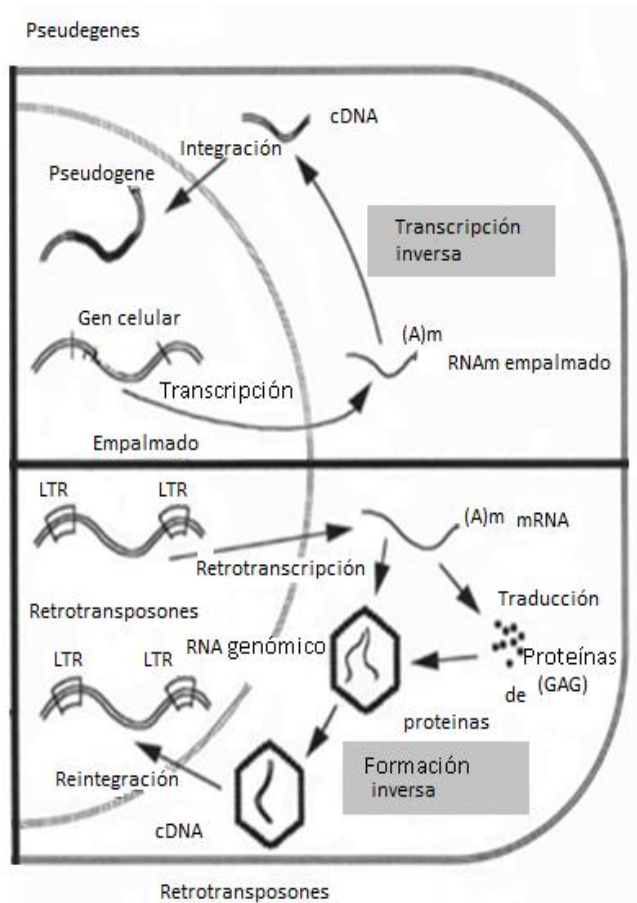


Figura 5.- Los ciclos de vida de retroelementos y la transposición de retrotransposones (Löwer et al; 1996).

Más de la mitad del genoma está compuesto de retrotransposones, son elementos móviles que se puede amplificar fácilmente. Su número se origina mediante copias de la replicación a través de un ARN intermedio. La mayoría de estos elementos son objetos móviles a lo largo de las secuencias reguladoras que todavía pueden servir como promotores, potenciadores o represores de genes celulares. Se asume que se mantiene inactiva a través de la metilación del ADN. Su activación aberrante se ha asociado con el cáncer y trastornos autoinmunes (Robbez-Masson y Rowe; 2015).

Los retrotransposones evolucionaron en una variedad de organismos que van desde los protozoos a los seres humanos (Figura 6). En estos elementos, los genes están ligados a genes codificantes. Estas proteínas son los equivalentes a el antígeno generalmente designado como de grupo-específico retroviral, que es la cápside. Los retrovirus se diferencian de retrotransposones por la presencia de por lo menos una región de codificación. Productos del gen *gag* han adquirido la capacidad de ser transportados a la superficie celular y al momento de gemar, hay incorporación de proteínas del gen *env*. Así, el gen *env* agrega a los retroelementos la capacidad de propagarse entre las células e individuos (infectividad) (Löwer *et al*; 1996).

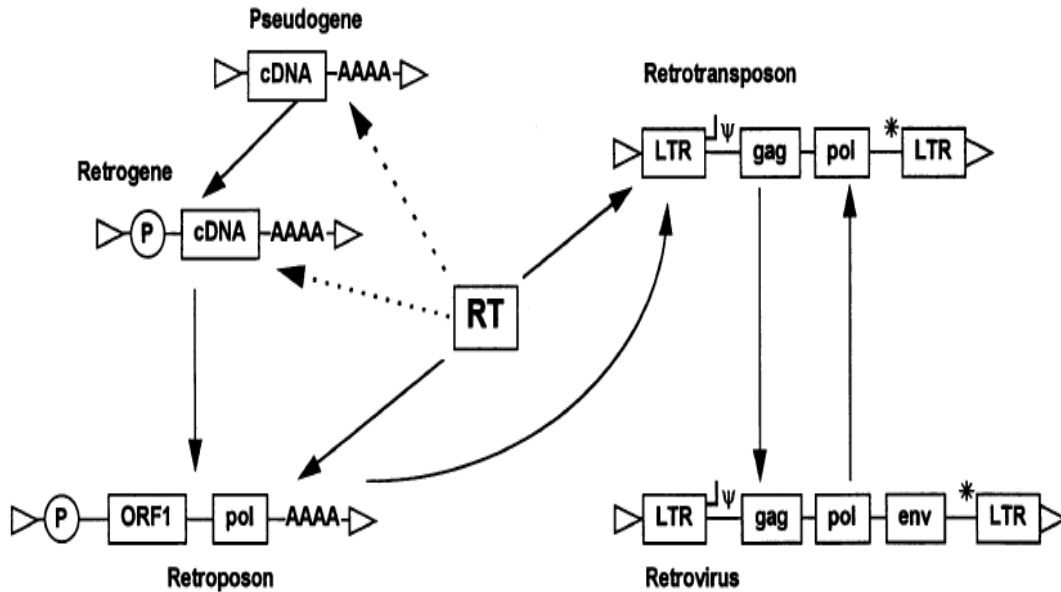


Figura 6.- Evolución de retroelementos. La generación de elementos genéticos por transcripción inversa; flechas de trazo continuo, la adquisición de nuevos elementos por recombinación; RT, revertir gen de la transcriptasa; ORF, marco de lectura abierta; *gag*, proteína de la cápside del gen; *pol*, gen de la polimerasa que codifica RT, ARNasa, integrasa, y otras enzimas; *env*, gen de la proteína de la envoltura; LTR, repetición terminal larga; P, el promotor; AAAA, poli (A) de cola; >, repeticiones directas (ADN celular); J, el sitio de unión del cebador; I, señal de empaquetamiento; *, Tracto polipurina (Löwer *et al*; 1996).

Los retrovirus endógenos han evolucionado para utilizar muchos receptores diferentes para la entrada a la célula, los cuales tienen diversas funciones para las células, incluido el transporte de los diversos solutos, reconocimiento inmune y señalización. Hay varios estudios que muestran la implicación de los ERVs en el desarrollo normal de la placenta de los mamíferos (Rasko *et. al*; 1999, López, 2015).

Algunos ERVs pueden tener otros beneficios, ya que pueden codificar genes responsables en la protección al huésped contra infecciones virales (López, 2015). El mecanismo es a través de proteínas derivadas de los genes *env* de algunos ERVs pueden actuar como factores de restricción contra otros retrovirus exógenos y protegen al animal de la infección (Figura 7). Un ejemplo concreto se ha descrito en el genoma de las ovejas. Se estima que el retrovirus endógeno denominado enJSRV56A1 se fijó en su genoma hace unos 3 millones de años. Éste expresa una proteína *env* que bloquea e impide la infección por el retrovirus exógeno JSRV (Retrovirus de Oveja Jaagsiekte), el agente causante de un tipo de cáncer de pulmón contagioso denominado Adenocarcinoma Pulmonar Ovino. Ejemplos similares se han descrito en ERVs de otros vertebrados, como pollos, ratones y gatos (López, 2015).

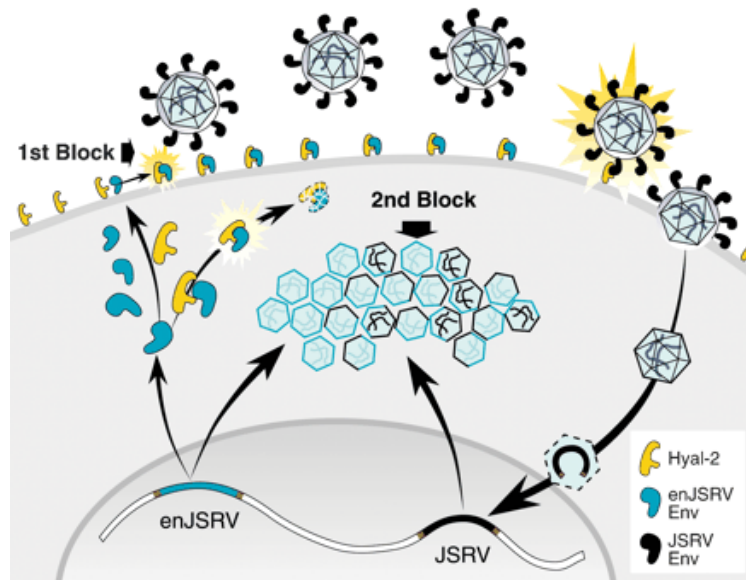


Figura 7.- Bloqueo de la expresión de retrovirus exógenos. Algunos retrovirus expresan proteínas de envoltura (Env) (FeLV) que pueden bloquear la infección de retrovirus exógenos (FeLV subgrupo B).¹

A pesar de la baja frecuencia de integración que se espera de los ERV en las células germinales en comparación a las células somáticas, los ERV se pueden encontrar en las aves, reptiles, anfibios, con un mayor genoma contenido en las aves de 30.420 elementos, que abarcan al 1,4% del genoma del pollo, en comparación con 0,1% del genoma de *Xenopus* (rana africana) (Naville y Volff, 2016).

En los vertebrados, todos los retrovirus pertenecen a una sola familia numerosa llamada Retroviridae, posiblemente con un origen monofilético. Mientras que algunos vertebrados con ERV son demasiado divergentes que son asignados a géneros de retrovirus exógenos específicos, estos han sido clasificados en tres clases principales basado en pruebas filogenéticas: clase I, con elementos relacionados con gamma y epsilon-retrovirus, clase II, incluyendo elementos de agrupación con los lentivirus, Alfa, Beta y Deltaretrovirus, y clase III, con secuencias similares a Spumavirus (Figura 8), que representa el más divergente grupo retroviral (Mata *et. al*; 2015, Naville y Volff, 2016).

¹ **Hyal-2.-** hialuronoglucosaminidasa 2: gen que codifica proteínas. Su gen codifica una hialuronidasa ácido-activa débil. La proteína codificada es similar en estructura a otras hialuronidasas más activas. Las hialuronidasas degradan el hialuronano, uno de los principales glicosaminoglicanos de la matriz extracelular; **EnJSRV Env.-** Retrovirus Endógeno de Oveja Jaagsiekte, **JSRV Env.-** Retrovirus de Oveja Jaagsiekte (López, 2015, PUBMED Gen ID del documento: 8692, actualizado el 05-nov-2016).

3.1 Retrovirus endógenos en gatos.

Al igual que la mayoría de las especies de vertebrados, en el genoma de los felinos se han encontrado retrovirus endógenos, indicando que la persistencia de retrovirus endógenos ha ocurrido desde un ancestro común a todos los gatos actuales, incluyendo los felinos salvajes (Palmero y Carballés 2012, Calle *et. al*; 2013).

En el genoma del gato doméstico se incluyen varias copias de dos retrovirus endógenos relacionados con el Virus de Leucemia Viral Felina (FeLV) y el virus RD-114 (Tandon, *et. al*; 2007, Palmero y Carballés 2012, Mata *et. al*; 2015).

Las células del riñón felino (Crfk) han sido utilizadas tanto para propagar y para investigar la biología de un gran número de virus envueltos, incluyendo a los retrovirus, tales como el Virus de la Inmunodeficiencia Felina (FIV), el Virus de Leucemia Felina (FeLV), el Virus del Tumor Mamario del Ratón (MMTV), herpesvirus, coronavirus y virus sincitial felino y en dicha línea celular se ha confirmado la presencia de retrovirus endógenos (Baumann *et. al*; 1998).

En la ausencia de un receptor específico, la entrada de virus es considerablemente baja o indetectable. Una técnica importante para la clasificación de los retrovirus según el tipo de receptor que utilizan es el análisis de interferencia (Rasko *et. al*; 1999).

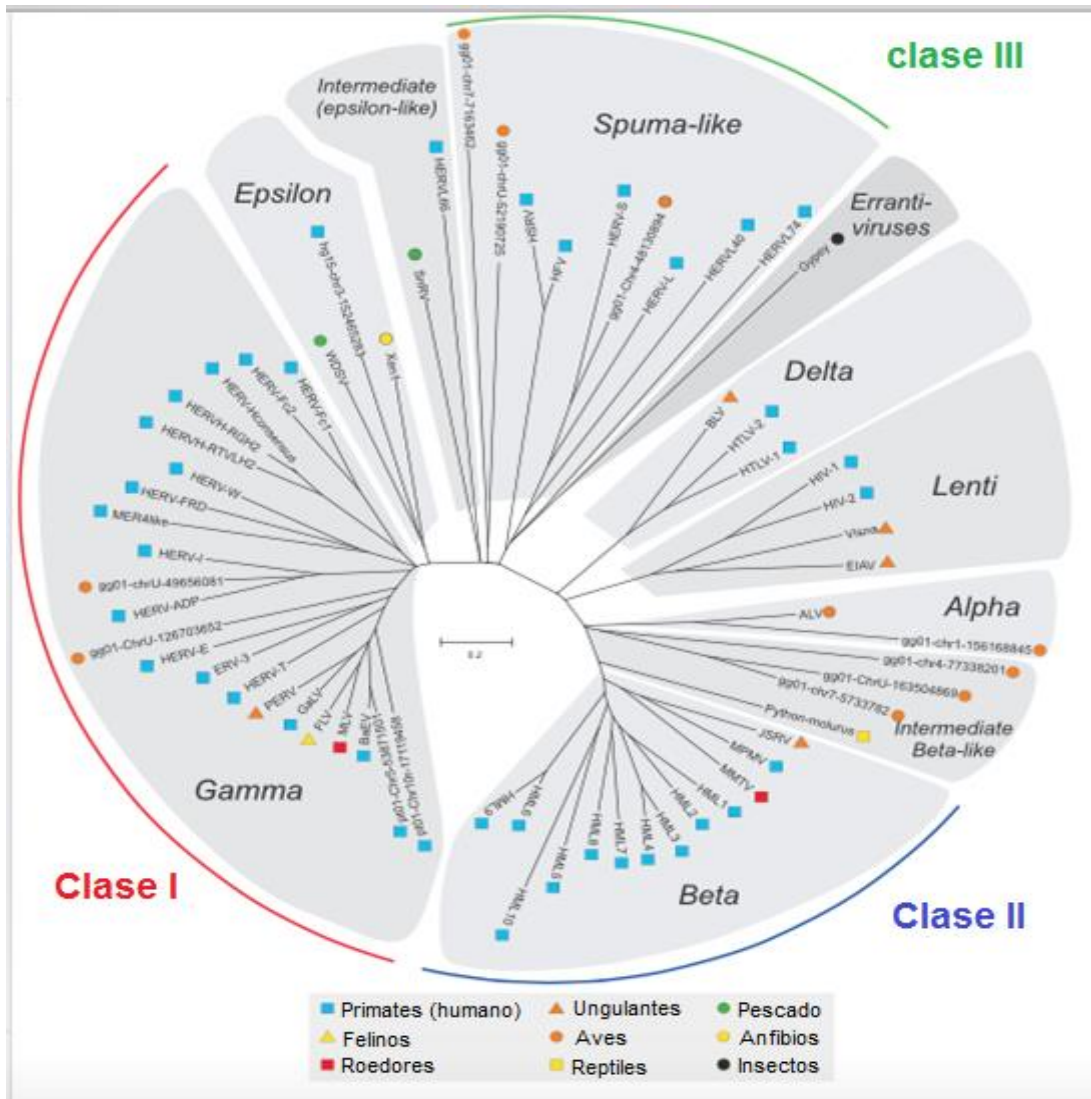


Figura 8.- Clasificación filogenética de retrovirus endógenos (Mata *et. al;* 2015).

También es posible clasificar a los retrovirus endógenos basados en su morfología, como tipo C o D que tienen la capacidad de transmitirse en la línea germinal de hospedador (Rasko *et. al;* 1999).

Existen diferentes programas que se pueden utilizar para estudios filogenéticos de virus y otros organismos, tales como: MEGA7, Clustal W, BLAST, ORF finder, etc.

El programa MEGA, se desarrolló para realizar análisis comparativos de ADN y proteínas, secuencias que tienen como objetivo inferir los patrones evolutivos de genes, especies y genomas, esto último hace referencia a las estimaciones genéticas que se realizan mediante la utilización de distintos modelos (algoritmos). Está siendo utilizado por biólogos en un gran número de laboratorios para reconstruir la evolución de las especies (Kumar *et. al;* 2012, Tamura *et. al;* 2013).

El programa BLAST (Basic Local Alignment Search Tool - Herramienta Básica de Búsqueda de Alineamientos Locales) es un algoritmo para la comparación (alineamiento) de secuencias. Más exactamente se encuentra clasificado dentro de los algoritmos para alineamiento local. En BLAST, una coincidencia de búsqueda contiene uno o más pares de segmentos con un alto grado de coincidencia (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>).

El programa ORF finder busca marcos de lectura abiertos (ORFs) en la secuencia de ADN que ingresa. El programa devuelve el rango de cada ORF, junto con su traducción de proteínas (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/orffinder/>).

Las técnicas recientes de secuenciación masiva (NGS, del inglés Next-Generation Sequencing) que pueden generar secuencias nucleotídicas de genomas completos y las herramientas bioinformáticas de análisis nos permiten detectar, incluso información de virus endógenos (Figura 9 y 10), un campo que ya se denomina paleovirología. Prácticamente cualquier virus puede acabar siendo virus endógeno. Se han encontrado virus de todas las clases y familias (Herpesvirus, Parvovirus, Reovirus, Flavivirus, Filovirus, Rhabdovirus, Hepadnavirus, etc.) y en cualquier tipo de genoma (insectos, plantas, hongos, peces, mosquitos, mamíferos, aves, etc.), desde unas pocas copias por genoma hasta cientos de miles. Muy probablemente esto haya ocurrido durante el proceso evolutivo como resultado de una integración accidental del genoma viral en un cromosoma de la línea germinal del huésped (López, 2015).

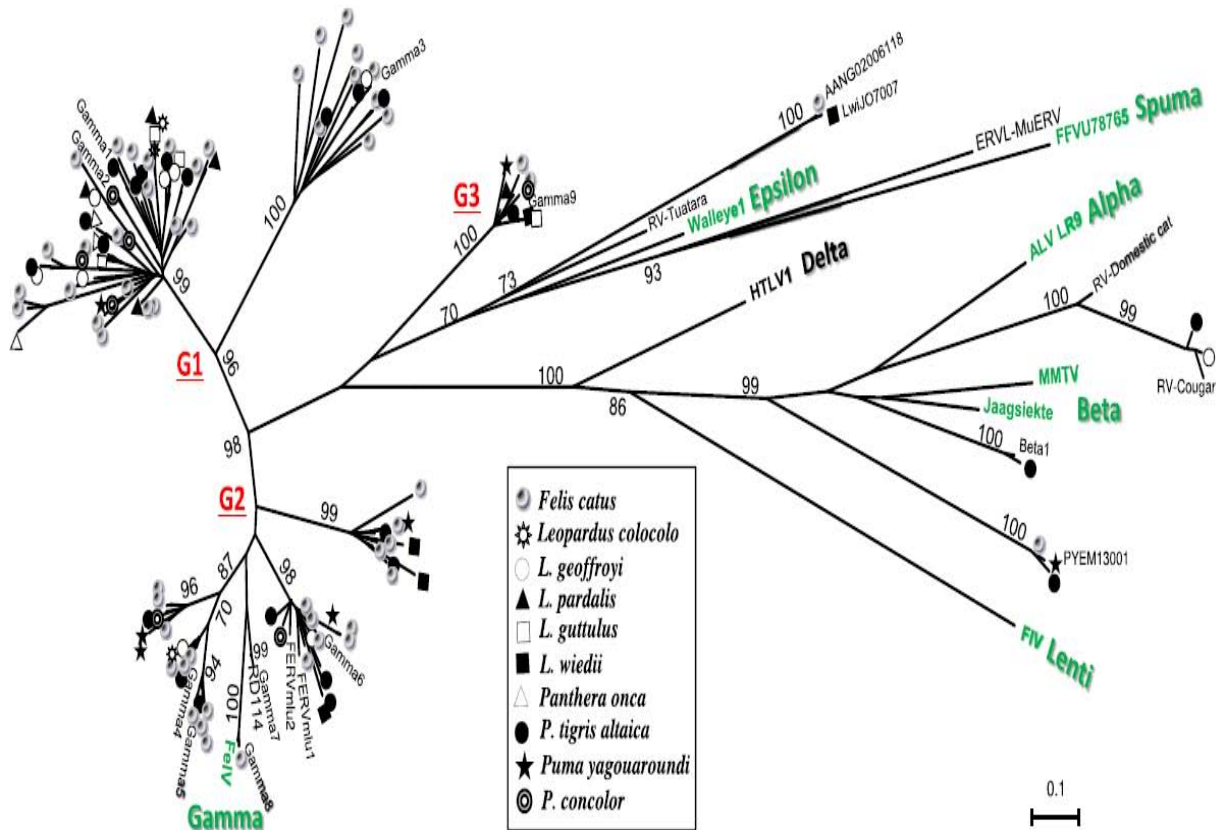


Figura 9.- Árbol filogenético que muestra la diversidad de retrovirus endógenos de felinos. Árbol construido con el algoritmo de máxima probabilidad, se basa en secuencias de aminoácidos deducidas de un fragmento de la RT (DataSet1; 147 codones). Bootstrap valores > 70% se indican al lado de los nodos respectivos (omitidos para mayor claridad en las ramas terminales). La designación de las especies huésped son de acuerdo a la leyenda del recuadro gráfico. G1 a G3 en rojo se refieren a grupos gammaretrovirus distintas identificadas basa en los resultados filogenéticos y Gamma1-9 fueron descritas anteriormente por Song *et. al*; 2012. Retrovirus exógenos y sus respectivos géneros están en verde (Mata *et. al*; 2015).

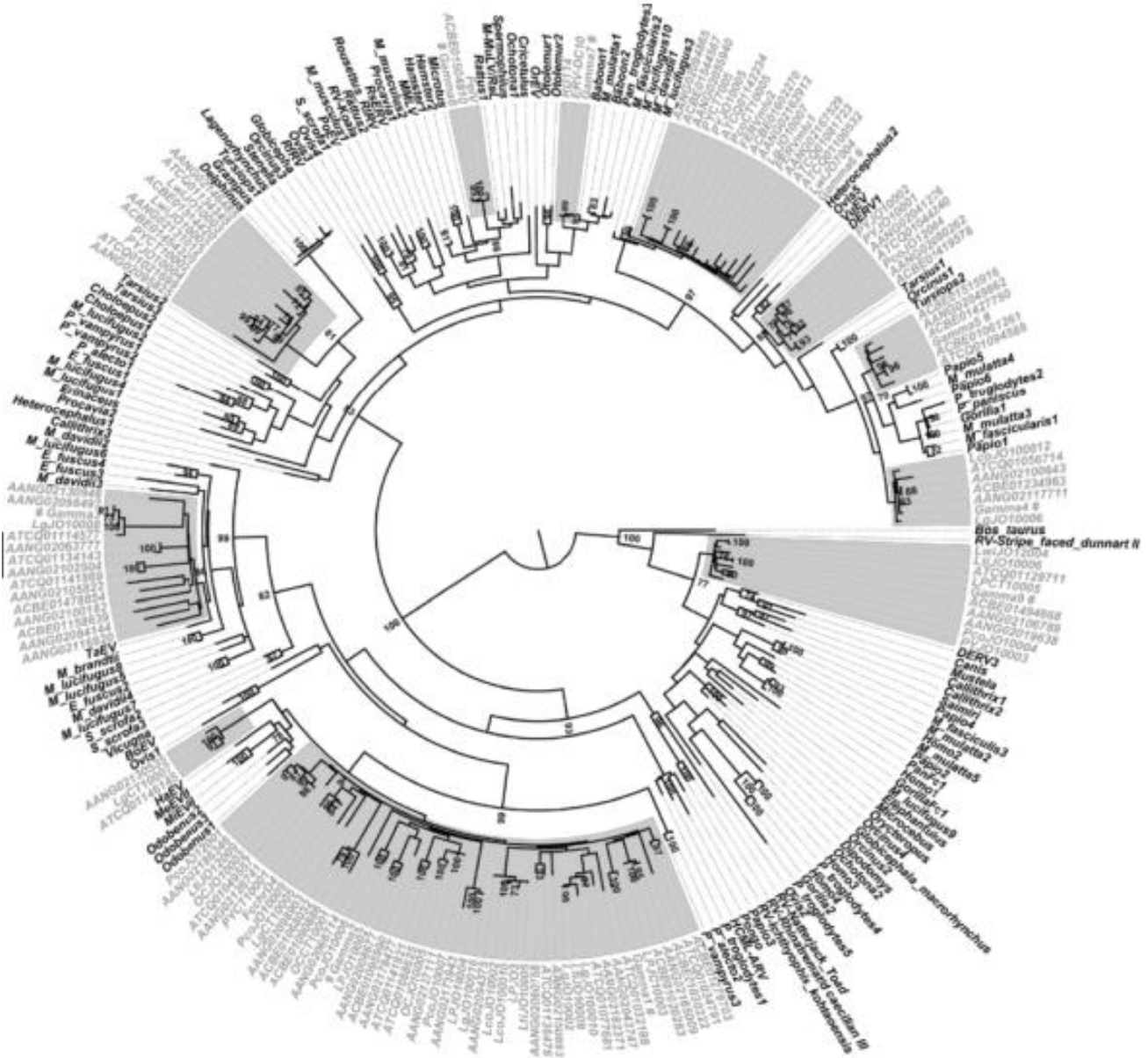


Figura 10.- Árbol filogenético que muestra la diversidad de gammaretroviruses félicos. Árbol construido con el algoritmo de máxima verosimilitud, se basa en fragmentos de aminoácidos del gen *pro-pol* (conjunto de datos 3; 198 codones). Bootstrap valores > 70% están comparadas con respectivas ramas. Las secuencias de WGS *Panthera tigris* altaica [GenBank: ATCQ01000000], *Felis catus* [GenBank: AANG00000000] (raza abisinia) y [GenBank: ACBE00000000] (raza mixta) se indican. Puma *concolor* (secuencias que inician con PCO), *P. yagouaroundi* (Py), *L. geoffroyi* (Lg), *L. colocolo* (LCO), *L. guttulus* (UGL), *L. pardalis* (LP), *L. wiedii* (Lwi) y también se representan *P. onca* (OC). Números romanos I a XI representan distintos linajes retrovirales como Gamma-caracterizados en este estudio (marcado en rojo). La barra de escala en la parte inferior de la figura representa la distancia en sustituciones de aminoácidos por sitio (Mata *et. a.*; 2015).

Se han realizado estudios para estimar el tiempo de integración de ERV en el genoma del gato. La tasa de sustitución de regiones codificantes por año para los pseudogenes se ha calculado en $2.3- 5.0 \times 10^{-9}$ (Tabla 4). La secuencia de mayores identidades han sido de $<75\%$ y la longitud diferencial arriba de 5 pb entre la región 5' y 3' siendo excluidas las porciones LTRs para reducir al mínimo los efectos atípicos (Song *et. al*; 2013).

Familia FcERV	Número de elementos	Divergencia de nucleótidos	10^9 X Tasa de sustitución anual	Años aproximados	
				Min	Max
FcERV $\gamma 1$	18	0.110 \pm 0.028	2.3	17.8	30
			5	8.2	13.8
FcERV $\gamma 6$	35	0.056 \pm 0.018	2.3	8.2	16
			5	3.8	7.4

Tabla 4.- Estimación del tiempo de integración del retrovirus de las familias de FcERV más abundantes en el genoma felino de acuerdo con la divergencia de secuencias de la región LTR (Song *et. al*; 2013).

Existen pocos estudios sobre la investigación básica de retrovirus felinos domésticos en México y su importancia: virus de leucemia felina (FeLV), virus de inmunodeficiencia felina (FIV) y virus endógenos de FeLV (Tabla 5). El recabar información para analizar la frecuencia de estos virus es trascendental para dar pauta a una mejor detección. Siendo necesario tener diferentes metodologías, con el fin de identificar la diversificación de elementos retrovirales (Mata *et. al*: 2015).

Tabla 5.- Diferentes trabajos que involucran estudios de retrovirus felinos en México.

Técnica	%	FIV	FeLV	Autor
Necropsia, ELISA comercial y Biometría	0%	0	0	Morales, 1993
ELISA	7.4%	X		Marín, 2005
Wester Blot (Wb) y ELISA Indirecta (ELISAI) Gp70 (p45)	61%			Zagal, 2011
ELISA Indirecta Gp70 (p45)	45%		X	
ELISA Indirecta Gp70 (p45)	85%		X	Carrión, 2012
Inmunocromatografía	2.5%	X		Ortega-Pacheco, 2013
Inmuno-dot	73%		X	Moreno, 2014
Wb				Autran, 2014
ELISAI	80% (FeLV)		X	
PCR	87% (FeLV)			
PCR	24%	X		González, 2015
PCR secuenciación			54 % Endógenos	Autran, 2016
ELISAI (péptidos sintéticos)	10.24%	X		Escalante, 2016
Análisis y características de la estructura química de la transcriptasa reversa de los retrovirus en los animales domésticos (revisión bibliográfica)				Portuguez, 2014

4.- enFeLV y leucemia viral felina (FeLV).

Se sabe que existen virus endógenos relacionados con infección y enfermedad de leucemia felina en felinos domésticos y salvajes (enFeLV), que se transmiten de forma vertical. Los niveles de endógenos que se encuentran en las diferentes especies silvestres del género *Felis*, están estrechamente relacionados con endógenos del gato doméstico. Recientemente se han identificado nuevas secuencias nucleotídicas de virus endógenos de FeLV con marcos de lectura abierta intactos, así como con la región LTR funcional; este tipo de secuencias parecen estar limitadas a ciertas razas de gatos domésticos (Roca *et. al*; 2005; Tandon, *et. al*; 2008^a).

Hasta hoy en día se han encontrado que existen 6 subgrupos de FeLV (Figura 11). Estos se clasifican de acuerdo con su tropismo celular, que se determina principalmente por la composición estructural de la envoltura viral (Greene 2000, Cano *et. al*; 2011, Ramírez *et. al*. 2016, Miyake *et. al*; 2016).

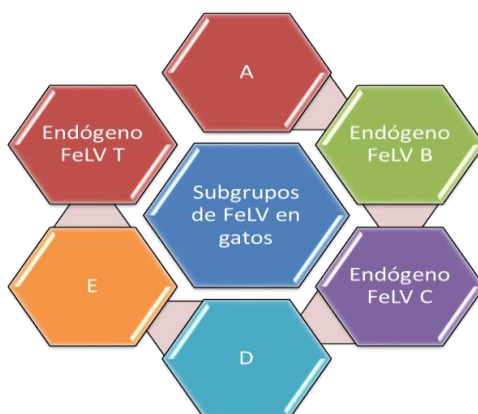


Figura 11.- Subgrupos de FeLV en felinos.²

Hay cerca de 20 copias de FeLV endógeno en el genoma del gato. Secuencias endógenas del FeLV no producen por sí mismos virus infeccioso, pero fácilmente pueden recombinarse con el virus de la leucemia exógeno, especialmente en la región *env* que codifica para la envoltura viral, produciendo virus recombinantes con alteración biológica en la patogenicidad (Roca *et. al*; 2005, Tandon, *et. al*; 2008^b, Miyazawa, 2010, Shimode *et. al*; 2013).

Las secuencias de enFeLV que están presentes en el genoma del gato doméstico son homólogas a los virus de FeLV exógenos (exFeLV), siendo retrovirus oncogénicos capaces de inducir enfermedades proliferativas y degenerativas (Roca *et. al*; 2004).

² Subtipo A: es el más común.

Subtipo B, C y T: por recombinaciones de FeLV tipo A con virus endógenos.

Subtipo T: relacionado con tumores.

Subtipo D: el menos común.

Las secuencias de enFeLV no producen virus infecciosos, aunque enFeLV no produce infecciones por cuenta propia, hay secuencias que fácilmente se recombinan con exFeLV y pueden producir enfermedad. Existen intentos fallidos de aislar o inducir virus endógenos en líneas celulares (Roca *et. al*; 2004).

Los exFeLV carecen de segmentos enFeLV recombinantes y se clasifican en el subgrupo A, los otros dos subgrupos de exFeLV B y C, resultan de la recombinación entre segmentos de enFeLV y exFeLV. EL virus recombinante puede exhibir actividad biológica alterada y actividad patógena. A pesar de su posible papel en la protección contra infecciones y su capacidad reconocida para recombinar con exFeLVs para producir nuevas cepas, la estructura genómica y la variación de enFeLVs no han sido bien caracterizada (Roca *et. al*; 2004).

Algunos estudios *in vitro* han demostrado que hasta tres cuartas partes de la glicoproteína de superficie (gp70), podrían sustituirse por secuencias de enFeLV y producir quimeras activas, aunque la eficiencia de la infección de estas quimeras en ciertos tipos de células parece ser influenciado por el lugar de origen del componente endógeno y por la longitud del inserto del endógeno. También se han identificado varios sitios de cruce en el gen *env*, seleccionado en el proceso de recombinación (Figura 12). Estos resultados junto con un gran marco de lectura, dice que el gen *env* endógeno es un potencial sitio de destino para la recombinación homóloga (Pandey *et. al*; 1991).

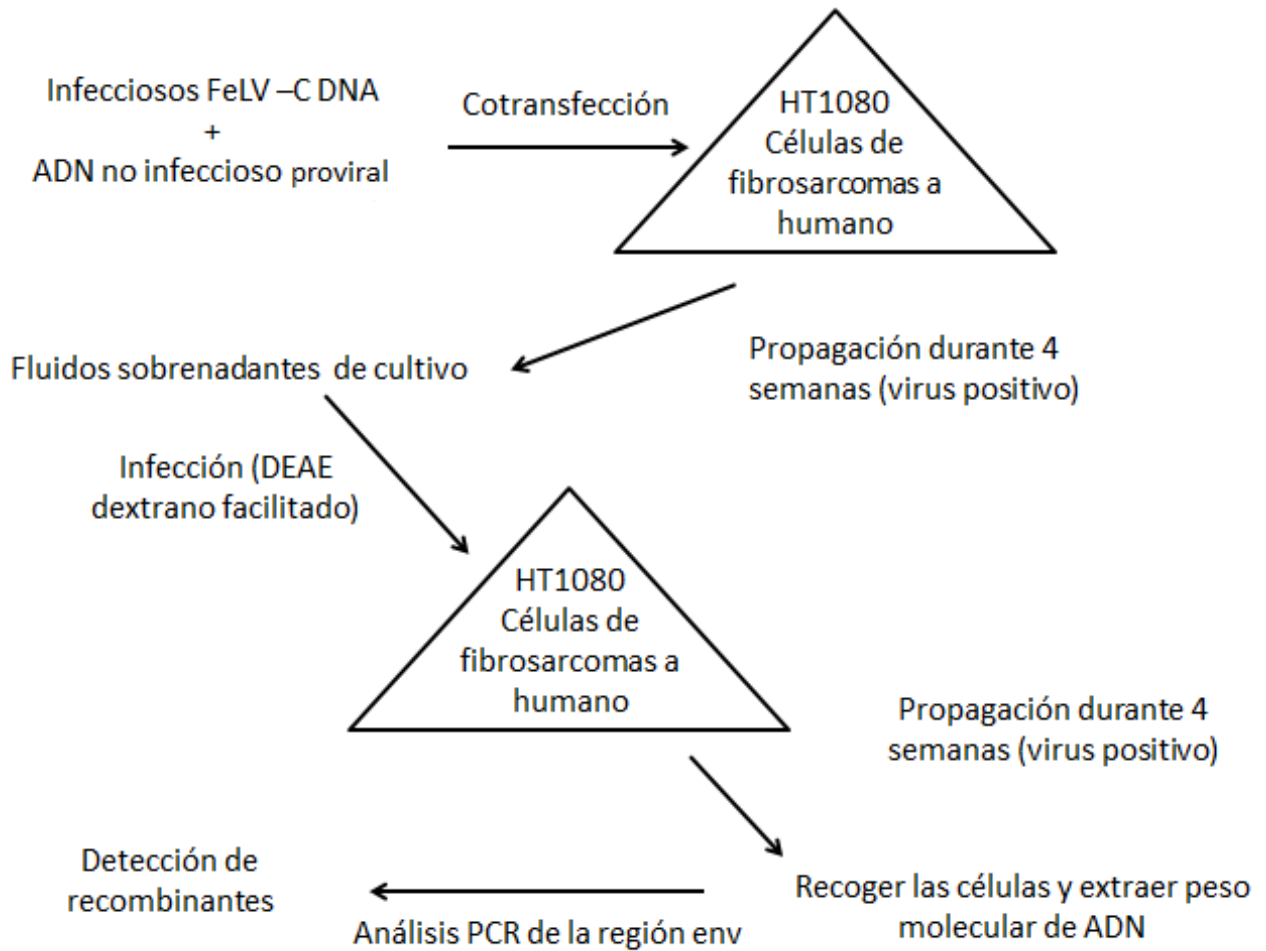


Figura 12- Recombinación inducida en células co-transfectadas. Esta es una estrategia que se utiliza para generar virus recombinantes involucrando expresión de ambos exógenos-*env*- y endógenos en ARNs virales específicos en las mismas células con el fin realizar recombinação por formación de heterocigotos. Los esquema de este trabajo utilizan el ADN FeLV-C infeccioso y una construcción de ADN proviral no infeccioso (Pandey *et. al*; 1991).

La transcripción y traducción de enFeLVs también se han demostrado en los tejidos de gatos sanos, incluyendo tejido linfóide, lo que sugiere un papel protector para enFeLVs en vivo. Además, la inoculación con el subgrupo recombinante de exFeLV B atenúa la infección por el subgrupo de exFeLV D. Por el contrario, una proteína que deriva de una región de *env* enFeLV fue encontrada que facilita la infección por un exFeLV. Hay copias moleculares de enFeLV encontradas en estudios de infección de ADN que no son infecciosas, probablemente debido a alteraciones en las secuencias que regulan la expresión génica o mutación de la secuencia de codificación (Roca *et. al*; 2004).

Naturalmente estos subgrupos no son transmitidos de gato a gato pero bajo circunstancias generadas por FeLV-A puede suceder, esto se da por una mutación o recombinação del

genoma de FeLV-A con genes de la célula o con los genes de los retrovirus endógenos dentro del genoma del gato (Greene, 2012).

La patogenicidad de FeLV-B y FeLV-C en combinación con FeLV-A es mayor, que cuando únicamente solo FeLV-A se encuentra infectando al gato (Greene, 2012).

Dos enFeLV completos sin descripción previa, identificados como enFeLV-AGTT (8,695 pb) y enFeLV-GGAG (8667 pb), fueron aislados y secuenciados (Figura 13). Un análisis de los marcos de lectura abiertos (ORFs) revelaron marcos de lectura de enFeLV-AGTT similares a los ORFs de patógenos exFeLV (Roca *et. al*; 2004).

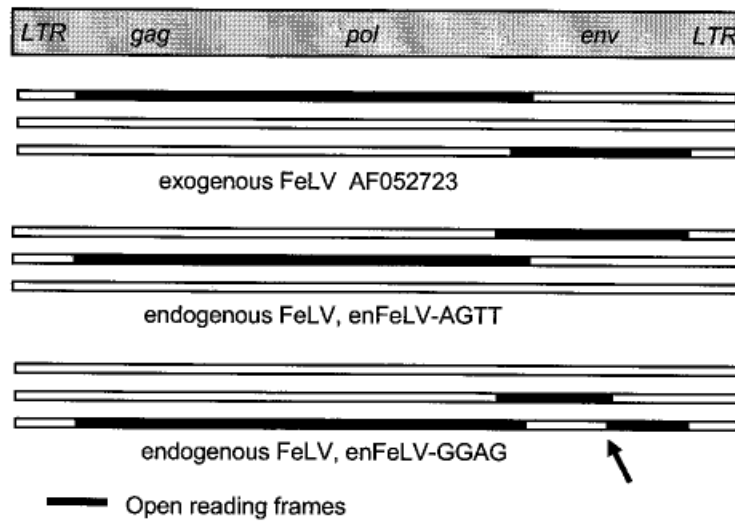


Figura 13.- Mapa genómico estructural de provirus de endógenos de FeLV identificados como enFeLV-AGTT y en FeLV-GGAT comparados con exFeLV (Roca *et. al*; 2004).

5.- Virus RD-114.

El retrovirus endógeno conocido como RD-114, se ha identificado en gatos domésticos, vacas, perros, cerdos, hurones etc.; en líneas celulares y vacunas; además de tejidos como pulmón, bazo, riñón etc. (Figura 14). Tienen el tamaño de un genoma completo de virus endógeno y son producidos espontáneamente o inducidos *in vitro* en células felinas. También ha sido identificado en vacunas vivas atenuadas utilizadas en pequeñas especies, las cuales se han producido a partir del uso de líneas celulares de origen felino (Miyazawa, 2010, Calle *et. al*; 2013, Yoshikawa, *et. al*; 2014, Miyaho *et. al*; 2015).

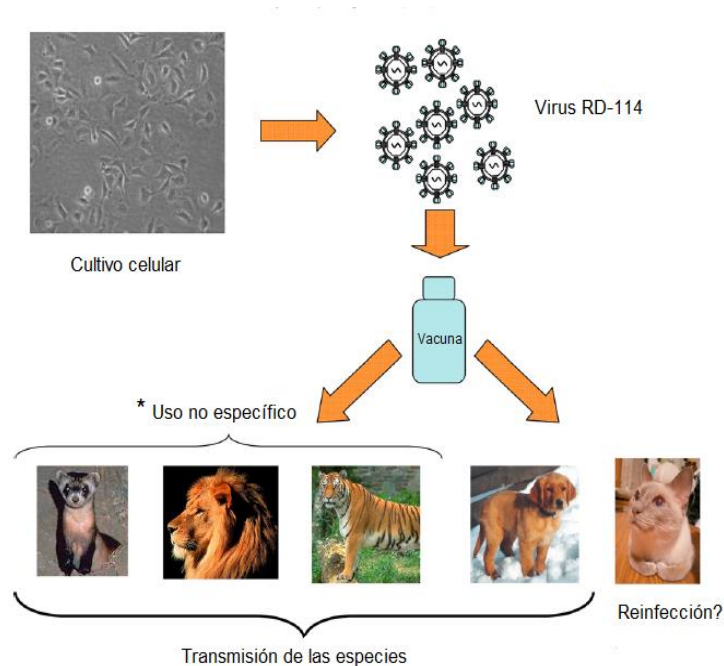


Figura 14.- Riesgos de contaminación del virus RD-114 en vacunas vivas atenuadas. *Uso no específico: la vacuna se puede utilizar en animales de compañía, pero su uso en animales exóticos no es recomendado ya que no se sabe qué efectos puede provocar en ellos (Miyazawa, 2010).

El virus RD-114 muestra un alto nivel de homología con el virus del mono babuino endógeno (BAEV), lo que se atribuye a una antigua transmisión entre especies. El RD-114 puede expresarse en el cromosoma de gato. Un análisis del provirus de RD-114 en el genoma del gato doméstico mostró que hay aproximadamente 20 provirus integrados por célula, pero la mayoría han perdido sus genes *env* o habían sido reemplazados (Figura 15). No hay secuencias disponibles completas para RD-114; sólo el gen *env* y el extremo 3' del gen *pol* han sido secuenciados, y hay algunas secuencias de la repetición terminal larga (LTR) (Van Der Kuyl *et. al*; 1999).

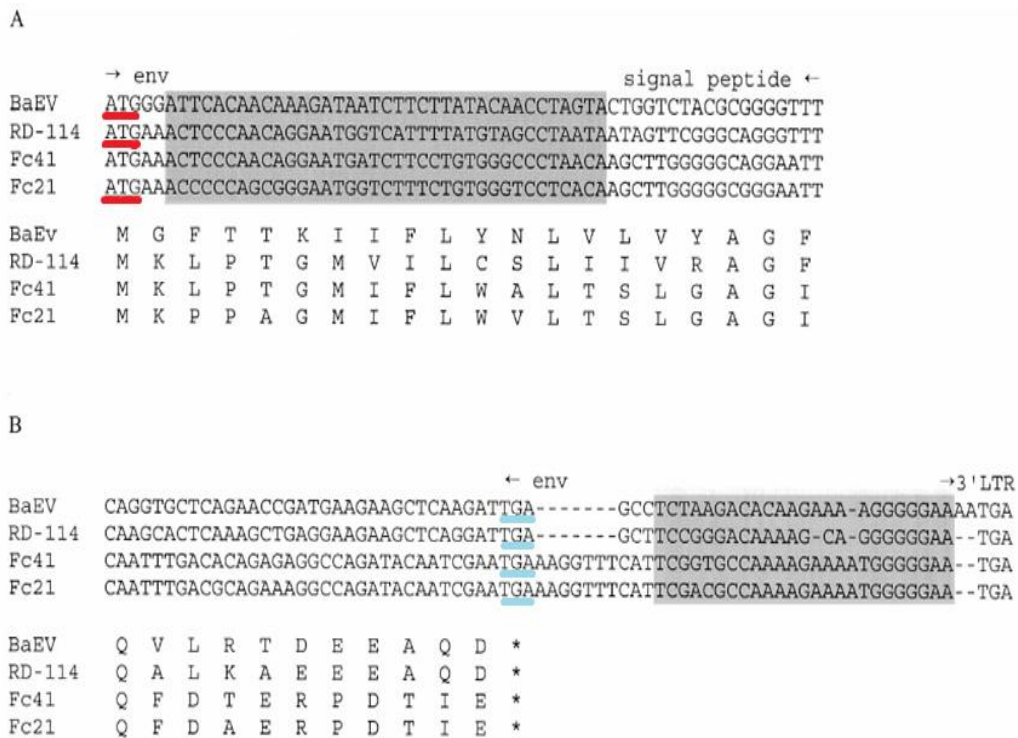


Figura 15.- Análisis de los puntos de ruptura de la recombinación de RD-114 comparado con otros endógenos. (A) Punto de ruptura hipotético localizado en la región 5' correspondiente a la secuencia de péptido señal de la gp70. El codón de inicio de *env* esta subrayado (■). El sombreado indica secuencias homólogas probablemente implicadas en la recombinación. Se muestran los aminoácidos derivados de las secuencias de péptidos señal. (B) Punto de ruptura hipotético situado entre el codón de parada de *env* 3' subrayado (■), y el inicio de la LTR en el extremo 3' (flecha). Posible área de recombinación está sombreada. Se muestran secuencias de aminoácidos en extremo C-terminal de P15E (Van Der Kuyl *et. al*; 1999).

El virus RD-114 tiene la misma estructura genómica que el BAEV. El gen *env* del RD-114 se deriva probablemente de BAEV y no del virus de los primates SERV (uno de los antepasados de BAEV). Aunque los tres genes *env* son generalmente muy homólogos, BAEV y RD-114 tienen gran homología en la parte extrema. La recombinación probablemente ocurrió justo en el *gen env* (Van Der Kuyl *et. al*; 1999). Ahora se sabe que el RD-114 es un virus de tipo endógeno C que fácilmente infecta células de humanos, primates y células de perro, y produce un efecto citopático de formación de sincitios. El virus RD-114 en felino es competente para la replicación, hay varias líneas de células de felinos que producen virus RD-114 (Rasko *et. al*; 1999, Shimode *et. al*; 2012). Recientemente se ha logrado comprobar que el virus RD-114 puede infectar y replicarse en células felinas, sin embargo, la susceptibilidad de diversos animales domésticos al virus RD-114 es todavía confuso a excepción de animales domésticos como el gato, perro, cerdo, conejo y visón (Shimode *et. al*; 2012, Miyaho *et. al*; 2015). Por lo tanto, es posible que el virus RD-114 provoque enfermedades neoplásicas donde el provirus se integra en el entorno de proto-oncogenes (Shimode *et. al*; 2013).

En la figura 16 se observan células de rhabdiosarcoma humano donde se aisló un virus endógeno, las cuales fueron trasplantadas en fetos de gatos (Anai, 2012).

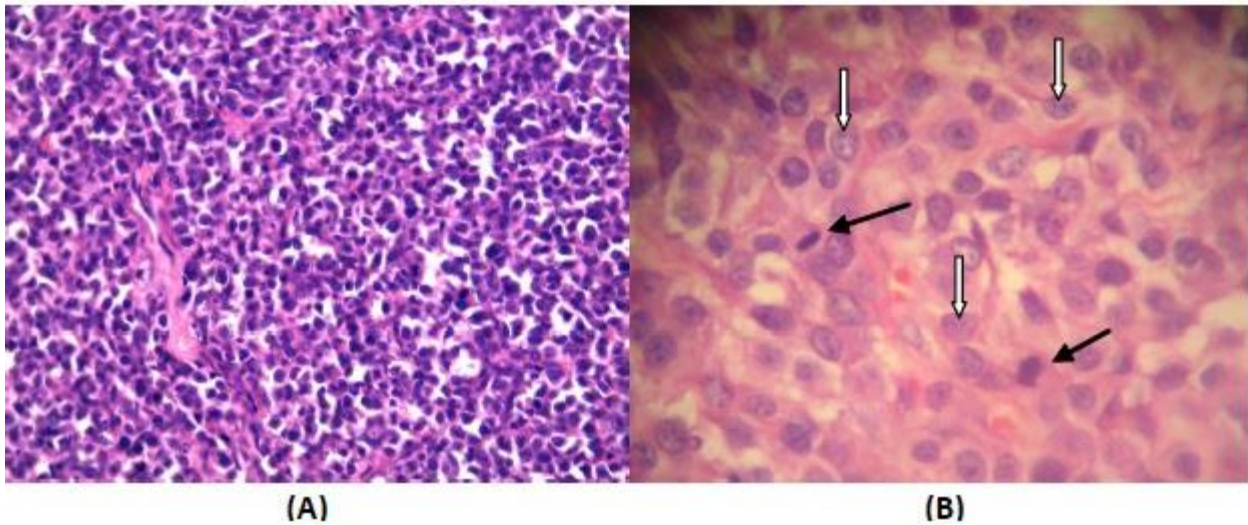


Figura 16.- Histopatología de un rhabdiosarcoma. Fetos de gatos (A). Se observan células redondas de diverso tamaño. H&E, 100X (B). Células redondas con citoplasma eosinofilo. Las flechas negras indican figuras en mitosis. 400X (Anai, 2012).

Los receptores para los virus que interfieren con el virus RD-114 (es decir, el mismo grupo de interferencia) se han identificado al transportar aminoácidos dependientes de sodio (ASCT) tipos 1 y 2 en los seres humanos, ratas, ratones y perros (Shimode *et. al*; 2013).

5.1 Contaminación de vacunas de animales con virus RD-114.

Muchas de las vacunas vivas atenuadas para animales se fabrican usando líneas celulares felinas como: Células de Riñón Felino (Crfk), Carcinoma de Células de Merkel de la mama (MCC) y Células de Fibroblasto de Embrión de Ratón (FER), que también pueden producir el virus RD-114 (Figura 17). Además, recientemente se encontró que dos vacunas vivas atenuadas (parvovirus canino tipo 2) usadas en perros, fueron producidas en líneas celulares 'no felinas' encontrándose contaminadas con el virus RD-114 (Yoshikawa *et. al*; 2014).

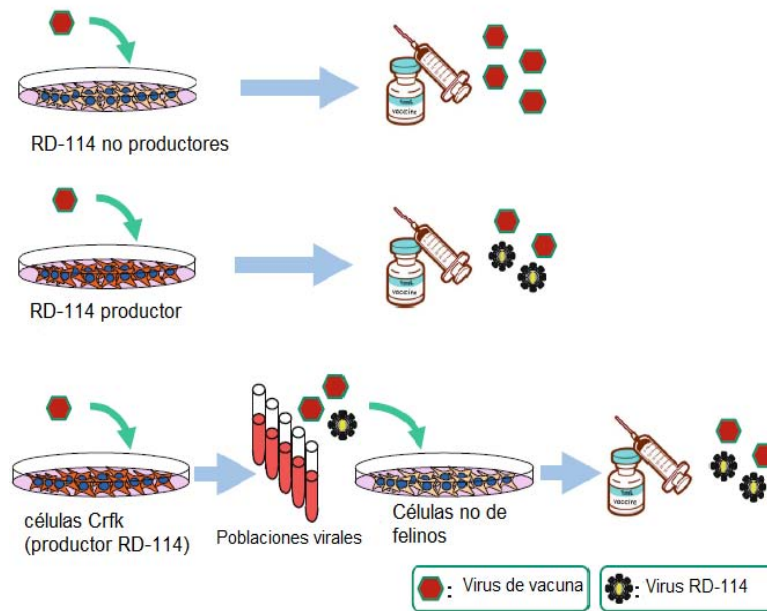


Figura 17.-Vías de contaminación de vacunas vivas atenuadas con el virus RD-114. El virus puede contaminar las vacunas fabricadas utilizando células productoras de virus RD-114. Para la producción de varias vacunas para caninos se utilizan células Crfk productoras de virus RD-114 (Yoshikawa *et. al*; 2014).

5.2 Riesgos potenciales de infección con el virus RD-114.

Los genomas de mamíferos contienen enormes copias de retrovirus endógenos. En general, ERV no es patógeno en felinos, sin embargo, una vez que un *erv* infeccioso infecta a un nuevo hospedador, puede comportarse como un retrovirus exógeno e inducir enfermedades (Yoshikawa *et. al*; 2012).

El virus RD-114 infecta eficientemente células primarias así como las líneas celulares establecidas de caninos. Sería importante identificar el receptor viral que favorece la predicción de patogenicidad y tropismo viral. El virus RD-114 no induce efectos como otros virus, y anticuerpos contra el virus no están disponibles en el mercado (Miyazawa, 2010; Shimode, 2012; Yoshikawa *et. al*; 2012; Yoshikawa *et. al*; 2014).

6.- ERV identificados en diferentes órganos.

En algunos retrovirus endógenos se ha identificado la capacidad de transcribirse y traducirse en condiciones fisiológicas normales para las células, llegando a formar partículas virales completas, que les permite participar en procesos tan complejos como la placentación. Además, de mostrar capacidad de retrotransposición (Fragmentos de un gen transcrito inversamente de manera espontánea e insertados en el ADN cromosómico) y recombinación que son una fuente importante de remodelación genómica junto con otros retroelementos que participan en la generación de retrogenes y retropseudogenes que

suponen un sustrato de variabilidad informacional fundamental para la aparición de nuevas estructuras y funciones. Estas funciones también están dadas por condiciones ambientales, así los cambios genómicos generados no son graduales, sino que aparecen como ya se mencionó en oleadas, de modo que se puede producir una variedad fenotípica muy extensa en momentos evolutivos concretos, coincidiendo con situaciones ambientales críticas (Tabla 6) (Sentís, 2002).

Tabla 6.- ERV en felinos

ÓRGANOS	
Bazo	Cerebro
Hígado	Linfonodos
Medula ósea	Placenta
Pulmón	Timo

Tomado de Sherding, 1995; Palmero y Carballés, 2012.

En otras especies los ERV se pueden encontrar en tejidos como:

- Articulaciones.
- Bazo.
- Células madres embrionarias.
- Cerebro.
- Glándula mamaria.
- Hígado.
- Linfonodos.
- Musculo esquelético.
- Páncreas.
- Piel.
- Placenta.
- Pulmones.
- Sistema nervioso.
- Timo.
- Útero. etc. (Bittmann *et. al*; 2012, Robbez-Masson y Rowe; 2015).

7.- ERV involucrados en la placentación.

La placenta es un órgano transitorio que aparece sólo durante la gestación y juega un papel esencial en el mantenimiento del feto en esta etapa. Estudios recientes han proporcionado información sobre la afinidad que tienen los ERV por la placenta en varias especies y se puede identificar RNAm en la misma. También es un sitio en que diferentes elementos son transferidos al feto en desarrollo como hormonas y otros factores que se liberan a la

circulación de la madre para influenciar el metabolismo materno en beneficio del feto (Haig, 2012, Nakaya y Miyazawa, 2015).

Retrovirus como MERV-L en ratones y en humanos HERV-H son las herramientas de gran alcance para seleccionar poblaciones de células pluripotentes primitivas con el fin de estudiar el desarrollo temprano y ofrecer nuevas perspectivas en las estrategias de reprogramación y en la generación de medicamentos de células madre. Los virus endógenos pueden transmitirse de padres a hijos a través de gametos sin necesidad de infectar una nueva célula (Haig, 2012, Robbez-Masson y Rowe; 2015).

Se considera que un virus exógeno se puede convertir en un virus endógeno, sin cambiar sus propiedades, o secuencia, cuando un virus endógeno infecta una célula del huésped este se convierte en un virus exógeno cuando una de sus células somáticas produce una partícula infecciosa que infecta a otra célula somática del mismo huésped o un hospedador diferente (Haig, 2012).

El gen *env* pertenece a un linaje retroviral que se ha mantenido entre las células o las proteínas, el gen *env* ha adquirido una función que puede llegar a beneficiar al hospedador. Varias familias de ERV expresadas en la placenta contienen genes *env* intactos: la expresión placentaria de un ERV puede inducir tolerancia inmunológica para su posterior movilización en otros tejidos (Tabla 7). Una hipótesis más simple es que los ERV se expresan en el trofoblasto porque sus progenitores inmediatos tienen origen en el mismo o desde el trofoblasto a través de otras células somáticas (Figura 18) (Roa *et. al*; 2012).

Tabla 7.- Clasificación de diferentes tipos de placentas

Morfología Microscópica	Estructura Microscópica	Especies	Interface feto madre	Tipo de células fusionadas
Discoidales	Hemocorial	Humano, ratón	Trofoblasto sangre	Sincitiotrofoblasto
Zonaria	Endoteliocorial	Gato, perro	Trofoblasto endotelial	Sincitiotrofoblasto
Cotiledónea	Sinepiteliocorial	Vaca, oveja	Trofoblasto epitelial (parcialmente fusionada)	Hibrido feto maternal
Difusa	Epiteliocorial	Caballo, cerdo	Trofoblasto epitelial	Nada

Tomada de Nakaya y Miyazawa, 2015.

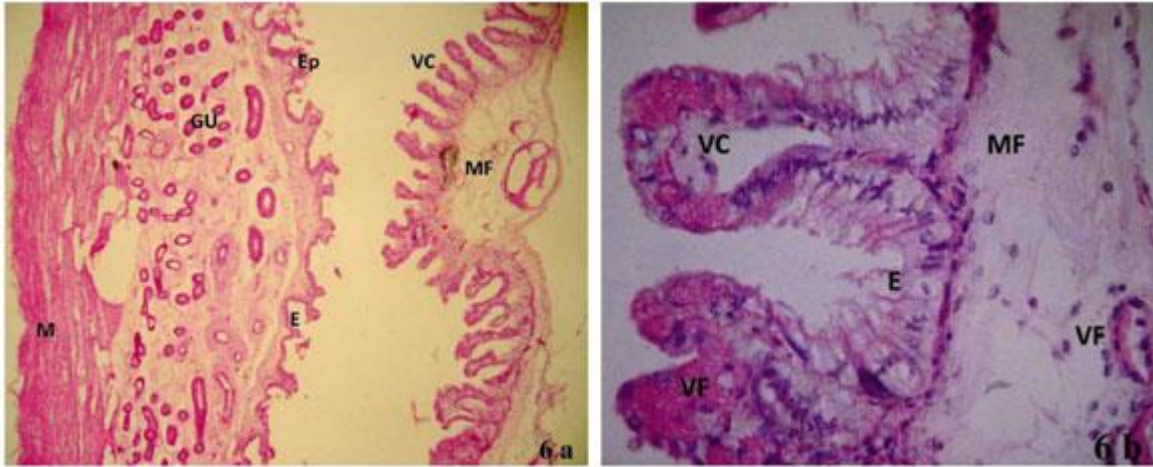


Figura 18.- Placenta de porcino

Abreviaturas.- VC: Vellosidad corial; Ep: Epitelio; E: Endometrio; MF: Mesénquima fetal; GU: Glándulas uterinas; M: Miométrio; VF: Vaso fetal; MF. Mesénquima fetal (Roa et. al; 2012).

La estrecha aposición de los tejidos uterinos y placentarios crea un sitio de transmisión viral de la madre al feto. Un ERV en la madre podría potencialmente colonizar todos los hijos de la madre. Para que esto sea una vía eficaz de contagio permanente, virus transmitidos de madre a la placenta a veces deben volver a infectar células somáticas o células germinales del feto (o madre) (Haig, 2012).

Los retrovirus también pueden ser transmitidos a través de la placenta en dirección inversa, a partir de la descendencia a la madre. En este escenario, la expresión de la placenta permite a los ERV colonizar nuevos sitios en los genomas maternos. Un ERV expresado en el trofoblasto podría liberar partículas o microvesículas que infecten los tejidos maternos (o los tejidos de los hermanos de camada a través de la circulación materna). Las inserciones en las células somáticas de la madre podría ser una estación de paso para la infección de sus ovocitos (con transmisión endógena a las futuras crías) y por diversas vías de transmisión exógena (incluyendo transmisión a través de futuras placentas de las futuras crías) (Haig, 2012).

8.- Metodología, identificación, prevención y uso de los retrovirus endógenos.

Hay varios métodos para detectar retrovirus endógenos y exógenos, tales como microscopía electrónica, ensayo de actividad de la transcriptasa reversa (RT), reacción en cadena de polimerasa con transcripción reversa (RT-PCR), pruebas de RT-PCR en tiempo real e inmunohistoquímica (Figura 19). Sin embargo, estas pruebas no miden la infectividad del virus (Miyazawa, 2010).

Tabla 8.- Pruebas recomendadas por la OMS

Pruebas para la detección de retrovirus endógenos recomendadas en la caracterización de líneas celulares			
Prueba	Banco celular muestreo	Banco celular de trabajo	Células en el límite de pases
Infectividad	+	-	+
Microscopía electrónica	+	-	+
Transcriptasa inversa	+	-	+
Otros virus	+	-	+
Para virus concretos	Según procede		Según proceda

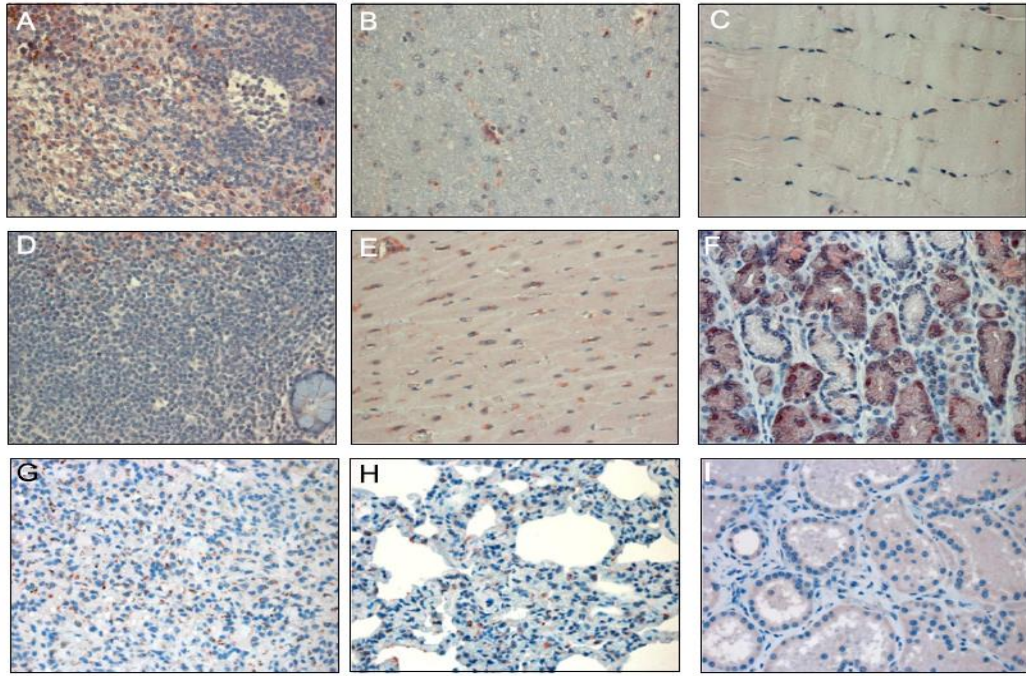


Figura 19.- Inmunohistoquímica de varios órganos de cerdo (A-lumbar de ganglios linfáticos, B-cerebro, C y D - músculo, E-miocarditis, F-estómago, G- bazo, H-pulmón, I-riñón). El riñón y el músculo se tiñeron con suero específico para PERV p15E, todos los otros tejidos se tiñeron con antisuero específico para PERV del gen *gag*. Mientras que A, B, D, E, G y H muestran la expresión de la proteína recombinante de PERV gen *gag* en intensidades variables con un patrón de tinción granular; estómago, riñón y músculo no muestran inmunorreactividad, aumento original 400X (Bittmann *et. al*; 2012).

En diversos genomas de vertebrados se han logrado secuenciar ERV los cuales se han caracterizado usando varias técnicas (PCR, cultivo celular y aislamiento). Uno de los primeros enfoques fue la capacidad de estimular la inducción de la liberación de virus de células normales después del tratamiento con radiaciones ionizantes, agentes mutagénicos químicos o cancerígenos. También se han detectado ERV basándose en su homología utilizando sondas sintéticas, así como la hibridación y secuenciación (Gifford y Tristem, 2003, Song *et. al*; 2013).

La vacunación con ERVs puede ser un enfoque prometedor para prevenir la transmisión de retrovirus, por la utilización de los receptores en humanos (Denner *et. al*; 2015).

A diferencia de otros patógenos los retrovirus endógenos no pueden ser eliminados mediante la cría libre de patógenos. Anteriores estrategias para reducir el riesgo de transmisión han incluido pequeños RNAs de interferencia (RNAi), vacunas y la eliminación utilizando las nucleasas de dedos de zinc pero éstas han tenido un éxito limitado (Yang, 2016).

En cerdos se ha usado exitosamente el sistema de nucleasas de ARN-guiada CRISPR-Cas9 para inactivar todas las copias del gen *pol* de PERV y efectuar una reducción de 1000 veces la infectividad del PERV en las células humanas (Yang, 2016).

La mayoría de las investigaciones que se han realizado sobre ERV se centran en su contribución en el desarrollo de enfermedad, otras investigaciones sugieren que puede jugar un papel en la fisiología normal. Incluso con el conocimiento limitado que está disponible en esta área de investigación existen varios tratamientos para el cáncer que se han centrado en la explotación de la expresión de ERV (principalmente de proteínas de *env*) en la superficie de las células tumorales (Nadeau *et. al*; 2015).

Otros usos que tienen los retrovirus endógenos son: bloqueo de retrovirus exógenos y endogenización contra infecciones retrovirales (Nadeau *et. al*; 2015).

Los retrovirus son inactivados con solventes lipídicos y detergentes, así como por temperaturas de 56° C durante 30 minutos, pero son más resistentes que otros virus a la luz ultravioleta y a los rayos X, probablemente debido a que su genoma es diploide (Fenner *et. al*; 1992).

vi. CONCLUSIONES.

Los retrovirus endógenos se pueden encontrar en cualquier especie viva, ya sea plantas o animales, los cuales han sido una fuente importante de infección a lo largo de la evolución de las especies.

En la información recopilada se encontró que los ERVs han estado a lo largo de la evolución en felinos, se han encontrado desde los felinos ancestros hasta los felinos modernos, y han participado de forma importante en las enfermedades de dichos animales. Los ERV conocidos en felinos son una muestra de la evolución que estos han sufrido y la adaptación del virus al genoma del animal.

En el genoma del gato podemos encontrar dos ERV de gran importancia: enFeLV y RD-114.

Sabemos que el FeLV causa una de las principales enfermedades de gatos domésticos y que existen programas de vacunación para controlar esta enfermedad, aunque al parecer no se han logrado buenos resultados.

Estudios realizados en Japón y Estados Unidos han demostrado que el virus RD-114 es un riesgo para el desarrollo de vacunas, pues se contaminan y posteriormente son aplicadas en perros y gatos. Cuando la vacuna se produce utilizando cultivos celulares, partes retrovirales pueden ser las causantes de la contaminación y hasta el momento no se han encontrado cuales son las consecuencias claras de que esto suceda. Se desconoce si el virus

puede ocasionar alguna enfermedad, pero lo que sí se sabe es que afecta a una gran cantidad de órganos en felinos si el virus está activado.

Existen varios programas bioinformáticos que nos permiten realizar análisis moleculares relacionados con este tipo de virus, al igual que nos proporcionan herramientas que nos ayudan a conocer a detalle una secuencia de proteínas o nucleótidos, y nos permiten determinar la evolución genética con la construcción de árboles filogenéticos.

En México no existen estudios básicos que apoyen el uso de retrovirus endógenos como una forma de control para las enfermedades retrovirales, tampoco se conoce la función y/o interrelación con otras enfermedades de la misma especie viral.

VII. BIBLIOGRAFÍA.

1. Anai Y; Ochi H; Watanabe S; Nakagawa S; Kawamura M; Gojobori T; Nishigakia K; Infectious Endogenous Retroviruses in Cats and Emergence of Recombinant Viruses, *Journal of Virology*, 2012, (86), 16:8634–8644.
2. Autrán M. M; Uso de la técnica de PCR para confirmar el diagnóstico de leucemia viral felina y el análisis filogenético de los productos amplificados. *Virología, Genética y Biología Molecular*. Tesis de Maestría, Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, Cuautitlán Izcalli. 2014.
3. Baumann J. G; Günzburg W. H; Salmons B; CrFK Feline Kidney Cells Produce an RD114-Like Endogenous Virus That Can Package Murine Leukemia Virus-Based Vectors, *Journal of Virology*, 1998, 72 (9):7685–7687.
4. Bittmann I; Mihica D; Plesker R; Denner J; Expression of porcine endogenous retroviruses (PERV) in different organs of a pig, *Virology*, 2012, 433:329–336.
5. Blomberg J; Benachenhou F; Blikstad V; Sperber G; Mayer J; Classification and nomenclature of endogenous retroviral sequences (ERVs): Problems and recommendations, *Journal?*, 2009, 448:115-123.
6. Calle J. F; Fernández G. L; Morales L. M; Ruiz J; Virus de la leucemia felina: un patógeno actual que requiere atención en Colombia, *Veterinaria y Zootecnia*, 2013, 7 (2):117-138.
7. Cano H. J; Gallelli M. F; Gómez N. V; Virus de la Leucemia Felina (ViLeF): Actualización, *Veterinaria Argentina*, 2011, 280:1- 14.
8. Carrión V. L. E; Evaluación de una prueba de ELISA indirecta para el diagnóstico de leucemia viral felina utilizando la proteína gp 70 (Epitope p45), *Virología, Genética y Biología Molecular*. Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, Cuautitlán Izcalli, 2012.
9. Cordeiro N; Taroco R; Retrovirus y VIH, *Temas de Bacteriología y Virología Médica*, 3era edición, ed. Medica Panamericana Uruguay. 2008.
10. De Luca D; Los retrovirus endógenos y su rol en el melanoma cutáneo, *Educación Medica Continua Dermatología Argentina*, 2013, 2:91-99.
11. Denner J; Petersen B; Niemann H; Tolerance and immune response to the porcine endogenous retrovirus in German landrace pigs immunized with viral proteins, *Virus Research*, 2010, 108:39–43.
12. Dewannieux M; Ribet D; Heidmann T; Risks linked to endogenous retroviruses for vaccine production: A general overview, *Biological*. 2010: 366-370.
13. Escalante A. M. A; Diagnóstico del virus de inmunodeficiencia felina (FIV) en gatos domésticos, mediante el uso de una ELISA indirecta basada en péptidos sintéticos. *Virología, Genética y Biología Molecular*. Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, Cuautitlán Izcalli, 2016.
14. Fenner F; Bachmann P. A; Jibbs E. P; Murphy F. A; Studdert M. J; White D; *Virología Veterinaria*; ed. Acribia, S. A. España, 1992.
15. Gifford R; Tristem M; The Evolution, distribution and diversity of endogenous retroviruses, *Virus Genes*. 2003, 26:291-315.

16. González F. V. D; Detección en México del virus de inmunodeficiencia felina mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), *Virología, Genética y Biología Molecular*. Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, Cuautitlán Izcalli, 2015.
17. Greene C. E; *Enfermedades Infecciosas en perros y gatos*, 2da edición, ed. McGraw Hill Interamericana, México, 2000.
18. Greene C. E; *Infectious Diseases of the dog and cat*, ed. Fouerth, 4ta edición, Estados Unidos, 2012, 108-135.
19. Haig D; *Retroviruses and the Placenta*, Elsevier, 2012, (22):15.
20. Kuma S; Stecher G; Peterson D; Tamura K; MEGA-CC: computing core of molecular evolutionary genetics analysis program for automated and iterative data analysis, *Sequence analysis*, 2012, 28, 20:2685–2686.
21. López G. I. Somos lo que somos porque somos virus y bacterias: el impacto de los microorganismos endógenos en la biología del huésped, *Nova Acta Científica Compostelana (Biología)*, 2015, 22:15-21.
22. Löwer R; Löwer J; Kurth R; The viruses in all of us: Characteristics and biological significance of human endogenous retrovirus sequences, 1996, 93:5177-5184.
23. Magiorkinis G; Blanco-Melo D; Belshaw R; The decline of human endogenous retroviruses: extinction and survival, *Magiorkinis et al. Retrovirology* 2015, 12:8.
24. Mata H; Gongora J; Eizirik E; Alves B. M; Soares M. A.; Ravazzolo A. P; Identification and characterization of diverse groups of endogenous retroviruses in felids, *Retrovirology*, 2015, 12(26):2-14.
25. Miyaho R. N; Nakagawa S; Hashimoto-Gotoh A; Nakaya Y; Shimode S; Sakaguchi S; Yoshikawa R; Takahashi M. U; Miyazawa T; Susceptibility of domestic animals to a pseudotype virus bearing RD-114 virus envelope protein, *Gene* 2015, 567: 189–195.
26. Miyazawa T; endogenous retroviruses as potential hazards for vaccines, *Biological*, 2010, 38:371-376.
27. Moreno N. R. B; Uso de la técnica de inmuno-Dot para el diagnóstico de anticuerpos contra el virus de leucemia viral felina (FeLV) como prueba tamiz, *Virología, Genética y Biología Molecular*. Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, Cuautitlán Izcalli, 2014.
28. Nadeau M. J; Manghera M; Douville R. N; Inside the Envelope: Endogenous Retrovirus-K Env as a Biomarker and Therapeutic Target, *Frontiers in Microbiology*, 10.3389, 2015. 01244.
29. Nakagawa K; Harrison L. C; The Potential Roles of Endogenous Retroviruses in Autoimmunity, *Immunological Reviews*, 1996, 156:193-236.
30. Nakaya Y; Miyazawa T; The Roles of Syncytin-Like Proteins in Ruminant Placentation, *Viruses* 2015, 7:2928-2942.
31. Naville M; Volff J. N; Endogenous Retroviruses in Fish Genomes: From Relics of Past Infections to Evolutionary Innovations, *Frontiers in Microbiology*, 10.3389, 2016. 01197.
32. Nesina S; Helfer-Hungerbuehler A. K; Riond B; Boretti F; Willi B; Meli M. L; Grest P; Hofmann-Lehmann R; Retroviral DNA—the silent winner: blood

- transfusion containing latent feline leukemia provirus causes infection and disease in naïve recipient cats, *Retrovirology*, 2015, 12:105.
33. Palmero C. M. L; Carballés P. V; Enfermedades infecciosas felinas, Ed. Servet, España, 2012.
 34. Pandey R; Ghosh A. K; Kumar D. V; Bachman B. A; Shibata D; Roy- Burman P; Recombination between Feline Leukemia Virus Subgroup B or C and Endogenous env Elements Alters the In Vitro Biological Activities of the Viruses, *Journal of Virology*, 1991, 65: 6495-6508.
 35. Payne L. N. retrovirus strikes back. The emergence of subgroup J avian leukosis virus, *Avian Pathology*, 1998, 27:36-45.
 36. Portuguez C. C; Análisis y características de la estructura química de la transcriptasa reversa de los retrovirus en los animales domésticos (revisión bibliográfica), *Virología, Genética y Biología Molecular*. Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, Cuautitlán Izcalli, 2014.
 37. Ramírez H; Autrán M; García M. M; Carmona M. A; Rodríguez C; Martínez H. A; Genotyping of feline leukemia virus in Mexican housecats, *Arch Virol* 2016, 161:1039–1045.
 38. Rasko J. E; Battini J. L; Gottschalk R. J; Mazo I; Miller D; The RD114 and simian type D retrovirus receptor is a neutral amino acid transporter; *Cell Biology*, 1999, 96: 2129–2134.
 39. Roa I; Smok S. C; Prieto G. R; Placenta: Anatomía e Histología Comparada, *International Journal of Morphology*, 2012, 30(4):1490-1496.
 40. Robbez-Masson L; Rowe M H; Retrotransposons shape species-specific embryonic stem cell gene expression, *Retrovirology*, 2015, 12:45.
 41. Roca A. L; Nash W. H; Menninger J. C; Murphy W. J; O'Brien S. J; Insertional Polymorphisms of Endogenous Feline Leukemia Viruses, *Journal of Virology*, 79:3979–3986.2005.
 42. Roca A. L; Pecon-Slattery J; O'Brien S; Genomically Intact Endogenous Feline Leukemia Viruses of Recent Origin, *Journal of virology*, 2004, 78:4370–4375.
 43. Sentís C; Retrovirus endógenos humanos: significado biológico e implicaciones evolutivas, *Arbor*, 2002, 172 (677):135-167.
 44. Sherding, R.G; *The Cat diseases and clinical management*, 2^a Ed. Churchill Livingstone, New York, USA, 1995.
 45. Shimode S; Nakaoka R; Shogen H; Miyazawa T; Characterization of feline ASCT1 and ASCT2 as RD-114 virus receptor, *Journal of General Virology*, 2013, 94:1608–1612.
 46. Shimode S; Yoshikawa R; Hoshino S; Nakaya Y; Sakaguchi S; Kobayashi T; Miyazawa T; Sequence comparison of three infectious molecular clones of RD-114, virus, *Genes*, 2012, 45:393–397.
 47. Song N; Jo H; ChoM; Kim J. H; Seo H. G; Cha S. Y; Seo K; Park C; Identification and classification of feline endogenous retroviruses in the cat genome using degenerate PCR and in silico data analysis, *Journal of General Virology* 2013, 94, 1587–1596.

48. Tamura K; Stecher G; Peterson D; Filipski A; Kumar S; MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 6.0, *Mol. Biol. Evol.* 2013, 30, 12:2725–2729.
49. Tandon R; Cattori V; Pepin A.C; Riond B; Meli M. L; McDonald M; Doherr M. D; Lutz H; Hofmann-Lehmann R; Association between endogenous feline leukemia virus loads and exogenous feline leukemia virus infection in domestic cats, *Virus Research* 2008, 135:136–143(b).
50. Tandon R; Cattori V; Willi B; Lutz H; Hofman R; Quantification of endogenous and exogenous feline leukemia virus sequences by real time PCR assays, *Veterinary Immunology and Immunopathology* 2008, 23: 129-133(a).
51. Tandon R; Cattori V; Willi B; Meli M. L; Gomes-Keller M. A; Lutz H; Hofmann-Lehmann R; Copy number polymorphism of endogenous feline leukemia virus-like sequences, *Molecular and Cellular Probes*, 2007, 21:257–266.
52. Tsangaras K; Mayer J; Alquezar D. E; Greenwood A. D; An Evolutionarily Young Polar Bear (*Ursus maritimus*) Endogenous Retrovirus Identified from Next Generation Sequence Data, *Viruses* 2015, 7:6089–6107.
53. Valenzuela M; Muñoz L; Vilbuta G; Tallo L; Leucemia viral Felina (Parte I), *Monografías Medicina Veterinaria*, 2002, 22: 22-29.
54. Van Der Kuyl A.C; Dekker J.T; Goudsmit J; Discovery of a New Endogenous Type C Retrovirus (FcEV) in Cats: Evidence for RD-114 Being an FcEVGag-Pol/Baboon Endogenous Virus BaEVEEnv Recombinant, *Journal of Virology*, 1999, 73:7994–8002.
55. Xiao R; Kwangha P; Hoontaek L; Jinhoi K; and Chankya P; Identification and Classification of Endogenous, Retrovirus in cattle, *Journal of Virology*, 2008, 82 (1):582-587.
56. Yang L; Güell M; Niu D; George H; Lesha E; Grishin D; Aach J; Shrock E; Xu W; Poci J; Cortazio R; Wilkinson R. A; Fishman J. A; Church G; Genome-wide inactivation of porcine endogenous retroviruses (PERVs), *Scienceexpress*, 2016, 10.1126.
57. Yoshikawa R; Sato E; Miyazawa T; Presence of Infectious RD-114 Virus in a Proportion of Canine Parvovirus Isolates, *The Japanese Society of Veterinary Science*, 2012, 74(3):347–350.
58. Yoshikawa R; Sayumi S; Shoichi S; Takayuki M; Contamination of live attenuated vaccines with in infectious feline endogenous retrovirus (RD- 114). *Archive Virology*. 2014, 159:399-404.
59. Zagal L. N. E; Estandarización de una prueba de ELISA indirecta para el diagnóstico de leucemia viral felina (estudio preliminar), *Virología, Genética y Biología Molecular*. Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, Cuautitlán Izcalli, 2011.

PAGINAS WEB

60. <http://blast.wustl.edu> (noviembre, 2016).
61. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/orffinder/> (noviembre, 2016).
62. <http://www.ebi.ac.uk/cgi-bin/readseq.cgi> (noviembre, 2016).
63. <http://www.who.int/es> (noviembre, 2016).