



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN

Implicaciones fisiológicas asociadas a retrovirus
endógenos

TESIS

Que para obtener el título de:
Médica Veterinaria Zootecnista

Presenta:

Brianda Minerva Ruiz Leyva

Asesor:

M. en C. Víctor David González Fernández

CUAUTITLÁN IZCALLI, EDO DE MÉXICO, 2019



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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.

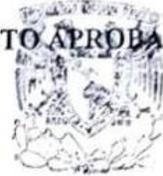


UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN
SECRETARÍA GENERAL
DEPARTAMENTO DE EXÁMENES PROFESIONALES

SUPERIORES-CUAUTITLÁN

ASUNTO: VOTO APROBATORIO



M. en C. JORGE ALFREDO CUÉLLAR ORDAZ
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLÁN
PRESENTE

ATN: I.A. LAURA MARGARITA CORTAZAR FIGUEROA
Jefa del Departamento de Exámenes Profesionales
de la FES Cuautitlán.

Con base en el Reglamento General de Exámenes, y la Dirección de la Facultad, nos permitimos comunicar a usted que revisamos el: **Trabajo de Tesis**

Implicaciones Fisiológicas asociadas a retrovirus endógenos

Que presenta la pasante: BRIANDA MINERVA RUIZ LEYVA

Con número de cuenta: 31120557-2 para obtener el Título de la carrera: Medicina Veterinaria y Zootecnia

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el EXAMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro VOTO APROBATORIO.

ATENTAMENTE

"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"

Cuautitlán Izcalli, Méx. a 25 de noviembre de 2019.

PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO

	NOMBRE	FIRMA
PRESIDENTE	M. en C. Jorge Muñoz Muñoz	
VOCAL	M. en C. Gerardo Arcila López Tello	
SECRETARIO	M.V.Z. Víctor David González Fernández	
1er. SUPLENTE	M. en C. Rubén Arturo Torres León	
2do. SUPLENTE	Dr. Alejandro Vargas Ruiz	

NOTA: los sinodales suplentes están obligados a presentarse el día y hora del Examen Profesional (art. 127).

LMCF/ntm*

A mis padres Araceli Leyva y Luis Ruiz, que desde niña me dieron todas las armas para esta vida, me enseñaron a ser competitiva y exigirme cada día más porque no hay nada más valioso que el conocimiento y eso es lo único que puede trascender más allá de nuestra vida.

A mi pareja que me apoyo durante todo el trayecto de mi carrera. Gracias mi amor, mi apoyo y mi inspiración.

Principalmente quiero remarcar lo mucho que agradezco a mis padres por darme una excelente educación y con esto no me refiero solo a la académica, no, me refiero a las horas que dedicaron a leerme de niña a inculcarme ese amor por la lectura, esa pasión por el conocimiento. Gracias por enseñarme que la curiosidad es lo mejor en este mundo, por demostrarme que los límites los pone uno mismo.

La UNAM, mi segunda casa desde hace 8 años, (3 en bachillerato y 5 de carrera), la casa que me acogió y me llenó de conocimiento, de amistades y vivencias que ningún otro lugar podría igualar. Gracias UNAM por abrirme las puertas del conocimiento

En tercero y no por eso menos importante, quiero agradecer a mi pareja Francisco, por acompañarme los últimos 8 años de mi vida, por apoyarme sin pensar en cada etapa de mi vida como estudiante de veterinaria, que, si bien sabemos, no es algo sencillo.

Alguna vez me dijo mi mamá, “La herencia más importante que nosotros podremos dejarte es tu educación, el conocimiento que te dejemos, eso, será invaluable”

Gracias

“Si he logrado ver más lejos, ha sido porque he subido a hombros de gigantes” *Isaac Newton (1643-1727)*

Implicaciones fisiológicas asociadas a retrovirus endógenos

Brianda Minerva Ruiz Leyva



Índice

Índice.....	6
Prefacio.....	7
Glosario	8
Objetivo general	12
Objetivos particulares.....	12
Justificación.....	12
Metodología	12
Resumen	13
Introducción	15
Capítulo uno: bases indispensables sobre genética y la historia e importancia del genoma:	16
Capítulo 2: Retrovirus Endógenos ideas sobre la evolución viral y su impacto en la biología de un huésped.....	19
Capítulo 3: El rol de la Sincitina en la placentación y la relación de esto con los retrovirus endógenos.....	34
Capítulo 4: Retrovirus endógenos como causantes de la cáscara azul en el huevo de ave.	56
Capítulo 5: Asociación entre la inserción retroviral en el gen de la tirosinasa y la mutación blanca recesiva en pollos.....	61
Capítulo 6: Asociación del retrovirus HERV-K18 con diabetes tipo 1a.....	64
Conclusión.....	66
Referencias	69

Prefacio

Esta tesis la inicié con un único objetivo, obtener el título de Medica Veterinaria Zootecnista, pero a lo largo de mi investigación no pude quedarme con que ése fuese mi principal objetivo, me hizo cambiar el rumbo para dejar de ser algo meramente egoísta. Ahora, incluso siendo esta tesis un resumen de mi investigación entenderán por qué su objetivo cambió, dando el radical giro a querer instruir a las generaciones que llegan (pensando en que les interesara) a conocer cuáles son las implicaciones fisiológicas de las que habla el título y que tienen qué ver los tan resonantes retrovirus.

El nuevo objetivo es hacerlos comprender que los virus son maravillosos, que no todos tienen relación con la enfermedad y la muerte, se preguntará ¿cómo lograré hacer entender esto?; bueno, pues durante un tiempo largo logré recaudar información, acomodarla y resumirla de manera que sea de fácil comprensión para poder introducir al tema de los **retrovirus endógenos** y del papel que estos conllevan en la vida, dando como resultado maravillosas implicaciones fisiológicas tales como la placentación (sin la cual no hubiéramos podido nacer cada uno de nosotros).

En el universo tenemos algo asegurado y es que un aproximado del 96% de todo cuanto nos rodea es invisible ante nuestros ojos, esto es conocido como materia oscura, aunque el hecho de que no la podamos observar no le resta importancia puesto que tiene influencia sobre otros objetos y situaciones. En este sentido parece que las células de un organismo vivo lo imitan o puede decirse que trabajan en la misma sintonía imitando su opacidad y escondiendo la función de su molécula más apreciada: el ADN. Las regiones del genoma que son poco estudiadas esconden secretos increíbles sobre la evolución e incluso un potencial uso terapéutico. Por lo que las teorías de evolución que conocemos desde temprana edad se verán retadas en esta lectura, para esto los guiaré con infografías, diagramas e ilustraciones de mi autoría.

Glosario:

RVEs: Retrovirus endógenos.

RVs: Retrovirus.

RVE-env: Retrovirus endógenos de envoltura.

EVE: Elementos virales endógenos.

DNA: Ácido desoxirribonucleico.

A: Adenina.

C: Citosina.

G: Guanina.

T: Timina.

DNAc: Ácido desoxirribonucleico complementario.

dsDNA: Ácido desoxirribonucleico bicatenario.

Locus: Es una posición fija en un cromosoma, que determina la posición de un gen o de un marcador.

RNA: Ácido ribonucleico.

U: uracilo.

RNA_m: Ácido ribonucleico mensajero.

ALV: Leucosis aviar endógena.

FeLV: Virus de inmunodeficiencia felina.

BIV: Virus de inmunodeficiencia bovina.

BLV: Virus de la leucemia bovina.

SRLV: Lentivirus de pequeños rumiantes.

EIAV: Virus de la anemia infecciosa equina.

MLV: Virus de la leucemia murina.

MMTV: Virus del tumor mamario de ratón.

LTR: Los retrovirus presentan al final de su genoma unas secuencias genéticas características denominadas secuencias terminales repetidas largas (long terminal repeat, LTR) que median la integración del ácido nucleico viral en los cromosomas de las células huésped. Además, regulan la transcripción de los genes de los retrovirus y, de este modo, influyen en su virulencia.

RT: Retro transcriptasa / transcriptasa reversa.

Filética: Evolución de una especie ancestral se pueden derivar dos o más especies *hijas* independientes. Son procesos comunes en la evolución de la vida desde su aparición en el planeta.

LINE: Long Interspersed Nuclear Elements (Elementos nucleares dispersos largos).

PCR: Reacción en cadena de la polimerasa.

In silico: Es una expresión que significa 'hecho por computadora o vía simulación computacional.

Gev: Glicoproteína de envoltura.

TM: Transmembrana

SU: Proteínas de superficie

Furina: Es una enzima que participa en una gran variedad de procesos fisiológicos y fisiopatológicos, a través del procesamiento de diferentes sustratos en diversos compartimentos celulares.

Gag: Codifica un polipéptido que se procesa proteolíticamente para dar las proteínas centrales del virión.

Pol: Codifica la retrotranscriptasa del virión.

Env: Codifica la glicoproteína principal de la cubierta vírica.

HERV: Retrovirus endógeno humano.

ICM: Masa celular interna.

BCN: Células binucleadas.

TNC: Células trinucleadas.

Clados: Cada una de las ramificaciones que se obtiene después de hacer un único corte en el árbol filogenético.

BERV-K1: Retrovirus endógeno bovino k1.

In vitro: Se refiere a una técnica para realizar un determinado experimento en un tubo de ensayo, o generalmente en un ambiente controlado fuera de un organismo vivo.

Bovinae: Son una subfamilia de mamíferos placentarios que pertenece a la familia Bovidae.

Sincitina: Proteínas de la envoltura de retrovirus endógenos que desempeñan un papel importante en la placentogénesis.

JSRV: El retrovirus de oveja Jaagsiekte es un betaretrovirus que es el agente causante de adenocarcinoma pulmonar ovino.

Taxa: Es un grupo de organismos emparentados, que en una clasificación dada han sido agrupados, asignándole al grupo un nombre en latín.

PERV: retrovirus endogeno porcino.

ORF: Marco abierto de lectura o marco de lectura abierta (ORF, del inglés open reading frame).

IS: Inmunosupresor.

TM: Transmembrana.

In vivo: Realizado con el individuo de estudio con vida.

Cripsis: Habilidad de un animal para evitar ser detectado por otros animales usando camuflaje.

RFLP: Polimorfismo de Longitud de Fragmento de Restricción.

TYR: *Gen de tirosinasa.*

Exon: Es la porción de gen que codifica aminoácidos.

Alelo: Es cada una de las dos o más versiones de un gen.

EAV-HP: Virus endógeno aviar de alta patogenicidad.

Objetivo general.

Describir las características generales de la asociación que tienen los retrovirus endógenos con características fisiológicas como la placentación, el color azul en el huevo de gallina, la ausencia de pigmento en gallinas blancas y la diabetes tipo 1.

Objetivos particulares.

Documentar información relacionada de los retrovirus endógenos asociación que tienen los retrovirus endógenos con características fisiológicas como la placentación, el color azul en el huevo de gallina, la ausencia de pigmento en gallinas blancas y la diabetes tipo 1. Conocer la clasificación actual de los genes asociados a las antes mencionadas características fisiológicas y los retrovirus endógenos presentes en animales domésticos y silvestres. Aportar información para comprender, identificar, detectar y reconocer la participación de retrovirus endógenos en el proceso de endogenización de genoma retroviral y su función.

Justificación.

El recopilar información para el análisis sobre retrovirus endógenos permitirá comprender su participación e interacción con la aparición de genes de origen retroviral en el genoma de animales domésticos y silvestres. Para conocer el origen de la codificación genómica que a llevado a la expresión de ciertas funciones y/o características fisiológicas, asimismo es importante comprender como los retrovirus endógenos se relacionan con la extensa variabilidad de los retrovirus existentes en los animales tanto domésticos como silvestres.

Metodología

Con el fin de obtener información se consultó en la base de datos, libros, artículos de difusión, revistas del área y artículos científicos así mismo, se recopilaron y crearon gráficas, cuadros e imágenes para una fácil comprensión del tema, iniciando de lo general a lo particular. Esto permitirá iniciar líneas de investigación vinculadas sobre los retrovirus endógenos.

Resumen

Los virus son las entidades genéticas más numerosas y diversas en la tierra. Son ambientalmente omnipresentes y pueden infectar organismos de los tres dominios de la vida, así como otros virus. A través de diversas interacciones, los virus han influido profundamente en la evolución de la vida celular desde su origen. Además de las propiedades infecciosas de los virus, que les permiten propagarse horizontalmente entre individuos y entre especies, muchos virus también pueden formar parte del material como se explica en esta tesis de numerosos RNA derivados de retrovirus endógenos (ERV) que se expresan en las estructuras reproductivas de mamíferos, particularmente en el útero, trofoblasto y placenta. La sincitina es una proteína de membrana que se originan en los genes Env de los ERV. Estos ERV están involucrados en la fusión de las células del trofoblasto, lo que resulta en la formación de sincitiotrofoblasto multinucleado. Lo que indica que las proteínas fusogénicas similares a la sincitina se expresan en la placenta de conejos, perros / gatos, ungulados de rumiantes, tenrecs, zarigüeyas, entre otros. Se sabe que los genes de sincitina fueron endogenizados al genoma del hospedador solo en los últimos 12–80 millones de años, más recientemente que la aparición de placentas de mamíferos, estimadas hace 160–180 millones de años. Los ERV que incluyen variantes de genes similares a la sincitina integrados en genomas de mamíferos de una manera específica de locus han reemplazado los genes previamente responsables de la fusión celular. Múltiples variantes sucesivas de ERV "asumen" roles de fusión celular, lo que resulta en una mayor fusión de células del trofoblasto, variaciones morfológicas en las estructuras placentarias y un mayor éxito reproductivo en los mamíferos placentarios.

En ese escrito también hablaremos sobre aves:

La coloración azul en el cascaron de algunas aves de producción.

La cáscara de huevo azul es causada por una inserción de EAV-HP que promueve la expresión del gen SLCO1B3 en el útero y oviducto de las gallinas de Ameraucanas, Araucanas y crema Legbars. En esta revisión se encontró que el gen

SLCO1B3 era expresado en el útero de las gallinas de capa azul. Los resultados de un análisis de pirosecuenciación del cual basamos esta revisión mostraron que solo el alelo de SLCO1B3 de pollos con cáscara azul se expresó en el útero de gallinas heterocigotas. El gen SLCO1B3 pertenece a la familia del polipéptido transportador de aniones orgánicos (OATP); y los OATP, que funcionan como transportadores de membrana, se han informado para el transporte de compuestos orgánicos anfipáticos, incluida la sal biliar en mamíferos. Una inserción de EAV-HP en la región flanqueante 59 de SLCO1B3. La inserción de EAV-HP se encontró estrechamente asociada con el fenotipo de cáscara de huevo azul después de la segregación mendeliana completa. La cáscara de huevo azul está asociada con la expresión ectópica de SLCO1B3 en las glándulas del útero. Lo que sugiere fuertemente que la inserción de EAV-HP es la mutación causante del fenotipo de cáscara de huevo azul. La inserción también se encontró en otra raza china con cáscara azul y una raza americana de cáscara azul. Además el sitio de inserción en los pollos con cáscara azul de Araucana es diferente del de las razas chinas, lo que implica eventos de integración independientes en los pollos con cáscara azul de los dos continentes, proporcionando un ejemplo evolutivo paralelo a nivel molecular.

También en aves, se han informado sobre tres alelos mutantes en el locus C, incluida la mutación albina y la mutación blanca recesiva, que se caracteriza por un plumaje blanco y ojos pigmentados. Se encontró que la mutación albina era una deleción de 6 pb en el gen de la tirosinasa (TYR). La inserción de una secuencia retroviral aviar completa de la familia del virus de la leucosis aviar (ALV). Se encontraron varias transcripciones aberrantes del gen de la tirosinasa en pollos blancos recesivos, pero no en el pollo homocigoto de color. Por lo que la inserción de una secuencia retroviral aviar completa en el intrón 4 del gen de la tirosinasa es causante de la mutación blanca recesiva en pollos. Esta inserción provoca transcripciones aberrantes que carecen del exón 5, y esta inserción es la mutación causal del alelo blanco recesivo en el pollo.

Por último esta revisión habla sobre varias líneas de evidencia sugieren la participación del retrovirus endógeno humano HERV-K18 en la etiología de la

diabetes tipo 1. HERV-K18 codifica para un superantígeno de células T (SAg). Las células T con cadenas V β 7 del receptor de células T reactivas al RNAm de SAg y HERV-K18 se enriquecieron en los tejidos al inicio de la enfermedad. La transcripción de HERV-K18 y la función SAg en células capaces de presentación eficiente son inducidas por estímulos proinflamatorios como virus e interferón, y pueden desencadenar la progresión de la enfermedad a insulinitis o de insulinitis a diabetes manifiesta. La variación alélica de HERV-K18 o el ADN que lo flanquea, el gen CD48, podría modular la susceptibilidad genética.

Introducción

El genoma de todos los seres vivos contiene un importante número de retrovirus endógenos (RVEs^I), es decir, secuencias derivadas de infecciones retrovirales ancestrales insertadas de forma permanente; y secuencias similares se pueden observar en prácticamente todos los organismos eucariontes. Muchos de estos RVEs se transcriben y traducen en condiciones fisiológicas normales, llegando a formar partículas virales completas, y participando en procesos tan complejos como la placentación.¹

Por su capacidad de retrotransposición^{II} y recombinación^{III}, los RVEs son una fuente importante de remodelación genómica y, junto con otros retroelementos, participan en la generación de retrogenes y retropseudogenes¹, que suponen un sustrato de variabilidad informacional fundamental para la aparición de nuevas estructuras y funciones. Puesto que su actividad responde también a las condiciones ambientales, los cambios genómicos generados por ellos 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.^{1,2}

^I RVE: Retrovirus Endógenos

^{II} **Retrotransposición:** Proceso mediante el cual se generan una o más copias de DNA a partir del transcripto de ARNm del gen y se vuelven a insertar en el genoma en cualquier localización, no necesariamente cerca del sitio de su gen progenitor.

^{III} **Recombinación:** la formación de un nuevo DNA a partir de moléculas distintas, de manera que la información genética procedente de cada molécula de DNA original estará presente en las nuevas.

La consideración de los RVEs como parte integral y consustancial de nuestro genoma obliga a replantearse la utilización de vectores retrovirales en protocolos de terapia génica, así como la utilización de órganos animales con sus propios retrovirus endógenos para xenotrasplantes.³

Capítulo uno: bases indispensables sobre genética y la historia e importancia del genoma:

La expresión de los genes:

Hasta hace no mucho, se creía que los genes eran la unidad mínima de transmisión de información entre progenitores y descendientes, pero no se sabía con exactitud qué los conformaba. Fue hasta principios del siglo XX cuando se descubrió que el DNA, es la unidad funcional para la transmisión de los caracteres hereditarios.⁴ La cadena de DNA (Figura 1), es capaz de copiarse a sí misma utilizándose como plantilla, lo que es la clave para conservar la información genética.⁵ De igual forma la información genética es guardada y paralelo a esto los genes se transcriben en RNA, éste en aminoácidos los cuales son necesarios para sintetizar proteínas: las moléculas funcionales.⁶ La concepción de gen, como aquella secuencia de DNA que puede transcribirse a proteínas se ha ido refinando a medida que se han descubierto nuevas características de los mecanismos hereditarios, incluyendo la regulación de estos por elementos contenidos en los propios genes.⁷

El lenguaje de la vida:

Uno de los descubrimientos más apasionantes en la historia de las ciencias biológicas es el hallazgo que demuestra que todos los organismos vivos del planeta desde las bacterias hasta los humanos (y las “entidades no vivas”³, como los virus), guardan información valiéndose del lenguaje de los ácidos nucleicos, el cual traduce a proteínas siendo una regla de lectura universal, lo que se conoce como dogma central de la biología molecular.⁶

Dogma central de la biología molecular: propone que el flujo de información es únicamente de **DNA** → **RNA** → **proteína**.

Hoy en día reconocemos que existen claras excepciones. ⁶

La información genética es transportada por el DNA y el RNA.

La información genética está codificada en la estructura molecular de los ácidos nucleicos, de los cuales hay dos tipos: ácido desoxirribonucleico (DNA) y ácido ribonucleico (RNA). Los ácidos nucleicos son polímeros (moléculas de cadena larga) formados por unidades repetitivas (eslabones) llamadas nucleótidos; cada nucleótido está constituido por un azúcar, un fosfato y una base nitrogenada. Existen cuatro tipos de bases nitrogenadas en el DNA (abreviadas como A, C, G y T) (Figura 1), y la secuencia de estas bases codifica la información genética. La mayor parte de los organismos llevan su información genética en el DNA, pero algunos pocos virus la llevan en el RNA. Las cuatro bases nitrogenadas del RNA se abrevian como A, C, G y U. (Figura 1) ⁸

Sabiendo que el DNA sirve para codificar formas de vida de una diversidad tan amplia, cabría preguntarse ¿Qué significa realmente «leer el DNA»? cómo se «traduce» lo que se encuentra «escrito» en cuatro letras. El código que permite interpretar el lenguaje del DNA y tornarlo funcional en forma de las proteínas es el que se conoce como *código genético*. El hecho de que exista una lengua universal para todas las especies conocidas (y probablemente desconocidas) nos permite tener un avance no solo en teorías evolutivas si no también en nuestro conocimiento con respecto a cuestiones patológicas e infecciosas. Actualmente podemos maniobrar con maquinaria molecular y celular para replicar y amplificar DNA de cualquier especie. Gracias a este lenguaje universal podemos comparar los genomas de muchas especies, analizando las similitudes y cuestionando las diferencias.

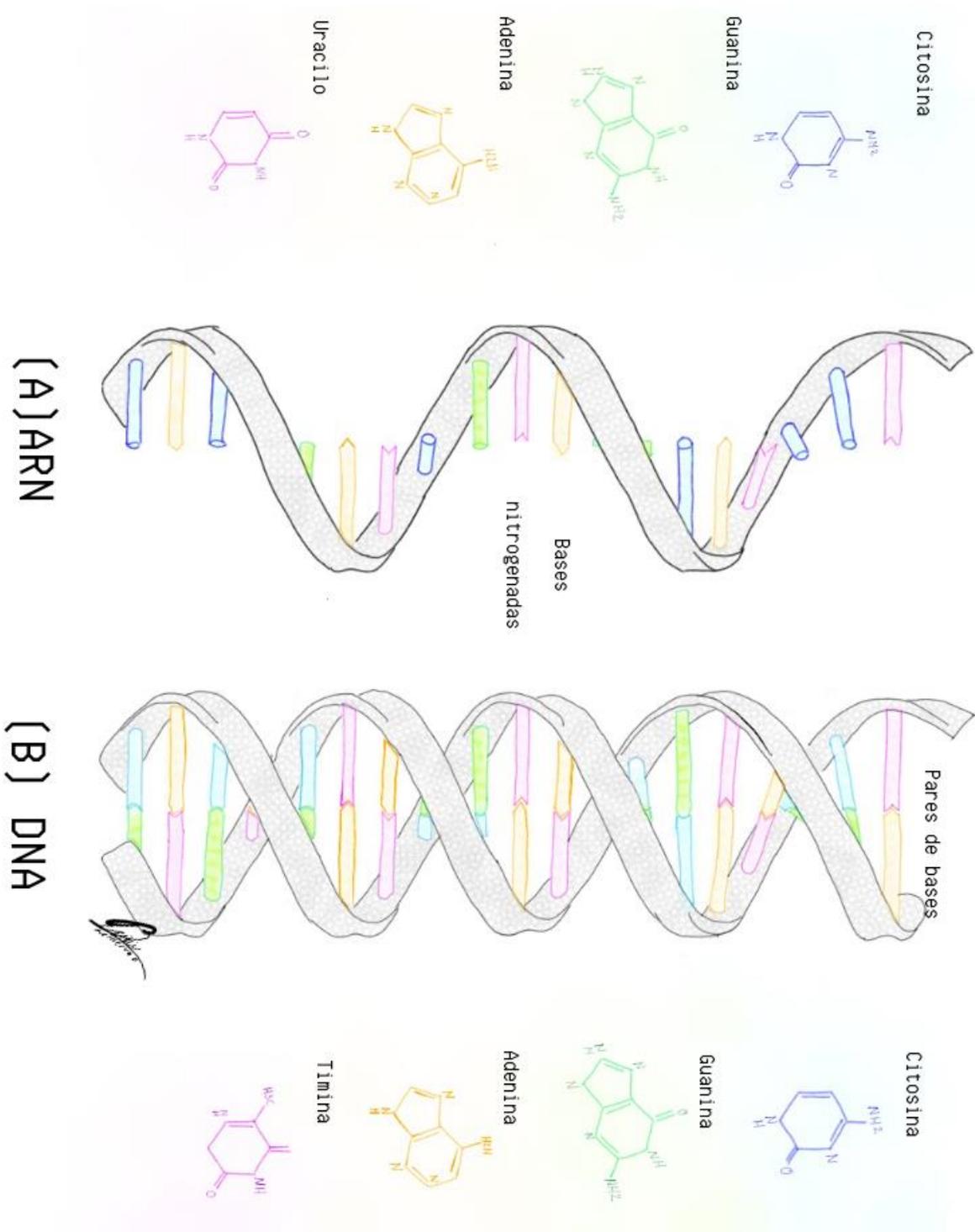


Figura 1 (A) RNA (B) DNA El nucleótido del DNA está formado por una desoxirribosa, un grupo fosfato y una base nitrogenada. El RNA consiste en una ribosa, un grupo fosfato y una base nitrogenada. El DNA consiste en dos cadenas de nucleótidos que se enrollan entre sí para formar una doble hélice. Los azúcares y los fosfatos se encuentran en el exterior de la hélice y las bases se apilan en su interior. Las bases de las dos cadenas se unen mediante puentes de hidrógeno, son anti paralelas y complementarias.⁸

Capítulo 2: Retrovirus Endógenos ideas sobre la evolución viral y su impacto en la biología de un huésped.

Contexto histórico de los retrovirus.

La clasificación inicial de los retrovirus se basó en sus respectivas especies hospedantes, la morfología del virión, morfogénesis determinada por microscopía electrónica, restricciones de la célula huésped, capacidad de resistir la neutralización cruzada por un antisuero específico y sus propiedades biológicas, incluida su ruta de transmisión (exógena o endógena).¹

Los retrovirus exógenos

Se transmiten horizontalmente^{IV} y verticalmente^V, es decir son la “parte” infecciosa que entra en contacto con un huésped y que en algún momento terminara siendo endogenizado y se tornará en un retrovirus endógeno o los elementos retrovirales y se incluirá en el genoma.⁹

El retrovirus exógeno más estudiado e importante en salud pública es el Virus de inmunodeficiencia humana (HIV)^{1,10}, mientras que en medicina veterinaria son aquellos que infectan principalmente a las especies domesticas, tales como Virus de inmunodeficiencia felina (FeLV)¹¹, Virus de inmunodeficiencia bovina (BIV), Virus de la leucemia bovina (BLV)¹², Lentivirus de pequeños rumiantes (SRLV), Virus de la anemia infecciosa equina (EIAV)¹³ y Virus de la leucosis aviar (ALV)¹⁴.

Retrovirus endógenos (Retroelementos)

Los virus son las entidades genéticas más numerosas y diversas en la tierra, ambientalmente omnipresentes y pueden infectar organismos de los tres dominios

^{IV} La transmisión horizontal es propagada en la población de un individuo infectado a otro.

^V La transmisión vertical de la madre a su hijo que puede ser antes del nacimiento (congénita), durante el parto (perinatal) y después del parto (neonatal).

de la vida, así como a otros virus.¹ A través de diversas interacciones, los virus han influido profundamente en la evolución de la vida celular desde su origen.¹⁵

Un retrovirus endógeno o REV, es una secuencia nucleotídica que está integrada en el genoma (DNA) del hospedador², conserva su genoma intacto y las repeticiones terminales largas (LTR: *long terminal repeat*)¹⁰ de este tipo de virus son parecidos genéticamente, por lo que serían capaces de sintetizar partículas virales. Con la integración del genoma (**Figura 2**), los retrovirus se amplifican dentro de la célula huésped. Los retrovirus endógenos pueden infectar a las células germinales y ser transmitidos y heredados de forma vertical dentro del genoma. La estructura de los REVs es su característica principal: en su forma de provirus^{VI}, cuentan con dos LTRs en los extremos y los genes *gag*, *pol* y *env*^{VII}, (**Figura 3**), que codifican las proteínas necesarias para la formación de nuevas partículas virales, incluyendo la Transcriptasa Inversa (RT) (**Figura 2**) que permite la transcripción de un molde de RNA en DNA (retrotranscripción), y es, por tanto, parte esencial del ciclo vital de los retrovirus (**Figura 2**). Las LTRs se generan durante el proceso de retrotranscripción y son necesarias para la integración viral en el DNA genómico.¹

Charles Darwin en su trabajo “*El origen de las especies*” nos mostró¹⁶ que la evolución no camina en línea recta si no que asciende en ramas, pero hoy podemos ver que también ha tenido la ayuda de los retrovirus en su paso por el genoma.³

Alrededor del 8 al 10% del DNA (**Figura 1**), (por ejemplo, 8% en humanos y 10% en el ratón)¹⁷, está representado por genomas retrovirales fósiles, incluso sin contar los elementos LINE^{VIII} y otros retrotransposones^{IX} que se diseminan por el genoma¹⁸. Darwin podría estar seguro de que compartimos la mayoría aunque no todas estas inserciones con chimpancés^{19,20}. Pero ¿cómo salieron a la luz los retrovirus endógenos?

^{VI} Provirus: DNA viral integrado en el genoma de la célula.

^{VII} Gag: codifica un polipéptido que se procesa proteolíticamente para dar las proteínas centrales del virión

Pol: codifica la retrotranscriptasa del virión

Env: codifica la glucoproteína principal de la cubierta vírica

^{VIII} Elementos LINE: Elementos nucleares dispersos largos). Constituyen el 20 % del genoma.

^{IX} Retrotransposones: son elementos genéticos que se pueden amplificar a sí mismos en un genoma y son ubicuos componentes del ADN de muchos organismos eucariotas

Se ha hipotetizado²¹ que distintos tipos de virus podrían haber participado en el origen de la célula eucarionte, como los *Fusellovirus*²¹ de arqueas o el *Mycoplasmavirus* L3, que habrían participado en la unión de bacterias primitivas para formar los primeros eucariontes.²²

Además, la maquinaria de replicación eucariótica parece haber derivado de los genes que codifican estas funciones en los virus DNA.²³

A esto habría ahora que añadir la posibilidad de que también los retrovirus participaran en el proceso que dio origen a la célula eucarionte, lo que explicaría la distribución en prácticamente todos los grupos eucariontes observados actualmente³. El mantenimiento de estas secuencias en estado funcional a lo largo de millones de años y el alto nivel de homología entre los distintos elementos presentes en especies muy distantes filogenéticamente son característicos de genes *clásicos* con funciones celulares bien definidas y necesarias. A pesar de esta amplia distribución filética^x, cada especie presenta su propio —y único— repertorio en tipología, cantidad y localización genómica de RVEs que la caracterizan y la distinguen del resto²⁴. Estas dos características, aparentemente contradictorias, de universalidad y a la vez especificidad de los RVEs se explica por su propio mecanismo dual de transmisión, vertical y horizontal, ya que los RVEs pueden convertirse en infectivos, es decir, en exógenos, que, a su vez, en determinadas ocasiones pueden integrarse en la línea germinal, sufriendo mutaciones y recombinaciones durante el proceso de dispersión e integración.²¹

La infección por retrovirus exógenos a lo largo de la evolución de los vertebrados ha conducido a la generación de una porción significativa que ahora se compone de secuencias retrovirales. Con el tiempo, éstas se alteraron a través de mutaciones genéticas, inserciones y recombinaciones, ya sea pasivamente o en respuesta a mecanismos de defensa del huésped.²³

Tras su inserción en la línea germinal para formar parte de los genomas, los RVEs pueden generar un elevado número de copias en diferentes localizaciones

^x Filética: evolución de una especie ancestral se pueden derivar dos o más especies *hijas* independientes. Son procesos comunes en la evolución de la vida desde su aparición en el planeta.

genómicas a través de la retrotransposición³. A partir de aquí, se transmiten de modo vertical¹ a la descendencia durante largos periodos de tiempo, pero acumulando mutaciones (debido en parte a la alta tasa de mutación de la RT) y con capacidad de recombinación entre ellas y con otras previamente presentes en el genoma, generando nuevas combinaciones²⁵ que pueden recuperar la infectividad, pero con características alteradas de especificidad celular y de hospedero, lo que permite su paso a distintas especies por transmisión horizontal, donde se endogenizan y amplifican, volviendo a iniciarse el proceso.²⁵

En consecuencia, la mayoría de las secuencias retrovirales integradas son restos no funcionales²⁶. Sin embargo, entre este gran conjunto de secuencias de RVEs muy reiteradas, existen algunos ejemplos de genes retrovirales de copia única que se han conservado desde su integración y pueden considerarse genes legítimos (*bona fide*^{XI})²⁷ celulares que contribuyen a la fisiología del hospedero.¹⁵

Generalidades de los Retrovirus

El genoma de todos los retrovirus está constituido por dos moléculas idénticas de RNA de polaridad positiva, cadena sencilla, lineal y una serie de enzimas dentro de las cuales la más importante es la transcriptasa reversa. La morfología de la familia *Retroviridae* se caracteriza por comprender partículas envueltas, que contienen una nucleocápside enrollada dentro de una cubierta icosaédrica.¹

La envoltura contiene glicoproteínas y es adquirida al brotar por gemación (**Figura 4**) a través de la membrana plasmática de la célula hospedera. Existen además varias proteínas en la cápside de los virus y enzimas importantes para su replicación.¹

Contexto histórico de los retrovirus y la hipótesis del provirus

Los RVEs se descubrieron originalmente a finales de la década de 1960 por los doctores Howard Temin y David Baltimore¹ inicialmente como genes celulares heredados que podrían codificar productos génicos retrovirales o retrovirus

^{XI} Bona fide: genes de “buena fe”, se puede traducir como los genes legítimos - propios del genoma.

competentes para la replicación, aunque no fueron nombrados como tal hasta 1974.¹⁰

La combinación de técnicas virológicas e inmunológicas con genética mendeliana condujo casi simultáneamente al descubrimiento de los RVE. La presencia de genomas virales heredados se confirmó por medio de experimentos basados en hibridación molecular.²⁸

El uso en investigación oncológica de los RVE o sus provirus relacionados²⁹, impulsó la búsqueda de más RVE de los cuales se identificaron numerosos mediante hibridación de astringencia baja²⁸ o ensayos de reacción en cadena de la polimerasa (PCR)^{XII} diseñados para amplificar secuencias virales conservadas³⁰; otros se encontraron casualmente después de la recuperación inesperada de un virus replicante.^{24,31}

El alcance de la presencia de RVE solo se ha apreciado completamente con la secuenciación de genomas íntegros de varios organismos^{32,33}; a esto hay que sumarle el desarrollo de estudios *in silico* (mediante algoritmos y software especializado) cada vez más sofisticados para la identificación de RVE³⁴

Estrategias de replicación viral

Los retrovirus son únicos entre los virus ya que la integración ocurre como un paso obligado en la replicación. El ciclo de replicación de los retrovirus (**Figura 2**) es conocido por la participación de la transcriptasa inversa y la integrasa: dos enzimas únicas codificadas por estos virus que permiten la conversión de RNA en DNA, seguido de la integración del DNA viral en el genoma del hospedero, formando una secuencia de DNA proviral. Además, los estudios de pasos específicos en el ciclo de replicación viral, así como la selección de RNA a gran escala, han demostrado que múltiples factores celulares son absolutamente necesarios para la replicación del virus.⁵

^{XII} PCR, Reacción en cadena de la polimerasa

Unión celular y penetración

El proceso de replicación de los retrovirus comienza cuando las glicoproteínas de la envoltura del virión se unen a sus receptores celulares (Figura 2).

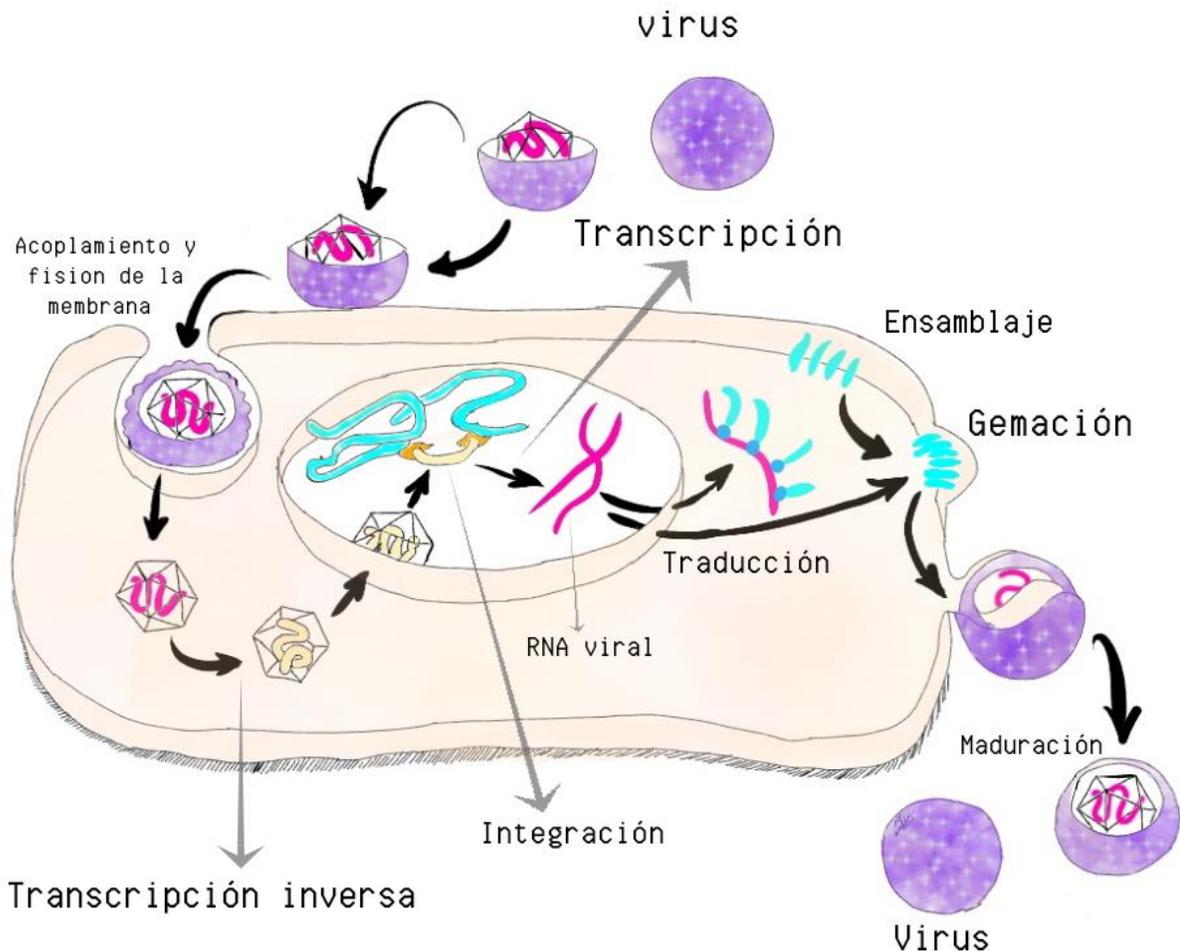


Figura 2 Ciclo de replicación de los retrovirus. Tras la inserción el RNA vírico se puede sintetizar a partir de DNA dando como resultado RNAm y DNA del genoma vírico. El RNAm se traduce generando proteínas víricas por la proteasa, las proteínas se introducen en la membrana de la célula receptora y las proteínas estructurales rodean el RNA para formar el núcleo y así se libera el virión de la célula por un proceso en brote.⁵

Los receptores celulares específicos responsables de la unión del virus son únicos para cada género de retrovirus, por lo que muchos retrovirus son especies restringidas en su rango de hospedador.^{1,26}

Después del acoplamiento, la envoltura viral y la membrana celular se fusionan, permitiendo que el núcleo del virión ingrese al citoplasma; con menos frecuencia, la entrada implica endocitosis mediada por receptor. Las células infectadas con un retrovirus a menudo son resistentes a la sobreinfección por otro retrovirus estrechamente relacionado. Incluso dentro de una especie particular, los animales o líneas endogámicas muestran susceptibilidad a las infecciones por retrovirus en función de la expresión del receptor; por ejemplo, algunas cepas como la del *Virus de la leucosis aviar* (ALGV) ^{XIII} tienen distintos patrones de interferencia que reflejan sus efectos individuales sobre la expresión del receptor.¹

La glicoproteína de la envoltura retroviral

La glicoproteína de envoltura (Gev)^{XIV} de los virus envueltos es esencial para la entrada del virus, ya que cumple la función de reconocer las células susceptibles e inducir la fusión de la envoltura del virión con la membrana plasmática celular, permitiendo la liberación de la nucleocápside en el citoplasma celular. El gen retroviral *env* codifica una proteína precursora que, durante el transporte a través de la ruta secretora de la célula hospedadora, es escindida por una proteasa “furina”^{XV} para generar dos fragmentos, la proteína de superficie (SU) y las subunidades transmembranales (TM) (**Figura 2**).

^{XIII} *Virus de la leucosis aviar*: ALGV

^{XIV} Gev, Glicoproteína de envoltura

^{XV} Furina: enzima proteolítica

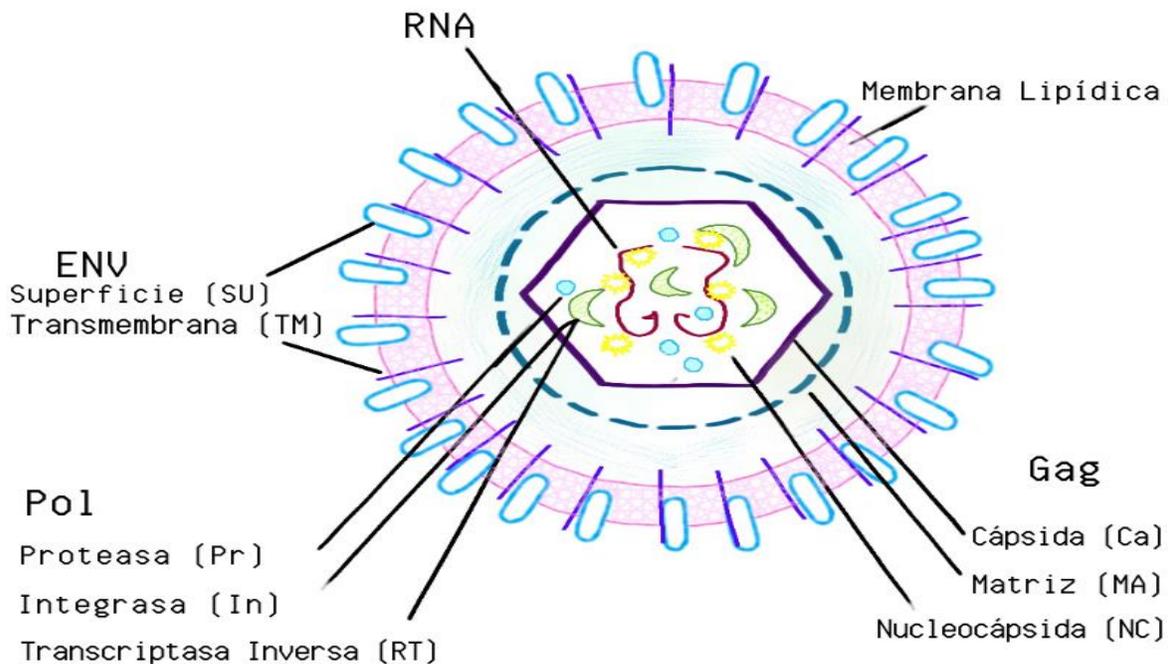


Figura 3 Los genes de Retrovirus y sus principales funciones: **Gag**: Codificación de las proteínas estructurales: Matriz: proteína estructural del virus Cápside: Proteína estructural del virus Nucleocápside: unión con el genoma viral. **Pol**: Codifica las enzimas necesarias para el ciclo de replicación. Proteasa: Escisión proteolítica de los precursores proteicos para la maduración de virión. Transcriptasa Reversa: Transcripción reversa del RNA en DNA proviral. Integrasa: Integración del ADN proviral en el genoma de la célula hospedadora. **Env**: Codifica a las proteínas de la envoltura. Subunidades de superficie y transmembrana: Adhesión y entrada a la célula blanco.³⁵

Transcripción reversa e integración

Una vez que el virus penetró la célula, una copia de DNA de doble cadena se sintetiza a partir del RNA genómico monocatenario mediante la transcriptasa reversa asociada al virión. Esta enzima contiene un dominio para la actividad de

polimerasa, así como un dominio RNasa H que degrada el resto de RNA de los híbridos de RNA-DNA.

La integración genómica de retrovirus mediada por la integrasa no se dirige específicamente a secuencias de células hospederas particulares; la estructura local de la cromatina, tal como los sitios de plegamiento de DNA o las llamadas estructuras de cromatina "abiertas" que son activas transcripcionalmente, son sitios favorecidos para la integración.²¹

Estas tendencias de integración celular pueden explicar algunos mecanismos de carcinogénesis, ya que ciertos retrovirus tienden a integrarse y activar oncogenes celulares. Aunque el proceso de transcripción inversa define a los retrovirus, los "hepadnavirus" tales como el virus de la hepatitis B, los elementos retrovirales endógenos tales como los retrotransposones y los "caulimovirus" de las plantas también usan la transcripción inversa durante su replicación.⁹

Transcripción del Provirus

Después de que el provirus esté integrado, puede permanecer latente (transcripcionalmente silente) o, dependiendo del entorno celular, ser transcripcionalmente activo²⁷. La LTR viral promueve e inicia la transcripción de diferentes especies de RNA que se procesan de manera similar al RNA de la célula huésped.³⁶

Después del transporte al citoplasma, el RNAm forma dos grupos: uno para el RNA genómico íntegro que posteriormente se empaqueta en viriones como RNA genómico, y otro que incluye RNAm que codifica varias combinaciones de especies Gag, Pro, Env y Pol (**Figura 3**)¹. Una función principal de la LTR es proporcionar señales para iniciar la síntesis de RNA y controlar la tasa de transcripción, tanto de productos virales como celulares. Por lo tanto, la LTR puede determinar la progresión de la enfermedad controlando la replicación del retrovirus en tipos específicos de células. Debido a que la LTR se repite en las formas províricas de los retrovirus, deben suprimir la 3'-LTR desde el inicio de la transcripción.³⁷

La mayoría de los retrovirus simples son "pasivos" y dependen de los mecanismos de "empalme" celular para obtener sus propios mensajes de empalme. Los retrovirus complejos como el *Virus de la leucemia bovina* producen la proteína reguladora Rex que promueve el transporte selectivo del RNA genómico o las especies de RNA de empalme desde el núcleo al citoplasma.^{1,32}

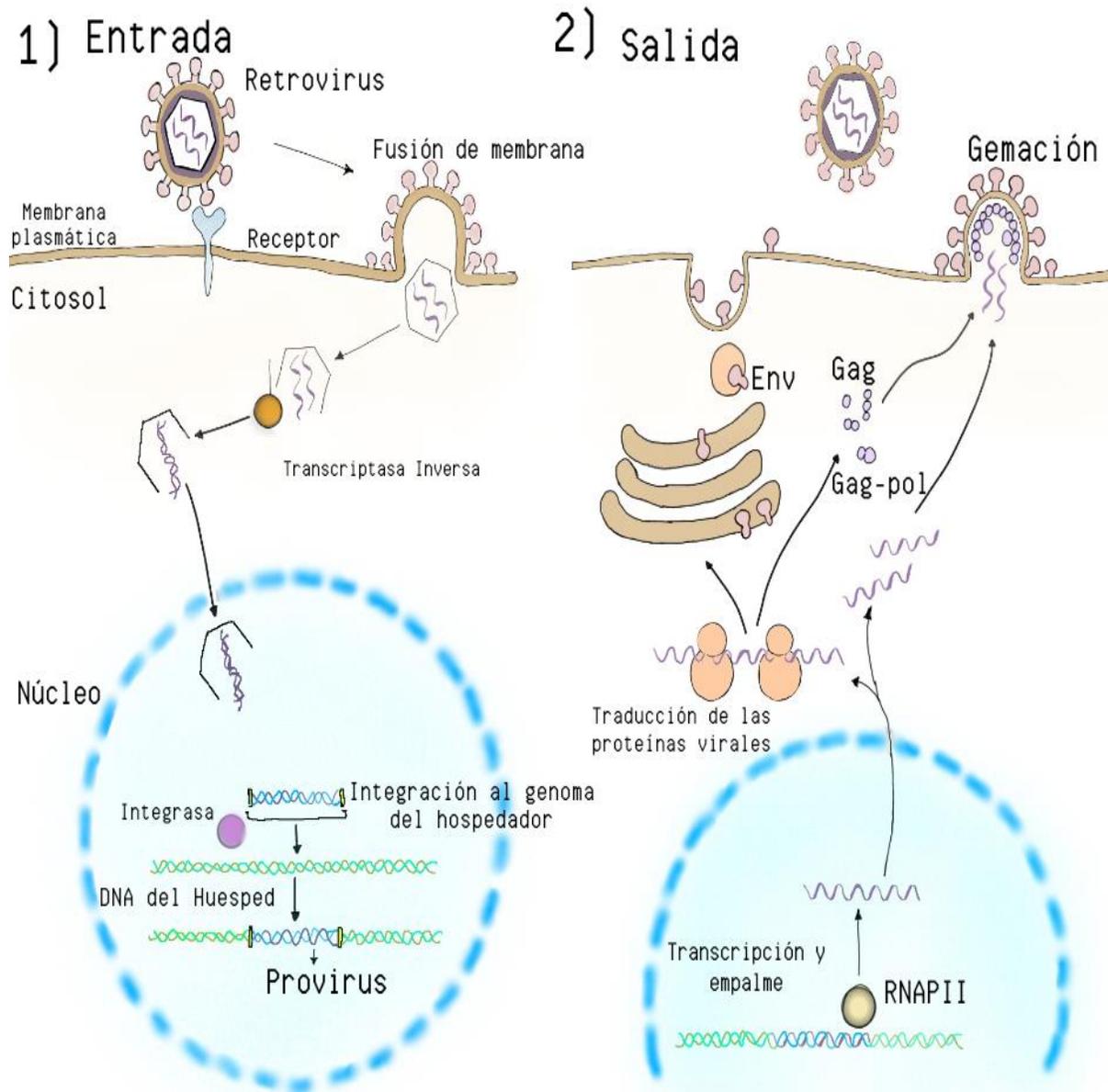


Figura 4 Replicación viral. Se ilustran diferentes eventos en el ciclo de vida de los retrovirus: 1. La entrada viral en las células implica los siguientes pasos: unión a un receptor específico en la superficie de la célula; fusión de membrana en la membrana plasmática o desde endosomas (no

mostrados); liberación del núcleo vírico y desnudado parcial; transcripción inversa; tránsito a través del citoplasma y entrada nuclear; e integración al DNA celular para dar un provirus. 2. La salida viral implica los siguientes pasos: transcripción por RNA polimerasa II (RNAPII); empalme y exportación nuclear de RNA viral; traducción de proteínas virales, ensamblaje de Gag y empaquetamiento del RNA; gemación a través de la membrana celular; y liberación de la superficie celular y maduración del virus.³²

Dado que los retrovirus generalmente no lisan a su célula hospedera, la integración permite una asociación a largo plazo entre la célula y el virus. Si la célula infectada es una célula germinal, es posible la colonización viral de la línea germinal. En algunos de los artículos que citamos a lo largo de este trabajo^{9,21} indicaron que tales eventos han ocurrido múltiples veces durante el curso de la evolución¹⁷. Tales provirus hereditarios son los retrovirus endógenos (RVE) y proporcionan un "registro fósil" de infecciones retrovirales previas que datan de hace muchos millones de años, lo que sugiere un flujo interminable de desafíos retrovirales para los vertebrados.^{9,27}

En respuesta a tales infecciones, han evolucionado diversos mecanismos de defensa del hospedero que dan lugar a la inmunidad intrínseca a la infección retroviral, a su vez, también han surgido nuevos cambios en los retrovirus. Esta revisión rastrea la relación de larga data entre los retrovirus y sus anfitriones, que fue revelada inicialmente por el estudio de los RVE, y analiza algunos de los cambios resultantes impulsados por su conflicto evolutivo.³²

Endogenización

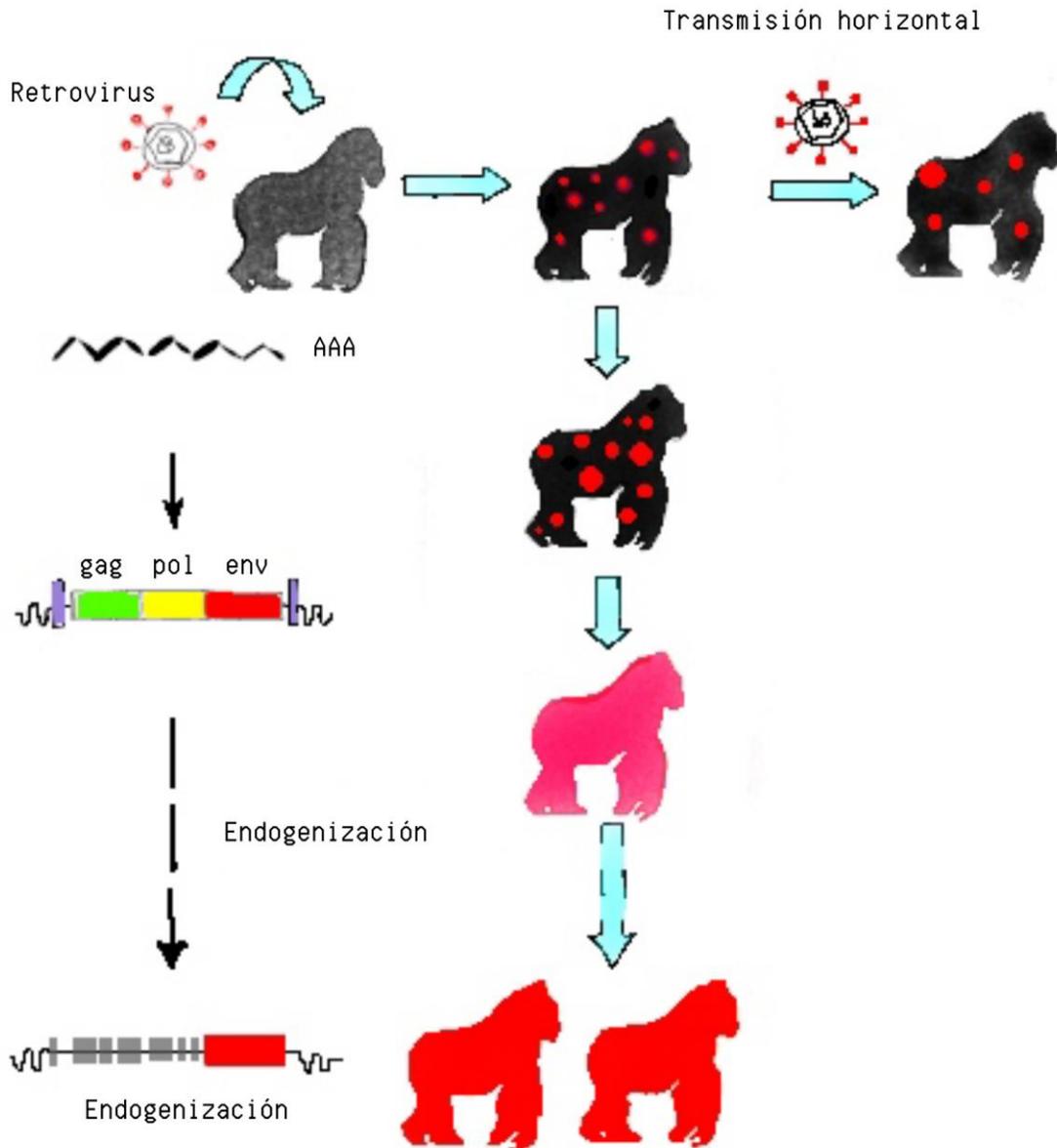


Figura 5 Endogenización retroviral y captura de genes. Los retrovirus pueden transcribir de forma inversa su RNA genómico en una copia de DNAc que se integra en el genoma de las células infectadas con un provirus que contiene los tres genes virales gag, pol y env (izquierda). La infección retroviral conduce a la inserción proviral en un número limitado de células del animal infectado. La producción de nuevos viriones infecciosos da como resultado la transmisión horizontal del virus (arriba a la derecha). En casos ocasionales en los que un retrovirus infecta células de la línea

germinal, el DNA proviral integrado se transmite verticalmente a la descendencia (centro). El retrovirus ha sido "endogenizado" y ahora está presente en todas las células somáticas y germinales del animal.²⁷

Los elementos virales endógenos (EVE^{XVI}) resultan de la integración cromosómica del DNA viral (o copias de DNA del RNA viral) en el gen del huésped, que permite la transmisión vertical y la fijación.²⁶

La reciente disponibilidad de un gran número de secuencias del genoma eucariótico, combinada con una capacidad mejorada de bioinformática para detectar y guardar EVES²⁰, ha sentado las bases para el campo emergente de la paleovirología, lo que ha marcado un cambio en el estudio de la genética y sus aplicaciones a la medicina moderna.²¹

Después de describir el descubrimiento de los EVEs, se ha discutido cómo esta área floreciente ya ha generado un cambio importante en nuestra percepción de la evolución pues, además de las propiedades infecciosas que les permiten propagarse horizontalmente²⁷ entre individuos y entre especies, muchos virus también pueden formar parte del material genético de los organismos, en un proceso que se llama endogenización³⁸.

La infección viral de las células de la línea germinal (es decir, gametos o células del embrión temprano) puede conducir a la integración de genes virales o genomas dentro de los cromosomas y se heredan como alelos del huésped.^{21,24} Estas inserciones generalmente se eliminan del conjunto de genes de hospedero dentro de un pequeño número de generaciones. Sin embargo, también pueden aumentar en frecuencia, y algunos finalmente alcanzan la fijación.³⁹

Al descubrir la profunda evolución de los virus modernos, los EVE llenan vacíos en la evolución viral. A pesar de la importancia numérica y ecológica de los virus en la biosfera y su impacto frecuentemente devastador en la salud humana, nuestra comprensión de la evolución viral sigue siendo fragmentaria³.

^{XVI} EVE, Elementos virales endógenos

Con respecto a los orígenes tempranos de los virus y la naturaleza de sus relaciones evolutivas con eucariotas y bacterias, el consenso emergente postula que los virus pueden ser más antiguos que la vida celular y pueden haber desencadenado su aparición o al menos haber influido profundamente en la evolución temprana de la vida³. El origen antiguo inferido de los virus se basa, en parte, en la observación de que varios genes implicados en la replicación de DNA o RNA y el ensamblaje de la cápside son estructuralmente más similares entre diversos virus que infectan los tres dominios de la vida y cualquier organismo celular.²¹

Elementos virales endógenos y el registro de fósiles genómicos.

Los virus animales exhiben una gran variedad de tipos de genoma y estrategias de replicación, si bien todos los virus deben producir RNAm para expresar sus proteínas, los pasos entre la entrada en la célula y la expresión del RNAm varían enormemente.²¹

La fase de transmisión horizontal de los retrovirus tiene la ventaja como mecanismo evolutivo de que permite provocar un cambio genómico importante, afectando incluso la fisiología de desarrollo o reproducción, en un número significativo de individuos, frente a la dificultad de expansión a la población de una mutación importante en un único individuo que afecte, por ejemplo, a la reproducción³. De este modo, las comparaciones filogenéticas de cada familia de RVEs es, en general, concordante con la filogenia conocida de los organismos que los presentan, mientras que, a mayor complejidad orgánica, aparecen mayor número de familias distintas, lo que implica sucesivas entradas de RVs a lo largo de la evolución.⁴⁰

Si la integración ocurre en una línea de células germinales que se convierte en un organismo hospedero viable, se forma una EVE. En el ejemplo dado, el EVE alcanza la fijación genética en el punto indicado y es heredado por todos los hospederos descendientes a partir de entonces; suponiendo que la inserción se produce aleatoriamente, la presencia de EVE relacionadas en el mismo locus en ambas especies descendientes A y B indica que la inserción se produjo antes de su

divergencia, lo que permite inferir una edad mínima para la inserción a partir de la escala de tiempo estimada de su evolución⁹. Por el contrario, la presencia de un sitio de inserción vacío en la especie C proporciona una edad máxima para la inserción.^{21XVII}

Y en conclusión, todo este material genético es para codificar una proteína perfectamente dispensable por la célula.

Los RVEs son biológicamente activos, tanto a nivel de RNAs transcritos, como de las proteínas que codifican, y son muchos los ejemplos de participación de los genes y las regiones reguladoras retrovirales en las funciones celulares normales. Además, se expresan diferencialmente dependiendo de los tipos celulares y tejidos, así como del momento de desarrollo, de modo que están sometidos a una regulación espacio-temporal muy precisa⁴¹⁻⁴³

Muchas de las proteínas que producen son funcionales³⁰, aunque muchas de ellas sean truncadas, ya que presentan los motivos proteicos funcionales, como en el caso del gen *env* del HERV-H que produce proteínas incompletas pero con el dominio de transmembrana inmunosupresor⁴⁴, o el gen *gag* del HERV-W con dominios parciales de cápside y matriz capaces de unirse a DNA⁴⁵.

^{XVII} Abreviaturas: dsDNA (DNA bicatenario); ssDNA (DNA monocatenario), dsRNA (RNA bicatenario), RNA-ve (sentido negativo, RNA monocatenario), RNA-ve (sentido negativo, RNA monocatenario), RNA + ve (sentido positivo, RNA monocatenario).

Capítulo 3: El rol de la Sincitina en la placentación y la relación de esto con los retrovirus endógenos.

Placenta:

Placenta significa “*torta*” en latín, debido a su forma redondeada. También se dice que viene del griego “*plakus*” que significa pastel plano (**Figura 6**).⁴⁶

Su importancia radica en que es el órgano de intercambio materno-fetal, por lo que si la placenta presenta defectos en su formación, causa gestaciones anormales; también funciona como estructura de anclaje, como puente nutritivo y como órgano excretor, respiratorio y endócrino.⁴⁷

En la medicina antigua se consideraba como un órgano inerte que sólo permitía la transferencia de oxígeno y el intercambio de nutrientes desde la madre al feto, sin embargo actualmente se sabe que también es un órgano de producción de hormonas.⁴⁷

Funciones de la placenta:

La placenta es un órgano transitorio que media el intercambio de nutrientes y gases entre la madre y el feto durante la vida intrauterina. La estructura anatómica de la placenta corioalantodea en mamíferos euterios (**Figura 7**) varía entre las diferentes especies animales⁴⁸.

- Alimentación fetal: permite el transporte de numerosos nutrientes hacia el feto, sintetiza sustancias y las almacena comportándose como órgano de reserva. En bovinos, las macromoléculas son transportadas con dificultad y no hay transferencia de inmunoglobulinas por la placenta desde la sangre materna a la fetal, pero es permeable contra el gradiente de concentración al agua,

electrolitos, aminoácidos, péptidos, proteínas de bajo peso molecular, vitaminas hidrosolubles y algunas hormonas.⁴⁹

- Excreción de productos del feto: Nitrógeno no proteico, urea, etc.
- Intercambio gaseoso.
- Barrera defensiva.⁵⁰

Función endócrina de la placenta: producción de cuatro hormonas:

1. **Estrógeno:** crecimiento del útero, genitales externos femeninos, glándulas mamarias, velocidad de crecimiento del embrión.⁴⁶
2. **Progesterona:** producción de leche uterina y secreciones oviductales, inercia uterina, mantenimiento de la gestación. Proviene principalmente del Cuerpo lúteo (CL) del ovario, también de placenta y glándulas adrenales. La presencia del CL es esencial durante los primeros 5 meses y el último mes de gestación⁴⁶.
3. **Gonadotropina coriónica:** Estimula la actividad ovárica, regula el aporte de nutrientes.⁴⁶
4. **Lactógeno placentario:** desarrollo de glándula mamaria, producción de leche, hormona metabólica en la partición de nutrientes, facilita la síntesis y acumulación de proteínas, y disponibilidad de glucosa por el feto, liberación de ácidos grasos de los depósitos maternos. La concentración aumenta en el último tercio de la gestación.⁴⁶

Diversidad placentaria:

Estructural:

Los ovulos fertilizados se diferencian en una masa celular interna^{XVIII} (ICM) y un trofoectodermo externo en el desarrollo temprano del trofoblasto de mamíferos. La ICM se desarrolla tanto en el embrión como en el amnios, el saco vitelino y el

^{XVIII}Masa celular interna (ICM): Conjunto de células que se encuentran en el interior del blastocisto. Estas células dan lugar al disco embrionario y finalmente al embrión.⁵⁶

alantoides, mientras que el trofoectodermo forma una membrana coriónica y luego se convierte en una parte importante de la placenta (**Figura 6**).⁴⁶

En la mayoría de los mamíferos, el alantoides desplaza el saco vitelino del trofoblasto, lo que resulta en una placentación corioalantoidea⁵¹. Sin embargo, en algunas otras especies de mamíferos, como roedores, lagomorfos y marsupiales, el saco vitelino forma un epitelio absorbente de cara a la madre, conocido como placenta del saco vitelino invertido, que persiste hasta el término de la gestación⁵². Una interpretación de la diversa variedad de morfología placentaria es que en los mamíferos tempranos, la placenta predominante era del saco vitelino o saco vitelino invertido, después de lo cual se desarrolló una placentación corioalantoidea (**Figura 7**)^{27,53}

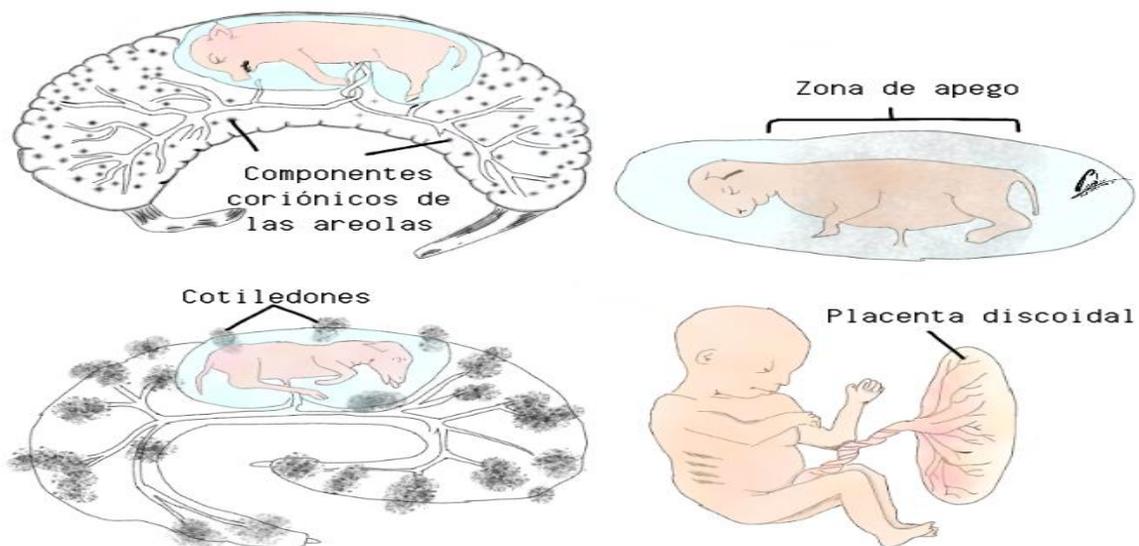


Figura 6 Tipos de placentación. **1)** Difusa, muchos puntos de contacto, las microvellosidades del corion se distribuyen por toda la superficie, se desprende fácil, no hay intercambio de inmunoglobulinas; ejemplos de esta placentación son la yegua y la cerda. **2)** Localizada (ecuatorial): presente en carnívoros; la unión se encuentra en la zona media. **3)** Cotiledonar: la placenta se constituye por pocos puntos de contacto entre la madre y el feto, por placentomas constituidos por la unión de las carúnculas endometriales a los cotiledones, ejemplos de esta placentación son todos los rumiantes. **4)** Discoide: tiene un solo punto de contacto; hay intercambio de inmunoglobulinas y proteínas; hay daño y lenta recuperación post parto. Ejemplo de esta placentación son todos los primates.^{46,54,55}

Histológica:

Epiteliocorial: 6 capas de tejido:

- Tejido materno: endotelio- tejido conectivo- y epitelio o endometrio.
- Tejido fetal: epitelio (alantocorion)- tejido conectivo- endotelio
- Fijación difusa y cotiledonar. No hay pasaje de inmunoglobulinas. ⁴⁶

Endoteliocorial: 4 capas:

- Tejido materno: endotelio vascular.
- Tejido fetal: epitelio- tejido vascular- endotelio.
- Fijación localizada.

Hemocorial: 3 capas.

- Tejido fetal- epitelio- tejido vascular- endotelio.
- Fijación discoide.

Hemoendocorial: 1 capa.

- Tejido fetal, endotelio vascular.⁵⁶

Implantación

El término implantación se usa para describir la unión del embrión en desarrollo al endometrio. Este proceso, que se produce en tres etapas en animales domésticos, es gradual, con la aposición del blastocisto o las membranas fetales al epitelio uterino seguido por la adhesión. Dependiendo de la especie, la etapa final puede involucrar un apego firme o una invasión real del endometrio. ⁴⁶

Como un embrión permanece relativamente independiente de las influencias maternas antes de la implantación, puede crecer en condiciones *in vitro* hasta la etapa de blastocisto, sin embargo, a partir del momento de la implantación, la viabilidad del concepto está muy influenciada por factores maternos, y la

supervivencia embrionaria depende de la adaptación hormonal e inmunológica de la madre a la gestación.⁴⁶

Placentación en mamíferos

Cuando el blastocisto alcanza el útero, inicialmente es sostenido por secreciones uterinas, después de un breve retraso, se adhiere al endometrio con la consecuente formación de una placenta. Esta compleja estructura permite el intercambio selectivo de nutrientes, gases y productos de desecho. Con base

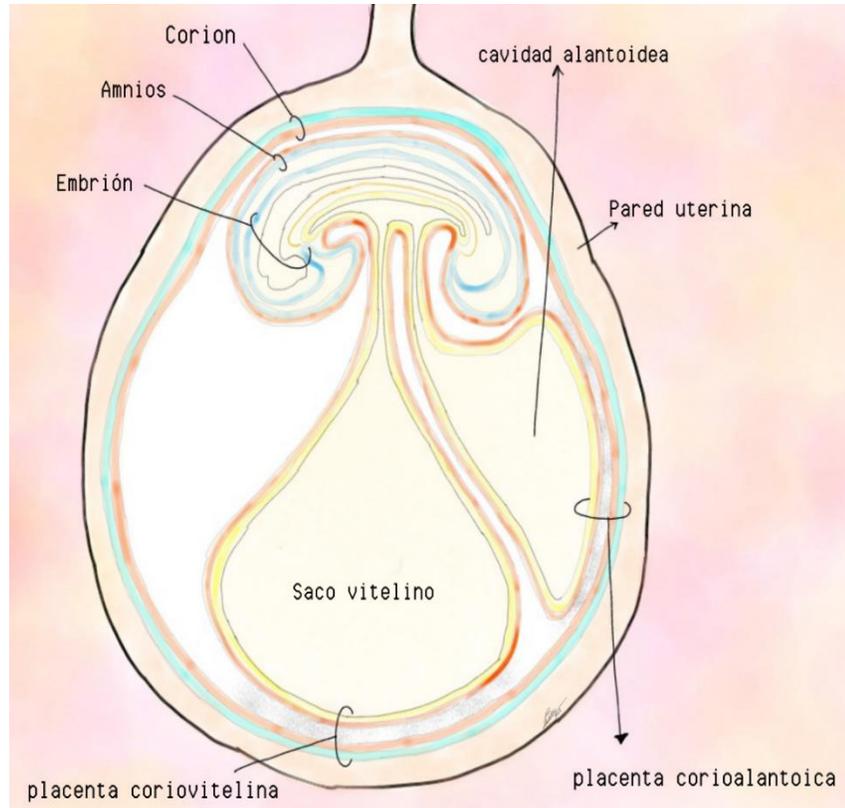


Figura 7 Componentes de una placenta coriovitelina y placenta corioalantoica⁴⁵

en la relación entre las membranas fetales y el tejido materno, se reconocen dos tipos básicos de placenta, coriovitelina y corioalantoidea. Cuando las membranas de coriovitelina vascular fusionadas se unen al endometrio, la placenta resultante se conoce como coriovitelina o placenta del saco vitelino. Este tipo de placentación se encuentra comúnmente en los marsupiales. Cuando la membrana corioalantoica se adhiere al endometrio, la placenta resultante se denomina placenta corioalantoidea. Si bien esta es la forma definitiva de placentación en los mamíferos superiores, puede estar precedida por y coexistir con una placenta de coriovitelina temporal.⁴⁶

La sincitialización

Significa la fusión de citotrofblastos entre sí para generar un sincitio^{XIX} de trofblastos (el sincitiotrofblasto) en la superficie de las vellosidades coriónicas, como ocurre en el caso de la placenta difusa.¹²

Las sincitinas son proteínas de la envoltura de retrovirus endógenos que desempeñan un papel importante en la placentogénesis. Los parientes más cercanos de los mamíferos euterios, los marsupiales como los koalas y los canguros, tienen una placenta muy primitiva y poseen genes de sincitina⁵⁷.

Evolución placentaria a través de los sincitiotrofblastos

La formación y su función también muestran el sello de la evolución convergente. Las células del sincitiotrofblasto, componentes de la membrana coriónica, se generan a partir de la fusión trofoectodérmica y funcionan de manera eficiente en el intercambio de nutrientes o gases y la producción de lactógeno placentario y gonadotropina coriónica^{58,59}. Esta estructura también está involucrada en el concepto de inmunotolerancia por parte de la madre.

En la placentación hemocorial, las estructuras de sincitiotrofblastos se pueden dividir en tres tipos dependiendo del número de capas de trofblastos. La placenta de algunas especies murinas se caracteriza por ser monocorial con una sola capa de sincitiotrofblasto; aunque la placenta humana no tiene una zona laberíntica como en los murinos, puede clasificarse como una placenta monocorial (**Figura 6**). En contraste, los murinos que incluyen las familias *Muridae* y *Cricetidae* tienen tres capas de trofblastos y, por lo tanto, se clasifican como placentación tricorial (**Figura 6**)⁶⁰.

La primera capa más cercana al estroma consiste en células citotrofblastas mononucleadas, y la segunda y tercera capas de trofblastos están compuestas de

^{XIX} Sincitio: Del griego σύν syn “junto” y κύτος kytos “caja” es una célula con varios núcleos resultante de la fusión de varias células

células sincitiotrofoblastas. Los castores, los conejos y los murciélagos tienen placentas dicoriales, con la primera capa compuesta de células sincitiotrofoblastos y las células del segundo citotrofoblasto. Los carnívoros, incluidos las familias *Felidae* y *Canidae*, tienen capas de bi-trofoblastos, siendo la primera capa el citotrofoblasto y el segundo sincitiotrofoblasto⁵².

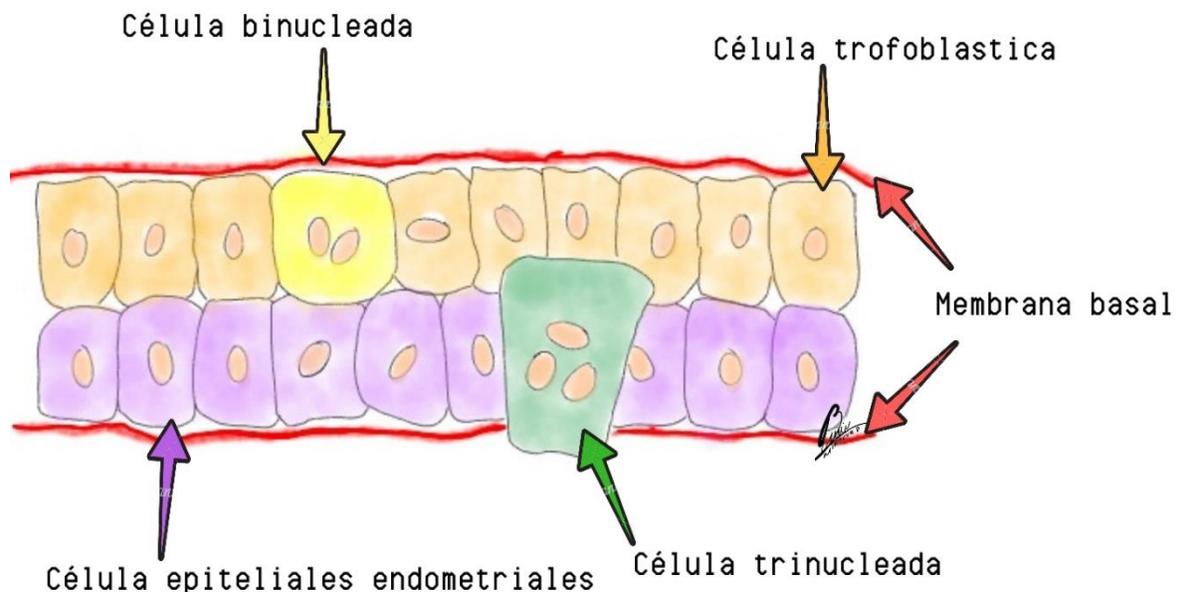


Figura 8 Formación de células binucleadas y trinucleadas en el trofoblasto bovino. En el bovino, no se forman células sincitiotrofoblastos, sin embargo a través de la mitosis acitocinética, el trofoectodermo forma células binucleadas (BNC), que tienden a migrar y fusionarse con las células epiteliales uterinas, lo que da como resultado la formación de células trinucleadas (TNC) localizadas en el estroma uterino. Se cree que estas células secretan hormonas del embarazo como el lactógeno placentario y la proteína B específica para el embarazo. Figura modificada de The roles of syncytin-like proteins in ruminant placentation, Nakaya, 2013.¹²

En animales que pertenecen a la familia *Bovidae*, no se forman células sincitiotrofoblastos, sin embargo a través de la mitosis acitocinética, el trofoectodermo forma células binucleadas (BNC), (**Figura 8**), que migran y se fusionan con las células epiteliales uterinas, lo que resulta en la formación de células trinucleadas (TNCs) (**Figura 8**) localizadas en el estroma uterino⁶¹.

En ovinos y caprinos, las BNC se forman de manera similar a las de las especies bovinas, en lugar de formar TNCs, BNCs y epitelio uterino, se fusionan y forman

placas sincitiales; estas TNC (**Figura 8**) y las placas sincitiales funcionan de manera similar a las de los sincitiotrofbastos en estas especies⁶² (**Figura 8**).

En animales con placentación epiteliochorial, como caballos, camellos, cerdos, hipopótamos y cetáceos, no se forma la capa de sincitiotrofblasto; sin embargo, las BNC se encuentran en la placenta del caballo⁶². Aunque la familia *Procaviidae*, el *Tenrec ecaudatus* y la familia *Dipodidae* poseen placentación hemocorial (**Figura 6**), las células sincitiotrofblastas no se forman en sus placentas^{49,63}.

Estas observaciones indican que aunque las placentas cumplen funciones análogas de nutrición e intercambio de gases, sus morfologías están mucho más diversificadas y sus variaciones morfológicas no se limitan a su sección específica del árbol evolutivo de los mamíferos.³

Importancia del sincitiotrofblasto en el intercambio de nutrientes / gases

Las células trofoblásticas, componentes de la membrana más externa con propiedades invasivas, están ubicadas junto al endometrio materno. Sin embargo, si las células del trofblasto continúan mostrando una agresiva integración pueden estresar a el útero, causando sangrado uterino y provocando una respuesta inmune contra el embrión. Aunque el endometrio uterino posee la capacidad de controlar la invasión de trofblastos, los mismos trofblastos pueden haber evolucionado para limitar su propia invasividad al endometrio uterino.²⁷ Uno de estos mecanismos es controlar sus propios ciclos celulares a través de la inhibición del ciclo celular. La inhibición de los ciclos celulares causa la endorreducción, formando células gigantes trofoblásticas. En humanos y especies murinas, los sincitiotrofblastos se forman a través de la fusión de células citotrofblastas, lo que resulta en el cese de los ciclos celulares⁶⁴ y la regulación de la invasividad del trofblasto al endometrio materno. La sincitilización puede no ser el único mecanismo a través del cual los trofblastos controlan su invasividad. Se sabe que los damanes (orden *Hyracoidea*) tienen placentación hemocorial, pero su trofblasto no forma un sincitio. Esta aparición independiente de funciones similares en diferentes clados es un excelente ejemplo de evolución convergente (**Cuadro 1**).

Cuadro 1 Diversidad placentaria y animales que podrían estar asociados a una evolución placentaria a través de los sincitiotrofoblastos. ⁶⁵ Tabla modificada de Imakawa, K., Nakagawa, S. & Miyazawa, T. Baton pass hypothesis: Successive incorporation of unconserved endogenous retroviral genes for placentation during mammalian evolution.

Epiteliocorial			Sindesmocorial	
Difusa	Mononucleada	Mono/Bi nucleado	Multinucleado	
	Cerdo Ballena Delfín	Caballo	Lemúrido	
Cotiledonaria				Mono / bi / multi nuclear
				Vacas y borregos

		Endoteliocorial		Hemocorial			
Zonal		Mononuclear	Multinuclear	Mononuclear		Multinuclear	
		Ratas, canguro y elefante	Perro, gatos y focas	Hyrax / Damanes		Hiena	
Discoidal	Bi	Multinucleada		Multinucleada			
		Tsubai**		Macaco Rhesus, Macaco Japonés			
	Mono	Topo nariz de estrella		Mono (Mononucleada)	Mono (Multinucleada)	Bi (mononucleada y multinucleada)	Bi (mononucleada y multinucleada)
			Gerbo	Cuyo Primates (humano)	Castor y conejo	Ratón, rata y hámster	

Retrovirus endógenos en la placenta

A través de numerosos análisis de ADN genómicos de mamíferos, las secuencias repetidas constituyen al menos el 45% y el 40% de los genomas humanos y de ratón, respectivamente^{33,66}. De estos, los ERV y los retrotransposones de repetición terminal larga (LTR) constituyen el 8% y el 10% de esos genomas, respectivamente. Como parte del genoma de un organismo, los ERV pueden exhibir funciones, aunque sus estructuras de nucleótidos exhiben en gran medida deleciones y / o mutaciones.

En general, junto con las LTRs 5' y 3', los genomas de los retrovirus contienen los genes *gag*, *pro*, *pol* y *env*, algunos de los cuales aún están activos en su transcripción y codifican proteínas. Los estudios extensivos de RVE de mamíferos han proporcionado información sobre sus proteínas Env, que permiten la infección de RVE a las células huésped a través de receptores específicos e inducen la fusión célula-célula^{9,27}. En los seres humanos, se han identificado 18 estructuras de nucleótidos de RVE-*env*, entre los cuales 16 genes tienen genes *env* completamente codificantes y se transcriben en varios tejidos sanos; sin embargo, solo tres de los 18 RVE poseen actividad fusogénica^{67,68}.

Suborden Ruminantia / Bovinos, *Bos taurus*

Los miembros de la familia *Bovidae*, que consisten en rumiantes de pezuña hendida, utilizan múltiples puntos de unión materna en la placenta, conocidos como cotiledones, y células híbridas, denominadas células trinucleadas o placas sincitiales, formadas por una fusión de trofoblastos fetales y células endometriales maternas para proporcionar hormonas esenciales y mantener largos períodos de gestación. Estas células híbridas son exclusivas de los bovinos; se ha descrito que el gen Syncytin-Rum1 se insertó en genomas de rumiantes, incluidos bovinos y ovinos, y posiblemente participó en la fusión de célula a célula fetomaterna en ambas especies^{69,70}. Sin embargo, el Syncytin-Rum1 es insuficiente para explicar la diversidad morfológica de los híbridos fetomaternos entre bovinos y caprinos (es decir, células trinucleadas en bovinos y placas sincitiales en caprinos). Se ha

reportado que la envoltura del retrovirus endógeno bovino *K1 (BERV-K1)*¹², también conocido como *Fematin-1*, se expresó específicamente en trofoblastos binucleados durante la gestación en bovinos y la fusión inducida con células endometriales bovinas in vitro a un nivel significativamente más alto que “*Syncytin- Rum1*” (**Cuadro 3**), bajo condiciones fisiológicas.⁶⁹

Se encontró que *Fematin-1* se integró en el intrón 18 del homólogo supresor de tumores FAT 2 (*FAT2*) hace aproximadamente 18.3 a 25.4 millones de años y ha estado sujeto a selección purificadora a través de la evolución de Bovinae. Filogenéticamente, *Fematin-1* es distinto de los genes “*Syncytin*” encontrados en otras especies de mamíferos que forman sincitiotrofoblastos, (**Cuadro 3**). Los resultados sugieren que el retroelemento endógeno recientemente adquirido ha contribuido a generar diversidad placentaria a través de la evolución de los rumiantes.¹²

Placenta ovina

El retrovirus endógeno ovino “*Jaagsiekte*” (*enJSRV*) se expresa en numerosos tejidos y órganos de ovejas: el RNAm del *enJSRV* es abundante en los órganos del tracto reproductivo, en las células del trofotodermo y, en particular, en las células binucleadas gigantes del trofoblasto (BNC) (**Figura 8**) y en los sincitios multinucleados que se requieren para la implantación y formación de placentomas⁷¹, los cuales son necesarios para la nutrición del feto. La expresión del RNAm del JSRV comienza el día 12 después de la cópula y la inhibición de la expresión de env por oligonucleótidos antisentido retarda el crecimiento del blastocisto, a la vez que inhibe la diferenciación de BNC gigantes y produce pérdida de la gestación, lo que indica que la reproducción de la oveja es completamente dependiente de la expresión del env *ENJSRV*.¹⁷

La expresión de la proteína Env del *enJSRV* en el endometrio aumenta entre el día 1 y el 13, y como se observa en otras especies, las partículas virales se producen en el epitelio y el trofoectodermo, no está claro si estas partículas tienen una función

biológica. También se ha detectado la expresión de proteínas del *EnJSRV* en fetos de ovejas, en las células linfoides de la lámina propia del intestino y en el timo, lo que indica que puede prevenir la infección por *JSRV* exógeno⁷².

Carnívoros

En los carnívoros se encontró la proteína Syncytin-Car1 con un sitio de integración que es idéntico en gatos y perros⁷³. La proteína es fusogénica para células de perros y gatos y se conserva entre los 26 representantes de la clase *Carnivora* desde hace 60–85 millones de años y es el gen de sincitina más antiguo identificado hasta la fecha.⁷⁴

La placenta de los carnívoros es del tipo endotelocorial^{75–77}. Tal como se esquematiza en la **Figura 9A**, se compone, desde el feto hasta la madre, de la zona laberíntica donde se intercalan las vellosidades fetal y materna, la zona de unión donde las vellosidades fetales están invadiendo el tejido materno y la zona glandular uterina materna y el miometrio. En la punta de las vellosidades fetales invasivas, las células citotroblastas migran y generan el sincitiotroblasto, una capa sincitial multinucleada diferenciada por fusión célula-célula (**Figura 9B**). Este sincitiotroblasto es altamente invasivo y fagocítico dado que destruye el epitelio materno y rodea los vasos sanguíneos maternos, formando así el patrón endotelocorial de la interfaz materno-fetal. En discrepancia con humanos y ratones, el sincitiotroblasto en la clase *Carnivora* no interrumpe los vasos maternos.^{27,73}

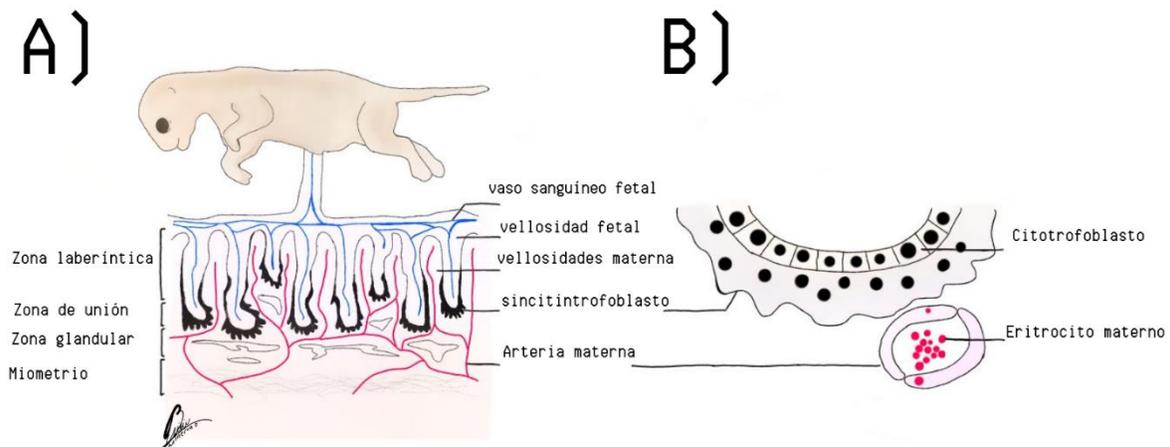


Figura 9 Estructura de la placenta carnívora e hibridación *in situ* para la expresión de la sincitina-Car1 en cortes de placenta de perros y gatos. Representación esquemática de la placenta carnívora (izquierda), desde la madre hasta el feto, el miometrio, la zona glandular, la zona de unión y la zona laberíntica. Los vasos maternos y fetales están esquematizados,

con el sincitiotrofoblasto invasivo en la interfaz fetomaterna coloreado de negro en la punta de las vellosidades fetales invasoras. Una vista ampliada (derecha) muestra el sincitiotrofoblasto multinucleado (púrpura claro) generado por fusión a partir de las células citotroblastas mononucleadas subyacentes (beige) que forman la interfaz entre los compartimentos fetales y los vasos maternos (con los glóbulos rojos esquematizados).⁷³

En el perro, la expresión de la sincitina-Car1 está restringida a la zona de unión en la punta de las vellosidades en áreas donde las células placentarias invaden los tejidos maternos (**Figura 9**). En el gato, la zona de unión es más delgada y se observa un etiquetado específico en todas las vellosidades. Las imágenes de mayor aumento (**Figura 9B**) también muestran que syncytinCar1 se expresa, tanto para el perro como para el gato, en la superficie de las vellosidades fetales. La expresión se detecta a nivel de la interfaz del sincitiotrofoblasto multinucleado entre los citotroblastos fetales mononucleados y los vasos maternos.⁶⁵ Dicho etiquetado es consistente con un papel para la Syncytin-Car1 fusogénica en la formación del sincitiotrofoblasto, (**Cuadro 3**).⁷³

Sincitinas en otras especies

Aunque los marsupiales no pertenecen a los mamíferos euterios (placentarios), habiendo divergido de ellos hace 190 millones de años, construyen una placenta relativamente primitiva y poseen un gen de sincitina⁷⁸.

En la zarigüeya sudamericana se identificó un gen, nombrado sincitina-Opo1, que codifica una proteína fusogénica y se expresa específicamente en la placenta, cumpliendo con los criterios de una sincitina; también se identificó un gen TM no fusogénico que tiene un dominio inmunosupresor. Esta proteína TM se ha conservado durante 80 millones de años. Sorprendentemente, se ha encontrado evidencia de la reciente endogenización de una tercera clase de proteínas de envoltura retroviral que se expresan fuertemente en glándulas uterinas. En esta revisión se demuestra que los genes de sincitina se han identificado en lagomorfos, carnívoros, rumiantes y tenrecs de África primitiva (**Cuadro 3**) y un aspecto interesante es que las sincitinas de cada taxa han sido reclutadas de diferentes retrovirus; la proteína *Syncytin-Ten 1* se encontró en la familia *Therecidae* (por ejemplo, el tenrec erizo menor) perteneciente al superorden *Afrotheria*, que divergió en *Euarchotonglires* y *Laurasiathera* hace 100 millones de años, mientras que la

endogenización fue hace 40 a 60 millones de años. La proteína *Syncytin-Ory12* (**Cuadro 3**) se identificó en conejos y liebres de la familia *Leporidae* y se ha descrito su conservación durante más de 12 millones de años, además se ha documentado que, al igual que la *sincitina-1* humana, utiliza el receptor *ASCT-2* ⁷⁴.

Las sincitinas en cerdos son aún desconocidas (**Cuadro 1**). Los cerdos tienen una placenta epiteliocorial, en la que los tejidos fetales y maternos simplemente se colocan sin evidencia de formación de sincitiotrofoblastos⁴⁸. Esto plantea la cuestión de la presencia de sincitinas en cerdos; si los cerdos no tienen sincitinas involucradas en la fusión celular, al menos pueden usar proteínas retrovirales para la inmunosupresión ligada a la gestación. Para investigar el papel potencial de los retrovirus endógenos porcinos (PERV), se inmunizaron cerdos landrace alemanes con la proteína *TM p15E* del *PERV-A*, (**Cuadro 3**), el PERV más común en cerdos, con la esperanza de interrumpir la función biológica mediante una respuesta mediada por anticuerpos. Cuando se inmunizaron otras especies, como cabras y ratas con *p15E* de PERV (incluso con el mismo lote de proteínas), siempre obtuvieron una fuerte respuesta de anticuerpos neutralizantes y de unión⁷⁹⁻⁸². Sin embargo, cuando inmunizaron a los cerdos notaron que los cerdos son tolerantes y no inducen una respuesta inmunitaria contra la proteína *TM p15E*⁸³. Por lo tanto, se debe desarrollar otra estrategia para identificar las sincitinas de los cerdos, si es que existen.⁶⁵

Reptiles: Lagartija de mabuya

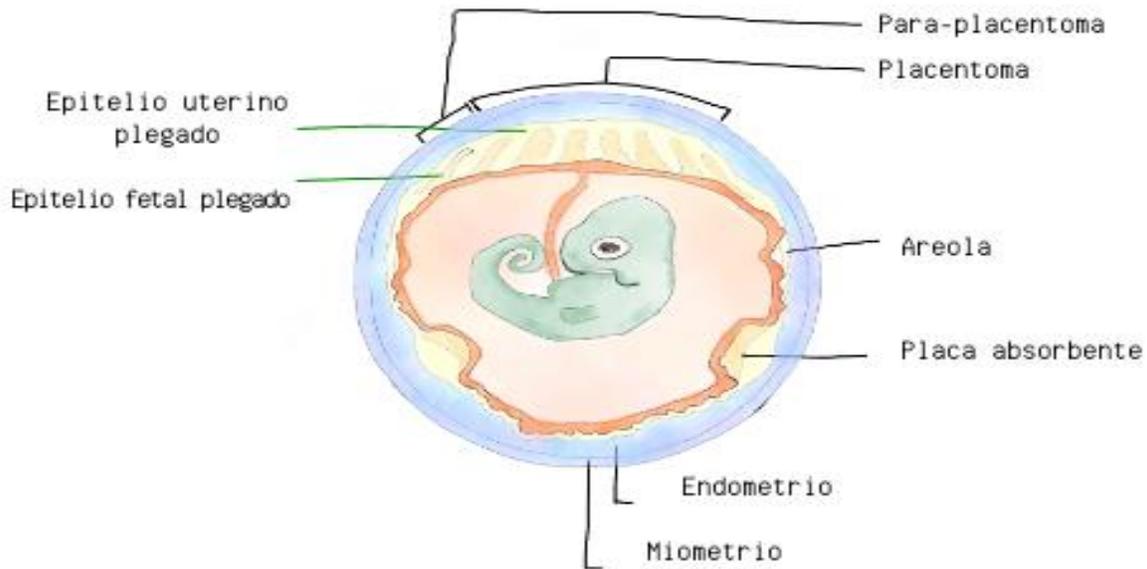


Figura 10 Representación esquemática de la etapa final de Mabuya sp. Placenta intravenosa Es descrita por Blackburn (1993) para la especie de lagartija liza heathi y posteriormente retomada para las especies estudiadas de este género en el Continente Americano. Esta alantoplacenta se caracteriza por que se presentan areolas coriónicas asociadas con glándulas uterinas, un placentoma convexo con radiación de vellosidades en los pliegues uterinos, un arreglo sincitial del epitelio uterino frente a un epitelio biestratificado formado por células gigantes binucleadas.⁸⁴ Figura modificada de Cornelis, G. et al. An endogenous retroviral envelope syncytin and its cognate receptor identified in the viviparous placental Mabuya lizard

La lagartija de mabuya, perteneciente a la familia *Scincidae*, es un reptil vivíparo que desarrolla una estructura placentaria que forma regiones especializadas muy similares a las que se encuentran en los mamíferos, como el placentoma. El análisis ultraestructural de esta región reveló además la presencia de una estructura sincitial en la interfaz materno-fetal, como se observó en numerosas especies de mamíferos. Estos hallazgos evidencian los alcances de la endogenización de las sincitinas, al no restringirse solo a mamíferos sino también a otros vertebrados vivíparos en los cuales se desarrolló una reproducción placentotrófica⁸⁵⁻⁸⁷.

El análisis del transcriptoma placentario de la lagartija de Mabuya, reveló la presencia del gen retroviral endógeno Mab-Env1, que se expresa especialmente a

nivel de la interfaz materno-fetal, tanto en la capa maternal de sincitio en el placentoma como en el epitelio fetal en el paraplacentoma, dando lugar a la proteína fusogénica *Mab-Env1*, de la cual se ha documentado que puede reemplazar funcionalmente al gen *env* retroviral actual dentro de un retrovirus infeccioso recombinante.^{88,89}

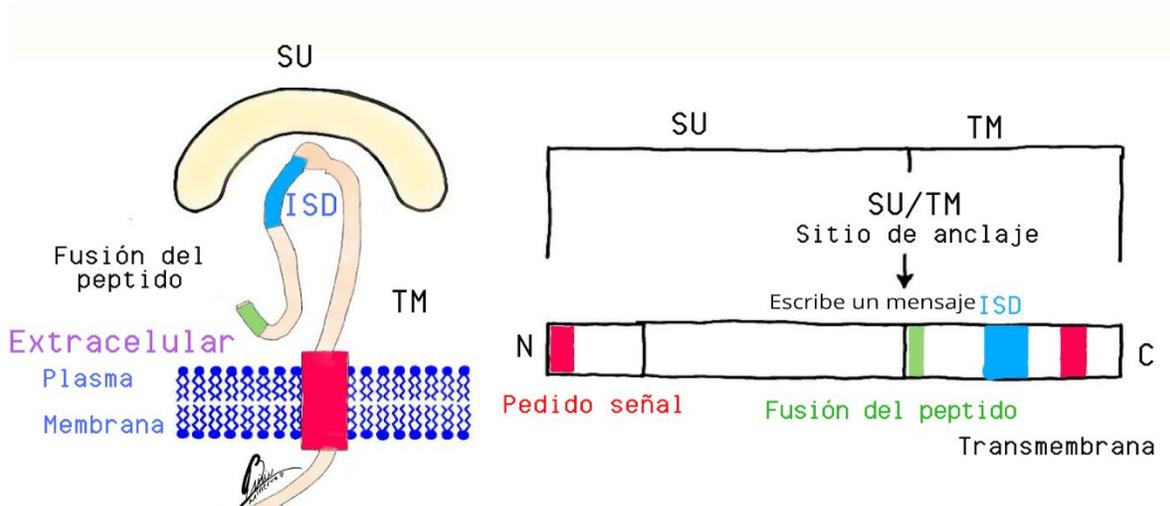


Figura 11 Estructura de una proteína Env retroviral canónica y caracterización de Mabuya. Representación esquemática de una proteína Env retroviral que delinea las subunidades SU y TM. El sitio de escisión de furina (consenso: R / KXR / KR) entre las dos subunidades, el motivo CXXC involucrado en la interacción SU-TM, el péptido señal hidrofóbico (púrpura), el péptido de fusión (verde), el dominio transmembrana (rojo), se indican el supuesto dominio inmunosupresor (ISD) (azul) y el motivo CX -C conservado (CC).⁸⁹ Modificado de Cornelis, G. et al. An endogenous retroviral envelope syncytin and its cognate receptor identified in the viviparous placental Mabuya lizard.

El receptor de *Mab-Env1* también se identificó y se encontró que era el transductor de señal transmembrana MPZL1⁸⁵. Su expresión no está restringida a la placenta, pero la hibridación *in situ* demuestra la expresión en la interfaz materno-fetal, que se colocaliza con la de *Mab-Env1* en la capa sincicial del placentoma. Finalmente, se ha demostrado que *Mab Env1* se conserva, cubriendo aproximadamente 25 millones de años de evolución de este clado placentario específico⁹⁰. Tanto la actividad de fusión, la expresión en la placenta y la conservación durante la

evolución, permiten que *Mab-Env1* se llame ahora "**sincitina-Mab1**" y se agregue a la serie de sincitinas caracterizadas previamente.⁸⁹

El Mab-Env1 capturado y los genes *pol* asociados tienen algunas propiedades inusuales que podrían estar relacionadas con la lejanía de las especies en las que se descubrieron.

Aunque el gen Env se encuentra dentro de la familia de envolturas de tipo gamma, según el árbol filogenético y la presencia de un dominio inmunosupresor

(**Figura 11**) posee un motivo CX-C en la subunidad TM que no se encuentra clásicamente en tales envolturas, ya que normalmente poseen tres cisteínas en este motivo (CX 7-CC), lo que permite la formación del enlace no covalente SU-TM (**Figura 11**), mientras que se observa un motivo de dos cisteínas en los betaretrovirus y los lentivirus, en los que la SU y la TM no están asociadas de forma covalente⁹¹. El gen *pol* no codificante asociado muestra un dominio RT característico que se agrupa más estrechamente a los RT gammaretroviral, pero forma un clado hermano a todas las secuencias de gammaretroviral.

Esto sugiere que es un gammaretrovirus relacionado de forma remota o que pertenece a otra familia potencialmente desconocida. También es digno de mención que Mab-Env3 y Mab-Env4 (**Cuadro 3**) presentan características de las envolturas de gammatipos aviáres, lo que refuerza aún más la idea de que la lejanía de las especies investigadas debe revelar nuevas categorías de retrovirus endógenos.

Sincitina placentaria: disyunción genética entre la actividad fusogénica e inmunosupresora de las proteínas de la envoltura retroviral

El sincitiotrofoblasto, que es la principal barrera materno-fetal en contacto directo con la sangre materna, realiza las funciones esenciales de intercambio trófico entre la madre y el feto, junto con la secreción de hormonas y factores de crecimiento, el mantenimiento de la homeostasis y la inhibición necesaria de la respuesta inmune de la madre al alógeno³⁸. Se sabe poco sobre los mecanismos moleculares

implicados en la diferenciación intratrofoblástica. Sin embargo, se ha logrado un gran avance con la identificación de proteínas de envoltura (Env) codificadas por retrovirus endógenos (ERV) y probablemente involucradas en la formación del sincitiotrofoblasto⁶⁹. De hecho, los genomas humanos y murinos albergan miles de elementos ERV que muestran una estructura cercana a la de la forma proviral integrada de los retrovirus exógenos y que muy probablemente son signos de infecciones pasadas de la línea germinal por retrovirus ancestrales²⁸. Aunque la gran mayoría de estos elementos no son infectantes, algunos de ellos todavía contienen ORF intactos, en particular genes env. Durante el ciclo de vida retroviral, las glicoproteínas Env, que se anclan en la bicapa lipídica de las envolturas de la superficie viral, se involucran primero en el reconocimiento del receptor de la superficie celular y luego en la entrada de virus al conducir la fusión de la envoltura viral con la membrana celular. La expresión en la superficie celular de las proteínas Env en aislamiento puede desencadenar la fusión célula-célula siempre que sus receptores afines estén expuestos en la superficie de las células vecinas. Una búsqueda sistemática a través de la secuencia del genoma humano ha identificado 18 genes env codificantes, cuyos productos pueden tener potencialmente una función³⁸. Entre ellas, las proteínas sincitina-1 y -2 (**Cuadro 3**) se expresan de forma específica dentro de la placenta en la interfase citotrofoblasto-sincitiotrofoblasto y se ha informado que inducen la fusión entre células interactuando con distintos receptores. Se demostró que la sincitina-1 estaba directamente involucrada en la diferenciación y fusión de citotrofoblastos humanos en cultivos primarios³⁸. Además, la funcionalidad de estos dos genes se ha conservado en la evolución desde el momento de su inserción en el genoma de los primates. Es muy probable que el huésped haya cooptado estos genes de origen antirretroviral para su propio beneficio, más específicamente para la morfogénesis de sincitiotrofoblastos. Una segunda función hipotética de las sincitinas está relacionada con su actividad inmunosupresora (IS). Esta hipótesis se basa fundamentalmente en la presencia de un dominio conservado dentro de secuencias Env retrovirales en la subunidad transmembranal (TM).³⁸

La mayoría de los retrovirus exógenos inducen inmunodeficiencias en el hospedero infectado, caracterizadas por alta carga viral, por una disminución en el número de células CD4+ y por la presencia de infecciones oportunistas. En todos los casos, la carga viral se correlaciona con la progresión a la enfermedad^{92,93}. Se ha demostrado que las proteínas de la envoltura transmembrana (TM) de los retrovirus están involucradas en la inmunosupresión. Se ha demostrado que las proteínas TM purificadas suprimen las reacciones inmunitarias *in vivo* e *in vitro*. Además, se ha demostrado que los péptidos sintéticos correspondientes a un dominio altamente conservado de las proteínas TM de todos los retrovirus, el denominado dominio inmunosupresor (isu) modulan la expresión de citocinas y la proliferación desencadenada por mitógenos (**Cuadro 2**)

Cuadro 2 Efectos del dominio inmunosupresor de los retrovirus gamma⁵⁰

Efectos del dominio inmunosupresor de los retrovirus gamma:	
1	Inhibición de células NK, linfocitos T citotóxicos, lisis tumoral mediada por macrófagos, estallido de monocitos respiratorios, producción de inmunoglobulina, proliferación de células T dependientes de IL-2, proliferación de linfocitos estimulada por aloantígeno, factor regulador IFN inducido por interferón (IFN) (IRF) 1 expresión, hipersensibilidad de tipo retardado <i>in vivo</i> .
2	Regulación descendente de IFN-g (dependiente de IL-10), IL-2, factor de necrosis tumoral (TNF) -α, IL-12 (independiente de IL-10)
3	Regulación positiva de IL-4, IL-5, IL-6, IL-10 (4) Activación de monofosfato de adenosina cíclica intracelular (cAMP), cinasa 1 y 2 regulada por señal extracelular mediante ERK1 / 2 la fosfolipasa C (PLC 1) –proteína quinasa C (PKC) - fibrosarcoma acelerado rápidamente 1 (Raf1) - vía de la proteína quinasa / cinasa ERK (MEK) activada por mitógenos, MEK, PKCmu, Raf1, PLC

Usando un ensayo de rechazo de células tumorales⁹³ (**Cuadro 2**), se ha demostrado que la sincitina-1 no es inmunosupresora pero la sincitina-2 sí lo es³⁸; de manera similar, la sincitina-A murina no es inmunosupresora, mientras que la sincitina-B murina lo es³⁸. Usando mutantes de delección, se demostró que el dominio isu altamente conservado en la proteína TM es responsable del efecto inmunosupresor³⁸. Las mutaciones de aminoácidos específicos permitieron el

cambio de una sincitina no inmunosupresora a una sincitina inmunosupresora y viceversa. Este enfoque experimental también demostró que el efecto inmunosupresor no solo es local sino también generalizado, y no solo se inhibe la respuesta inmune celular contra el tumor, sino también la respuesta inmune de los humanos. Los ratones produjeron anticuerpos más específicos cuando se inmunizaron con la sincitina-1 no inmunosupresora en comparación con la sincitina-2 inmunosupresora³⁸.

Cuadro 3 Relación Sincitina-especie. Resumen realizado en base a la información citada en este trabajo ^{12,17,20,21,27,73,89}

Nombre, Origen retroviral	Especies	Orden/ Familia/ Subfamilia	Tipo de placenta	Tiempo de integración (millones de años)	Capacidad de fusión	Propiedades Inmunosupresoras.
Syncytin-1	humano	Primates	Hemocorial	25	Si	No
Syncytin-2	Humano	Primates	Hemocorial	>40	Si	Si
ERV3	Humano	Primates	Hemocorial		No	Si
EnvV1 syncytin	Monos del viejo mundo	Primates	Hemocorial	40	Si / no	
EnvV2 syncytin	Monos del viejo mundo	Primates	Hemocorial	45	Si / no	
Env-Cav1	Cuyo	Caviomorpha	Endoteliochorial	30	Si	
Syncytin-Rum1	Bovino	Ruminantia	Sinepiteliocorial	30	Si	Si
BERV-K1 (Fermatrin-1)	Bovino	Ruminantia	Sinepiteliocorial	20	Si	
bERVE	Bovino	Ruminantia	Sinepiteliocorial	Na		
BERV-P	Bovino	Ruminantia	Sinepiteliocorial	17		
enJSRV	Oveja	Caprinae	Sinepiteliocorial	7	Si	
Syncytin-A	Raton	Rodentia	Hemocorial	40	Si	No

Syncytin-B	Raton		Rodentia	Hemocorial	40	Si	Si
Syncytin-Car1	Perro y gato		Carnivora	Endoteliocorial	60-85		
Mar-1	Ardilla		Rodentia (Sciurida)		25	Si	
Syncytin-Opo1²	Zarigüeya		Marsupialis			Si	si
X⁴	Zarigüeya		Marsupialis		80	No	Si
Syncytin-Ten1	Erizo Tenrec		Afrosoricida Therecidae	hemocorial	40-60	Si	
Syncytin-Ory1	Conejo y liebre		Lagomorpha (Leptoridae)		12	Si	
¿??	Cerdo		Artiodactyla	Epiteliocorial		¿?	¿?

Otros factores retrovirales que influyen en la placentación: LTRS

La integración de retrovirus incluye también la de sus LTRs (repeticiones de terminal largas), en algunos casos la recombinación homóloga entre la LTR de un provirus genera una LTR en solitario⁹⁴. Cuando las LTR retrovirales se integran frente a los genes celulares, pueden regular su expresión. En este contexto, es importante mencionar que los genes placentarios como la pleiotropina^{XX 95} y la leptina^{XXI 96} están bajo la regulación de un promotor retroviral y muestran una expresión específica de trofoblasto. Esto indica que, a diferencia de la utilización de los genes de sincitina retroviral, que confiere una función específica, como la fusión celular, la utilización de LTR puede estar asociada con cambios en una red reguladora de genes⁹⁷. En resumen, estos datos demuestran que los retrovirus endógenos están mucho más involucrados en la evolución de la placenta de lo que se entiende actualmente.³⁷

^{XX}Pleiotropina: La pleiotrofina (PTN) es un factor de crecimiento polipeptídico de unión a heparina secretado con efectos mitogénicos y transformadores sobre los fibroblastos y la actividad del factor de crecimiento en células epiteliales y endoteliales.

^{XXI} Leptina: es una hormona que regula la eficiencia metabólica, el gasto de energía y la ingesta de alimentos. La leptina se produce principalmente en las células adiposas, pero en los humanos, el ARNm que codifica la leptina también está presente en la placenta. El mismo promotor se utiliza para la transcripción adiposa y placentaria.

Conclusión sobre la placentación y su relación con los RVE´s:

La función placentaria es un determinante importante del crecimiento fetal y, por lo tanto, también es una influencia clave en la salud de por vida. La capacidad de la placenta para transportar nutrientes al feto y regular el crecimiento fetal está determinada por las señales maternas y fetales. La manera en que la placenta responde a estas señales está sujeta a presiones selectivas evolutivas⁹⁸. La aparición de la placenta fue un paso importante en la evolución y los retrovirus endógenos han sido fundamentales para la evolución de los animales placentarios y el desarrollo de la viviparidad⁹⁹. Las propiedades fusogénicas e inmunosupresoras de los retrovirus endógenos son, evidentemente, la razón por la que nacimos.

Capítulo 4: Retrovirus endógenos como causantes de la cáscara azul en el huevo de ave.

Introducción:

Huevos azules - Hay tres razas de gallinas que ponen huevos azules: Ameraucanas, Araucanas y crema Legbars, esta característica se genera por la deposición de pigmento que penetra a través de la cáscara, a diferencia del pigmento marrón, por lo tanto los huevos son de color azul por dentro y por fuera. Se ha mapeado e identificado al gen oocyanin como responsable de este rasgo¹⁰⁰.

La coloración de la cáscara del huevo aviar es el resultado de un fenómeno biológico de cripsis^{XXII} y desempeña un importante papel en el filtrado de la radiación solar y el fortalecimiento de la cáscara del huevo¹⁰¹. El color azul de la cáscara del huevo se ha propuesto como señales de apareamiento de la calidad fenotípica femenina a sus parejas y se relaciona con la aptitud física de la descendencia debido al antioxidante de biliverdina, un pigmento predominante para los huevos azules^{102,103}. Las cáscaras azules se pueden encontrar en algunas aves como el pajar carpintero azul¹⁰⁰, piquero de patas azules¹⁰⁴, y papamoscas de varios colores¹⁰⁵, pero también en aves domésticas como la codorniz japonesa¹⁰⁶, pollos¹⁰⁷ y patos¹⁰⁸.

Razas donde se estudia el huevo azul:

Se han reportado varias razas de postura de huevos azules en todo el mundo^{109,110}. La araucana, una raza indígena de Chile (la gallina Mapuche o Araucana), fue la primera raza de pollo descrita para poner huevos azules¹⁰⁷, y se ha utilizado con frecuencia en estudios genéticos del fenotipo de cáscara de huevo azul.

^{XXII} En ecología, crypsis es la habilidad de un animal para evitar la observación o detección por otros animales. Puede ser una estrategia de depredación o una adaptación antipredadora. Los métodos incluyen camuflaje, nocturnidad, estilo de vida subterráneo y mimetismo.

En China, los pollos Dongxiang y Lushi son razas representativas que ponen huevos azules y muestran una herencia dominante como en Araucana. Sin embargo, el fenotipo de cáscara de huevo azul no se ha corregido en estas tres razas que todavía producen huevos marrones con baja frecuencia. El color azul de la cáscara del huevo muestra una herencia autosómica dominante y los huevos depositados por homocigotos son de un azul más oscuro que los de los heterocigotos. (**Figura 12**)



Figura 12: Colores de cáscara de huevo de gallinas Dongxiang con cáscara azul homocigótica (O * LC / O * LC), cáscara azul heterocigótica (O * LC / O * N) y cáscara marrón (O * N / O * N). Fotografía tomada del artículo “An EAV-HP Insertion in 59 Flanking Region of SLCO1B3 Causes Blue Eggshell in the Chicken” por: Zhepeng Wang

¿Por qué el color azul en los huevos?

El marrón y el blanco son los dos principales colores de cáscara de huevo en los pollos, siendo la protoporfirina-IX, la biliverdina y el quelato de zinc biliverdina son los pigmentos principales de la cáscara del huevo¹¹¹

Biliverdina

Es un pigmento importante en la cáscara de los pollos y otras especies aviares. La determinación del sitio de biosíntesis de biliverdina es esencial para entender el proceso bioquímico y las bases genéticas de la pigmentación de la cáscara de

huevo. La sangre o la glándula de la cáscara pueden ser el sitio de biosíntesis de la biliverdina de cáscara de huevo.¹⁰⁰

La población de segregación se encontró con el genotipo **Oo** y **oo**, que pusieron huevos de cáscara azul y huevos de color marrón claro, respectivamente, se construyó en una raza de pollo china nativa.

En el estudio realizado por R. Zhao, en el colegio de ciencia animal y tecnología de China, se utilizó espectrofotometría ultravioleta y la HPLC^{XXIII} para determinar la concentración de biliverdina en: cáscaras, sangre, bilis, heces y la glándula del cascaron de dos grupos de pollos.¹¹² Se obtuvieron resultados donde el contenido de biliverdina fue significativamente diferente entre las cáscaras de huevo de los pollos de cáscara azul y de cáscara marrón ($P < 0.01$), analizaron la sangre y la bilis de 3 a 4 h antes de la oviposición, y la excreta se analizó al azar. Los resultados no mostraron diferencias significativas en la concentración de biliverdina en sangre, bilis y excretas entre los dos grupos.

En la glándula de la cáscara, los contenidos de biliverdina para los pollos de cáscara azul y cáscara marrón fueron 8.25 ± 2.55 y 1.29 ± 0.12 nmol / g, respectivamente, que mostraron una diferencia significativa ($P < 0.01$), estos resultados demostraron que la sangre no es el sitio de biosíntesis de la biliverdina de la cascara de huevo: la biliverdina se sintetiza muy probablemente en la glándula de la cáscara y luego se deposita en la cáscara del huevo de los pollos.¹¹²

La genética dentro del cascaron

En 1933, Punnett informó por primera vez que el aspecto de la cáscara azul o verde del Araucana estaba determinado por un solo factor genético, tradicionalmente denominado **Oocyan (O)**¹⁰⁷. Se realizó una serie de análisis de vinculación con **O** que se mapearon positivamente en el brazo corto del cromosoma 1^{110,113-116}, y se vincularon estrechamente a *ev1* y *P*, que se identificaron como *SRY* (región determinante del sexo Y) -*box 5 (SOX5)* ^{110,113,116,117}. En la región alrededor de

^{XXIII} HPLC: Cromatografía líquida de alta resolución

ev1, dos polimorfismos de un solo nucleótido (*SNP*) (*rs15297163* y *rs15297165*) se encontraron altamente asociados con el fenotipo de cáscara de huevo azul ¹¹⁸, ¹¹⁹.

En un estudio más reciente, realizado por Zhepeng Wang en la universidad Agrícola de China, encontraron que el fenotipo de cáscara de huevo azul en pollos es causado por la integración de un retrovirus en la región flanqueante 5' del gen ***SLCO1B3***, codificante para un transportador de membrana y del gen *OATP1B3*, codificante para una proteína de transporte de compuestos orgánicos anfipáticos^{XXIV}, incluida la sal biliar en aves domésticas como la codorniz japonesa ¹⁰⁶, pollos¹⁰⁷ y patos ¹⁰⁸.

La cáscara azul del huevo es causada por una inserción del *EAV-HP* que promueve la expresión del gen ***SLCO1B3*** en el útero (glándula de la cáscara) del oviducto en el pollo. La ubicación del mapa genético del gen de la cáscara del huevo azul se refinó mediante el análisis del ligamiento en una población de pollos F, y cuatro genes candidatos dentro del intervalo refinado se analizaron posteriormente para determinar sus niveles de expresión en la glándula de la cáscara del útero de la cáscara azul y gallinas sin cáscara azul.

Se encontró que el gen ***SLCO1B3*** es el único expresado en el útero de las gallinas de cáscara azul, pero no en el de las gallinas sin este rasgo. Los resultados de un análisis de pirosecuenciación^{XXV} mostraron que solo el alelo de *SLCO1B3* de pollos de cáscara azul se expresaba en el útero de gallinas heterocigotas (*O * LC / O * N*). El gen *SLCO1B3* pertenece a la familia de polipéptidos transportadores de aniones orgánicos (*OATP*); y los *OATP*, que funcionan como transportadores de membrana, han sido informados para el transporte de compuestos orgánicos anfipáticos, incluida la sal biliar en mamíferos. Posteriormente, volvieron a secuenciar la región genómica completa de *SLCO1B3* y se descubrió una inserción del *EAV-HP* en la región flanqueante 5' de *SLCO1B3*. La inserción de este retrovirus endógeno se encontró estrechamente asociada con el fenotipo de cáscara de huevo azul después

^{XXIV} Anfipática: adj. Se dice de la molécula con grupos hidrófilos e hidrófobos, lo que la capacita para estar parcialmente diluida en agua o en disolventes orgánicos

^{XXV} Pirosecuenciación: tecnología que permite determinar una secuencia de DNA a gran escala, aplicable a genomas completos, mediante luminiscencia

de la completa segregación mendeliana. Ensayos de hibridación *in situ* también demostraron que la cáscara azul del huevo está asociada con la expresión ectópica de *SLCO1B3* en las glándulas de cáscara en el útero.¹²⁰

Todos los hallazgos experimentales sugieren firmemente que la inserción del retrovirus endógeno *EAV-HP* es la mutación causante del fenotipo de cáscara de huevo azul. La inserción también se encontró en otra raza china y una raza americana de cáscara azul. Además, se encontró que el sitio de inserción en los pollos de cáscara azul de Araucana es diferente al de las razas chinas, lo que implicó eventos de integración independiente en los pollos de cáscara azul de los dos continentes, proporcionando un ejemplo evolutivo paralelo a nivel molecular.¹⁰²

Capítulo 5: Asociación entre la inserción retroviral en el gen de la tirosinasa y la mutación blanca recesiva en pollos.

Gen de Tirosinasa (TYR)

En pollos, se han informado tres alelos mutantes en el locus C, incluida la mutación albina y la mutación blanca recesiva, que se caracteriza por el plumaje blanco y los ojos pigmentados. Se encontró que la mutación albina era una delección de 6 pb en el gen de la tirosinasa.¹²¹

En aves y mamíferos, la pigmentación de la pluma y el pelaje se determina principalmente por la distribución de los pigmentos de melanina, eumelanina (pigmento negro-marrón) y feomelanina (pigmento amarillo-rojo). La síntesis de ambos pigmentos depende de la tirosinasa, la enzima clave en la biogénesis de la melanina en las células pigmentarias, que cataliza la tirosina en los primeros dos pasos bioquímicos que dan como resultado la producción de dihidroxifenilalanina y dopaquinona¹²². La tirosinasa también cataliza el siguiente paso en la formación de eumelanina¹²³ con la deshidrogenación del ácido 5,6-dihidroxiindol-2-carbónico. Sin una función enzimática adecuada de la tirosinasa, la vía de síntesis de la melanina está bloqueada o incompleta y los animales exhiben un fenotipo albino.

En humanos y ratones, el locus C se ha definido genéticamente como el gen de la tirosinasa estructural. En pollos, se han reportado tres alelos mutantes en el locus C además del alelo de tipo salvaje (C * N), que es el alelo más dominante con pigmentación completa. Estas mutaciones son el ojo rojo (C * RE), el blanco recesivo (C * C) y el albino autosómico (C * A)¹²⁴. Todos dan un plumaje blanco, pero difieren según la pigmentación del ojo, que varía desde un color gris hasta un fenotipo albino totalmente no pigmentado^{125,126} (**Figura 13**). Además, los pollitos de un día pueden exhibir una ligera pigmentación en portadores homocigotos de la

mutación C * C. El blanco recesivo (C * C) es uno de los primeros rasgos que se estudiaron en genética de pollos¹²⁶, aplicando las reglas de Mendel a las familias segregadoras para los patrones de color de las plumas.



Figura 13 Comparación del color del plumaje en pollos de hermanos que difieren por su genotipo en el locus C. A la izquierda, un pollo que lleva el alelo de tipo salvaje en el locus C exhibe un plumaje de color según lo determinan otros loci de color de plumas. Aquí el animal porta el alelo de tipo salvaje en el locus de extensión, el alelo de tipo salvaje en el locus de Colombia y el alelo de plata en el locus de Silver. A la derecha, un pollo blanco recesivo, hermano completo del anterior, muestra un plumaje blanco completo. Fotografía tomada del estudio “Complete association between a retroviral insertion in the tyrosinase gene and the recessive white mutation in chickens”¹²¹

El fenotipo blanco recesivo es una característica de muchas razas, como Plymouth Rock, Wyandotte, Menorca, Orpington, Jersey Giant, Dorking, Langshan y Silky¹²⁶.

Inserción retroviral en el gen de la tirosinasa.

En febrero del 2006, Chung-Ming Chang publicó su investigación sobre la asociación completa entre una inserción retroviral en el gen de la tirosinasa y la mutación blanca recesiva en pollos, donde el análisis molecular mediante RFLP del gen *TYR* de pollo ha revelado una diferencia estructural importante^{xxvi} en el DNA

^{xxvi}Polimorfismo de Longitud de Fragmento de Restricción, RFLP: se refiere a secuencias específicas de nucleótidos en el ADN que son reconocidas y cortadas por las enzimas de restricción (también endonucleasas de restricción)

genómico recesivo del pollo blanco. Una gran diferencia de tamaño de 7,7 kb se encontró en el intrón 4 del gen *TYR*.¹²¹

La clonación molecular y los resultados de la secuenciación mostraron la inserción de una secuencia retroviral aviar completa de la familia del Virus de la Leucosis Aviar (ALV). Se encontró evidencia de transcripciones aberrantes del gen de la tirosinasa en pollos blancos recesivos de 10 semanas de edad, pero no en el pollo homocigótico de color natural.

Los portadores homocigotos de esta inserción tienen un plumaje blanco en varias cepas de pollo, es posible distinguir portadores heterocigotos de pollos normales homocigotos en una línea de segregación.¹²¹

Con base en diferentes investigaciones,^{121,127} la conclusión de que la inserción de una secuencia retroviral aviar completa en el intrón 4 del gen de la tirosinasa es indicativa de la mutación blanca recesiva en pollos.

Esta inserción causa transcripciones aberrantes que carecen del exón 5, y se propone que esta inserción es la mutación causal del alelo blanco recesivo en el pollo de color blanco.¹²¹

Capítulo 6: Asociación del retrovirus HERV-K18 con diabetes tipo 1a

La diabetes tipo 1

La diabetes mellitus dependiente de insulina es una enfermedad autoinmune mediada por células T cuyo inicio se cree que se desencadena por factores ambientales que actúan sobre un fondo genético predisponente ¹²⁸. Es una enfermedad crónica en la que las células T autorreactivas y la inflamación causan una pérdida severa de células beta pancreáticas. La insulinitis, el sello patológico de la diabetes Tipo 1, es una lesión inflamatoria que consiste en infiltrados de células inmunitarias alrededor y dentro de los islotes. ¹²⁹

Los genes y mecanismos implicados en enfermedades complejas comunes, como los trastornos autoinmunes que afectan a aproximadamente el 5% de la población, permanecen en su mayoría ocultos, múltiples genes contribuyen al agrupamiento familiar de la enfermedad, siendo el más importante el complejo principal de histocompatibilidad¹³⁰. Aunque se ha descubierto el locus principal en el cromosoma 6p21 y otros loci que se han asociado con la susceptibilidad a la enfermedad, incluido el gen de la insulina y el gen *CTLA4* de inhibición de células T¹³¹ aún no tiene un resultado definitivo en cuanto a su función.¹³²

Retrovirus endógeno humano K-18 (HERV-K18)

Existe una propuesta fuerte¹³² para asumir la participación del *HERV-K18* en la etiología de la diabetes tipo 1. La integración del HERV-K18 en el genoma induce la inclusión del gen *CTLA 4* que alenta la aparición del superantígeno de células T reactivas. La transcripción *CTLA 4* y la función del super antígeno en células capaces de una presentación eficiente son inducidas por estímulos proinflamatorios^{133,134} con potencial inmunopatológico, la expresión del RNAm del

HERV-K18 se ve mejorada en la inflamación y lesiones de pacientes con diabetes tipo 1 de inicio reciente¹³⁵.

La expresión del superantígeno inducido en células presentadoras de antígeno extrapancreáticas, conduce a la destrucción de las células B a través de la activación sistémica de las células T autorreactivas. El super antígeno ¹³⁶ e interferón α ¹³⁷ pueden provocar un avance agudo de la enfermedad dando como resultado una insulinitis. ¹²⁹ En conclusión, la variación alélica del HERV o el DNA que lo flanquea, el gen CD48, podría ser la respuesta sobre la modulación a la susceptibilidad genética.¹³⁸

Conclusión

Con base a la información que a lo largo de esta tesis se recopiló, podemos concluir con una reflexión sobre el origen de la vida, los virus son las entidades genéticas más numerosas y diversas en la tierra y con sus propiedades infecciosas que les permiten propagarse horizontalmente entre individuos y entre especies, muchos también pueden formar parte del material genético como se explicó en esta tesis. Como pudimos leer en el capítulo 3, numerosos RNA derivados de retrovirus endógenos (ERV) se expresaron en las estructuras reproductivas de mamíferos, específicamente en el útero, trofoblasto y placenta. De esta forma se logró codificar a la sincitina la cual es una proteína de membrana que se originan en los genes Env, de los ERV. Estos ERV están involucrados en la fusión de las células del trofoblasto, lo que resulta en la formación de sincitiotrofoblasto multinucleado. Lo que indica que las proteínas fusogénicas similares a la sincitina que se expresan en la placenta de conejos, perros, gatos, ungulados (como los rumiantes), tenreos, zarigüeyas, entre otros.

Múltiples variantes sucesivas de ERV "asumen" roles de fusión celular, lo que resulta en una mayor fusión de células trofoblasto, variaciones morfológicas en las estructuras placentarias y un mayor éxito reproductivo en los mamíferos placentarios, por lo que sí, la función placentaria es un determinante importante del crecimiento fetal y, por lo tanto, también es una influencia clave en la salud del individuo. La manera en que la placenta responde a las señales está sujeta a presiones selectivas evolutivas⁹⁸. La aparición de la placenta fue un paso importante en la evolución y los retrovirus endógenos han sido fundamentales para la evolución de los animales placentarios y el desarrollo de la viviparidad⁹⁹. Las propiedades fusogénicas e inmunosupresoras de los retrovirus endógenos son, evidentemente, la razón por la que nacimos.

Aves:

La coloración azul en el cascaron de algunas aves de producción.

La cáscara de huevo azul es un evento poco conocido que se da en gallinas de las razas: Ameraucanas, Araucanas y Legbars. Esta característica sucede gracias a la inserción de un retrovirus “EAV-HP” que promueve la expresión del gen *SLCO1B3* en el útero y oviducto de las gallinas. En esta revisión se encontró que el gen *SLCO1B3* era expresado en el útero de las gallinas de capa azul. Los resultados de un análisis de pirosecuenciación del cual basamos esta revisión mostraron que solo el alelo de *SLCO1B3* de pollos con cáscara azul se expresó en el útero de gallinas heterocigotas. El gen *SLCO1B3* pertenece a la familia del polipéptido transportador de aniones orgánicos (OATP); y los OATP, que funcionan como transportadores de membrana, se han informado para el transporte de compuestos orgánicos anfipáticos, incluida la sal biliar en mamíferos. La inserción de EAV-HP se encontró estrechamente asociada con el fenotipo de cáscara de huevo azul después de la segregación mendeliana completa. La cáscara de huevo azul está asociada con la expresión ectópica de *SLCO1B3* en las glándulas del útero. Lo que sugiere fuertemente que la inserción de EAV-HP es la mutación causante del fenotipo de cáscara de huevo azul. La inserción también se encontró en otra raza china con cáscara azul y una raza americana de cáscara azul. Además el sitio de inserción en los pollos con cáscara azul de Araucana es diferente del de las razas chinas, lo que implica eventos de integración independientes en los pollos con cáscara azul de los dos continentes, proporcionando un ejemplo evolutivo paralelo a nivel molécula.

También en aves, se han informado sobre tres alelos mutantes en el locus C, incluida la mutación albina y la mutación blanca recesiva, que se caracteriza por un plumaje blanco y ojos pigmentados. Se encontró que la mutación albina era una deleción de 6 pb en el gen de la tirosinasa (*TYR*). La inserción de una secuencia retroviral aviar completa de la familia del virus de la leucosis aviar (*ALV*), se encontraron varias transcripciones aberrantes del gen de la tirosinasa en pollos blancos recesivos, pero no en el pollo homocigoto de color. Por lo que la inserción de una secuencia retroviral aviar completa en el intrón 4 del gen de la tirosinasa es

causante de la mutación blanca recesiva en pollos. Esta inserción provoca transcripciones aberrantes que carecen del exón 5, y esta inserción es la mutación causal del alelo blanco recesivo en el pollo.

Por último, esta revisión habla sobre varias líneas de evidencia sugieren que la participación del retrovirus endógeno humano (HERV) -K18 en la etiología de la diabetes tipo 1. HERV-K18 codifica para un superantígeno de células T (SAg). Las células T con cadenas V β 7 del receptor de células T reactivas al RNAm de SAg y HERV-K18 se enriquecieron en los tejidos al inicio de la enfermedad. La transcripción de HERV-K18 y la función SAg en células capaces de presentación eficiente son inducidas por estímulos proinflamatorios como virus e interferón, y pueden desencadenar la progresión de la enfermedad a insulinitis o de insulinitis a diabetes manifiesta. La variación alélica de HERV-K18 o el ADN que lo flanquea, el gen CD48, podría modular la susceptibilidad genética.

En México no existen estudios sobre este tema, tampoco se conoce la función y/o interrelación con otras enfermedades del mismo origen viral. Este trabajo podría abrir una ventana a la información dando el primer paso con información en español, siendo así de fácil acceso y pudiendo abrir la curiosidad a la investigación de estos temas.

Referencias:

1. Dubovi, E. J. & Maclachlan, J. N. *Fenner's Veterinary Virology*. *Fenner's Veterinary Virology* (Elsevier, 2011). doi:10.1016/B978-0-12-375158-4.00007-9
2. Guadalupe Carballal, J. R. O. *Virología Médica*. (Corpus, 2014).
3. Sentís, C. Retrovirus endógenos humanos: Significado biológico e implicaciones evolutivas. *Arbor* **172**, 135–166 (2002).
4. Eberhard Passarge, M. *Genética. Texto y Atlas*. (Médica Panamericana S.A, 2004).
5. Pothier, P. Viral replication. *Rev. Prat.* **47**, 610–617 (1997).
6. Tardáguilla-Sancho, H. G.-B. y M. *El ADN basura, la materia oscura de nuestro genoma*. (National Geographic, 2017).
7. Patience, C, Wilkinson, D. A. y Weiss, R. Our retroviral heritage. *Trends Genet.* **13**, 116–120 (1997).
8. Benjamin A. Pierce. *Genética: Un enfoque conceptual*. (Ed. Médica Panamericana, 2009, 2010).
9. Lavialle, C. *et al.* Paleovirology of “syncytins”, retroviral env genes exapted for a role in placentation. *Philos. Trans. R. Soc. B Biol. Sci.* **368**, 20120507–20120507 (2013).
10. Cann, A. J. & Cann, A. J. *Principios de Virología Molecular*. (Editorial ACRIBIA, S.A., 2005).
11. Martínez, M. A. *Retrovirus Endógenos en Felinos*. (Universidad Nacional Autónoma de México., 2017).
12. Nakaya, Y., Koshi, K., Nakagawa, S., Hashizume, K. & Miyazawa, T. Fematrin-1 Is Involved in Fetomaternal Cell-to-Cell Fusion in Bovinae Placenta and Has Contributed to Diversity of Ruminant Placentation. *J. Virol.* **87**, 10563–10572 (2013).
13. Garcia-Etxebarria, K. & Jugo, B. M. Detection and characterization of endogenous retroviruses in the horse genome by in silico analysis. *Virology* **434**, 59–67 (2012).
14. Mahy, B. W. J. & Regenmortel, M. H. V. van. *Desk Encyclopedia Animal and Bacterial Virology | I.* (2009).
15. Breitbart, M. & Rohwer, F. Here a virus, there a virus, everywhere the same virus? *Trends Microbiol* **13**, 278–284 (2005).
16. del Carmen Sánchez Mora, M. & Gutiérrez, R. R. El origen de las especies. en *¿Cómo ves?*

- 117–136 (2018). doi:10.2307/j.ctv1xxttb.10
17. Cornelis, G. *et al.* Captured retroviral envelope syncytin gene associated with the unique placental structure of higher ruminants. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **110**, E828–E837 (2013).
 18. Villesen, P., Aagaard, L., Wiuf, C. & Pedersen, F. S. Identification of endogenous retroviral reading frames in the human genome. *Retrovirology* **1**, 1–13 (2004).
 19. Barbulescu, M. *et al.* Many human endogenous retrovirus K (HERV-K) proviruses are unique to humans. *Curr. Biol.* **9**, 861–868 (1999).
 20. Hughes, J. F. & Coffin, J. M. Evidence for genomic rearrangements mediated by human endogenous retroviruses during primate evolution. *Nat. Genet.* **29**, 487–489 (2001).
 21. Katzourakis, A. & Gifford, R. J. Endogenous viral elements in animal genomes. *PLoS Genet.* **6**, (2010).
 22. Sinkovics, J. G. The place of viruses in the «tree of life». *Acta Microbiol, Immunol. Hung.* **41**, 115-127. (2001).
 23. Villareal, L. P. y Defilippis, V. R. A hypothesis for DNA viruses as the origin of eukaryotic replication proteins. *J. Virol.* **74**, 7079–7084 (2000).
 24. Benveniste, R. E. & Todaro, G. J. Evolution of C-type viral genes: Inheritance of exogenously acquired viral genes. *Nature* **252**, 456–459 (1974).
 25. Kubo, Y., Kakimi, K., Higo, K., Kobayashi, H., Ohno, T., Iwama, Y., Kuribayashi, K. & Hiai, H., Adachi, A. y Ishimoto, A. Possible origin of murine AIDS (MAIDS) virus: conversion of an endogenous retroviral p 12gag sequence to a MAID S-inducing sequence by framshift mutations. *Virology* **70**, 6405-6409. (1996).
 26. Gifford, R. & Tristem, M. The evolution, distribution and diversity of endogenous retroviruses. *Virus Genes* **26**, 291–315 (2003).
 27. Dupressoir, A., Lavalie, C. & Heidmann, T. From ancestral infectious retroviruses to bona fide cellular genes: Role of the captured syncytins in placentation. *Placenta* **33**, 663–671 (2012).
 28. Martin, M. A., Bryan, T., Rasheed, S. & Khan, A. S. Identification and cloning of endogenous retroviral sequences present in human DNA. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **78**, 4892–6 (1981).
 29. Rosenberg, N. & Jolicoeur, P. in. A personal account of the history of ERV discovery by one of the main players in the field. *Retroviruses* (eds Coffin, J. M., Hughes, S. H. Varmus, H. E.)

Cold Sprin, 475–585 (1997).

30. Medstrand, P. & Blomberg, J. Characterization of novel reverse transcriptase encoding human endogenous retroviral sequences similar to type A and type B retroviruses: differential transcription in normal human tissues. *J. Virol.* **67**, 6778–6787 (1993).
31. Mc Allister, R. M. *et al.* C-type virus released from cultured human rhabdomyosarcoma cells. *Nat. New Biol.* **235**, 3–6 (1972).
32. Stoye, J. P. Studies of endogenous retroviruses reveal a continuing evolutionary saga. *Nat. Rev. Microbiol.* **10**, 395–406 (2012).
33. E. S. Lander *et al.* Initial sequencing and analysis of the human genome. **409**, (2001).
34. Lerat, E. Identifying repeats and transposable elements in sequenced genomes: How to find your way through the dense forest of programs. *Heredity (Edinb)*. **104**, 520–533 (2010).
35. Fernández, V. D. G. Detección en México del virus de inmunodeficiencia felina mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR). *Tesis para obtener el título Médico Vet. Zootec.* **1**, 68 (2015).
36. Weiss, R. A. The discovery of endogenous retroviruses. *Retrovirology* **3**, 1–11 (2006).
37. Ono, M. Molecular cloning and long terminal repeat sequences of human endogenous retrovirus genes related to types A and B retrovirus genes. *J. Virol.* **58**, 937–944 (1986).
38. Mangeney, M. *et al.* Placental syncytins: Genetic disjunction between the fusogenic and immunosuppressive activity of retroviral envelope proteins. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **104**, 20534–20539 (2007).
39. Feschotte, C. & Gilbert, C. Endogenous viruses: Insights into viral evolution and impact on host biology. *Nat. Rev. Genet.* **13**, 283–296 (2012).
40. Attig, J., Young, G. R., Stoye, J. P. & Kassiotis, G. Physiological and pathological transcriptional activation of endogenous retroelements assessed by RNA-sequencing of B lymphocytes. *Front. Microbiol.* **8**, 1–11 (2017).
41. SCHON, U., SEIFARTH, W., BAUST, C., HOHENADL, C., ERFLE, V. y LEIB-MOSCH, C. Cell type-specific expression and promoter activity of human endogenous retroviral long terminal repeats. *Virology* **279**, 280–291 (2001).
42. Blond, J. L., Lavillette, D., Cheynet, V., Bouton, O., Oriol, G., C.-F. & S., Mandrand, B., Mallet, F. y Cosset, F. L. An envelope glycoprotein of the human endogenous retrovirus HERV-W is expressed in the human placenta and fus- es cells expressing the type D

- mammalian retrovirus receptor. *Virology* **74**, 651–655 (2000).
43. Mi, S., Lee, X., Li, X., Veldman, G. M., Finnerty, H., Racie, L., Lavallie, E., Tang, X. Y. & Edouard, P., Howes, S., Keith, J. C. y Mccoy, J. M. Syncytin is a captive retroviral envelope protein involved in human placental morphogenesis. *Nature* **403**, 785–789 (2000).
 44. Linderskog, M. y Blomberg, J. Spliced human endogenous retroviral HERV-H env transcripts in T-cell leukaemia cell lines and normal leukocytes: alternative splicing pattern of HERV-H transcripts. *Virology* **78**, 2575–2585 (1997).
 45. Voisset, C, Bouton, O., Bedin, F., Duret, L., Mandrand, B., Mallet, F. y Paranhos-Bacala, G. Chromosomal distribution and coding capacity of the human endogenous retrovirus HERV-W family. *AIDS Res. Hum. Retroviruses* (eds Coffin, J. M., Hughes, S. H. Varmus, H. E.) **16**, 731–740 (2000).
 46. Lonergan, T. A. M.-P. J. Q.-E. S. F.-M. T. R.-D. K.-P. *Veterinary Embryology*. (wiley backly, 1998).
 47. Vargas Prado, M. E. Tema 03 Desarrollo Y Fisiología Placentaria. *Obstet. I* 2016–1 (2016).
 48. Furukawa S, Kuroda Y, S. A. A comparison of the histological structure of the placenta in experimental animals. *J Toxicol Pathol* **27**, 11–18 (2014).
 49. King, B.F. & Mossman, H. W. The fetal membranes and unusual giant cell placenta of the jerboa (*Jaculus*) and jumping mouse (*Zapus*). *Am. J. Anat.* **140**, 405–431 (1974).
 50. Denner, J. The transmembrane proteins contribute to immunodeficiencies induced by HIV-1 and other retroviruses. *Aids* **28**, 1081–1090 (2014).
 51. Dupressoir, A. *et al.* Syncytin-A and syncytin-B, two fusogenic placenta-specific murine envelope genes of retroviral origin conserved in Muridae. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **102**, 725–730 (2005).
 52. Pfarrer, C., Winther, H., Leiser, R. & Dantzer, V. The development of the endotheliochorial mink placenta: light microscopy and scanning electron microscopical morphometry of maternal vascular casts. *Anat. Embryol. (Berl)* **199**, 63–74 (1999).
 53. Dupressoir, A. *et al.* Syncytin-A knockout mice demonstrate the critical role in placentation of a fusogenic, endogenous retrovirus-derived, envelope gene. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **106**, 12127–12132 (2009).
 54. Chamley LW, Holland OJ, Chen Q, V. C. & Stone PR, Abumaree M, *et al.* Review: where is the maternofetal interface? *Placenta* **35**, S74-80 (2014).

55. Furukawa S, Kuroda Y, S. A. A comparison of the histological structure of the placenta in experimental animals. *J Toxicol Pathol* **27**, 8–11 (2014).
56. Carlos Galina, J. V. *Reproducción de animales domésticos*. (Limusa, 2012).
57. Cornelis G, Vernochet C, Carradec Q, S. S. & Mulot B, Catzeflis F, et al. Retroviral envelope gene captures and syncytin exaptation for placentation in marsupials. *Proc Natl Acad Sci USA* **112**, E:487-96 (2015).
58. Bischof, P. & Irminger-Finger, I. The human cytotrophoblastic cell, a mononuclear chameleon. *Biochem Cell Bio* **37**, 1–16 (2005).
59. Moffett, A. & Loke, C. Immunology of placentation in eutherian mammals. *Nat. Rev. Immunol* **6**, 584–594 (2006).
60. Bhiwgade, D.A., Singh, A.B., Manekar, A.P. & Menon, S. N. Ultrastructural development of chorioallantoic placenta in the Indian Miniopterus bat, *Miniopterus schreibersii fuliginosus* (Hodgson). en *Acta Anat* 248–264 (1992).
61. Wooding, F. . Role of binucleate cells in fetomaternal cell fusion at implantation in the sheep. *Am. J. Anat.* **170**, 233–250 (1984).
62. Hoffman, L.H. & Wooding, F. B. Giant and binucleate trophoblast cells of mammals. *J. Exp. Zool.* **266**, 559–577 (1993).
63. Oduor-Okelo, D., Musewe, V.O. & Gombe, S. Electron microscopic study of the chorioallantoic placenta of the rock hyrax (*Heterohyrax brucei*). *J. Reprod. Fertil.* **68**, 311–316 (1983).
64. Crocker, I.P., Arthur, P., Heazell, A.E. & Baker, P. N. The mitotic manipulation of cytotrophoblast differentiation in vitro. *Placenta* **28**, 408–411 (2007).
65. Imakawa, K., Nakagawa, S. & Miyazawa, T. Baton pass hypothesis: Successive incorporation of unconserved endogenous retroviral genes for placentation during mammalian evolution. *Genes to Cells* **20**, 771–788 (2015).
66. Chinwalla, A.T., Cook, L.L., Delehaunty, K.D., et al. Initial sequencing and comparative analysis of the mouse genome. *Nature* **429**, 520–562 (2002).
67. Blaise, S., de Parseval, N. & Heidmann, T. Functional characterization of two newly identified Human Endogenous Retrovirus coding envelope genes. *Retrovirology* **2**, 19 (2005).
68. de Parseval, N., Lazar, V., Casella, J.F., Benit, L. & H. & T. Survey of human genes of

- retroviral origin: identification and transcriptome of the genes with coding capacity for complete envelope proteins. *J. Virol.* **77**, 10414–10422 (2003).
69. Nakaya, Y. & Miyazawa, T. The roles of syncytin-like proteins in ruminant placentation. *Viruses* **7**, 2928–2942 (2015).
 70. Spencer TE, Johnson GA, Bazer FW, B. & RC, P. M. Pregnancy recognition and conceptus implantation in domestic ruminants: roles of progesterone, interferons and endogenous retroviruses. *Reprod Fertil Dev* **19**, 64–78 (2007).
 71. Dunlap KA, Palmarini M, Varela M, B. & RC, Hayashi K, Farmer JL, et al. Endogenous retroviruses regulate periimplantation placental growth and differentiation. *Proc Natl Acad Sci* **65**, 3422–32 (2006).
 72. Murcia PR, Arnaud F, P. M. The transdominant endogenous retrovirus enJS56A1 associates with and blocks intracellular trafficking of Jaagsiekte sheep retrovirus Gag. *Virology* **81**, 1762–72 (2007).
 73. Cornelis, G. et al. Ancestral capture of syncytin-Car1, a fusogenic endogenous retroviral envelope gene involved in placentation and conserved in Carnivora. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **109**, E432–E441 (2012).
 74. Denner, J. Expression and function of endogenous retroviruses in the placenta. 31–43 (2016). doi:10.1111/apm.12474
 75. Anderson JW. Ultrastructure of the placenta and fetal membranes of the dog. I. The placental labyrinth. *Anat. Rec* **165**, 15–35 (1969).
 76. Leiser R, K. B. Development and characteristics of placentation in a carnivore, the domestic cat. *J Exp Zool* **266**, 642–656 (1993).
 77. Wooding P, B. G. Endotheliochorial Placentation: Cat, Dog, Bat. Comparative Placentation: Structures, Functions and Evolution. en *Functions and Evolution* 169–184 (2008).
 78. Cornelis G, Vernochet C, Carradec Q, S. S. & Mulot B, Catzeflis F, et al. Retroviral envelope gene captures and syncytin exaptation for placentation in marsupials. *Proc Natl Acad Sci USA* **112**, E487-96 (2015).
 79. Denner J, Mihica D, Kaulitz D, S. C. Increased titers of neutralizing antibodies after immunization with both envelope proteins of the porcine endogenous retroviruses (PERVs). *Virology* **9**, 260 (2012).
 80. Fiebig U, Stephan O, Kurth R, D. J. Neutralizing antibodies against conserved domains of p15E of porcine endogenous retroviruses: basis for a vaccine for xenotransplantation?

- Virology* **307**, 406–13 (2003).
81. Kaulitz D, Fiebig U, Eschricht M, W. C. & Kurth R, D. J. Generation of neutralising antibodies against porcine endogenous retroviruses (PERVs). *Virology* **411**, 78–86 (2011).
 82. Waechter A, Eschricht M, D. J. Neutralization of porcine endogenous retrovirus by antibodies against the membrane-proximal external region of the transmembrane envelope protein. *J Gen virol* **94**, pt **3**, 643–51 (2013).
 83. Keller M, Petersen B, Niemann H, D. J. Lack of antibody response in pigs immunized with the transmembrane envelope protein of porcine endogenous retroviruses. *J Gen Virol* **95** pt **8**, 1827–31 (2014).
 84. García, E. V. *Placentación en la lagartija mexicana Plestiodon brevirostris*(Squamata: Scincidae). *Tesis para obtener el título de Biólogo*. (Universidad Nacional Autónoma de México., 2014).
 85. Zhao R, Guerra A, Tang H, Z. Z. Cell surface glycoprotein PZR is a major mediator of concanavalin A-induced cell signaling. *J Biol Chem* **277**, 7882–7888 (2002).
 86. Zannettino AC, et al. Novel mesenchymal and haematopoietic cell isoforms of the SHP-2 docking receptor, PZR: Identification, molecular cloning and effects on cell migration. *Biochem J* **370**, 537–549 (2003).
 87. Jia D, et al. Amplification of MPZL1/PZR promotes tumor cell migration through Src-mediated phosphorylation of cortactin in hepatocellular carcinoma. *Cell* **24**, 204–217 (2014).
 88. Cornelis, G. *et al.* An endogenous retroviral envelope syncytin and its cognate receptor identified in the viviparous placental *Mabuya* lizard. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 201714590 (2017). doi:10.1073/pnas.1714590114
 89. Wooding FBP, Ramirez-Pinilla MP, F. A. Functional studies of the placenta of the lizard *Mabuya* sp. (Scincidae) using immunocytochemistry. *Placenta* **31**, 675–685 (2010).
 90. Pereira AG, S. C. Arrival and diversification of mabuyine skinks (Squamata: Scincidae) in the Neotropics based on a fossil-calibrated timetree. *PeerJ* **5**: e3194., (2017).
 91. Henzy JE, J. W. Pushing the endogenous envelope. *Philos Trans R Soc Lond B. Biol Sci* **368**, (2013).
 92. Denner, J. Immunosuppression by retroviruses: implications for xenotransplantation. *Ann N Y Acad Sci* **862**, 75–86 (1998).
 93. Denner, J. How does HIV induce AIDS? The virus protein hypothesis. *J Hum Virol* **3**, 81–2

- (2003).
94. Belshaw R, Watson J, Katzourakis A, H. A. & Woolven-Allen J, Burt A, et al. Rate of recombinational deletion among human endogenous retroviruses. *Virology* **81**, 42 (2007).
 95. Schulte AM, Lai S, Kurtz A, Czubayko F, R. & AT, W. A. Human trophoblast and choriocarcinoma expression of the growth factor pleiotrophin attributable to germ-line insertion of an endogenous retrovirus. *Proc Natl Acad Sci USA* **93**, 64 (1996).
 96. Bi S, Gavrilova O, Gong DW, Mason MM, R. & M. Identification of a placental enhancer for the human leptin gene. *J Biol Chem* **272**, 8 (1997).
 97. E, C. Retroviruses facilitate the rapid evolution of the mammalian placenta. *BioEssays* **35**, 61 (2013).
 98. Lewis RM, Cleal JK, H. M. Review: placenta, evolution and lifelong health. *Placenta* **26**, 32 (2012).
 99. Muir A, Lever A, M. A. Expression and functions of human endogenous retroviruses in the placenta: an update. *Placenta* **25**, 16–25 (2004).
 100. Siefferman L, Navara KJ, H. G. Egg coloration is correlated with female condition in eastern bluebirds (*Sialia sialis*). en *Behav Ecol Sociobiol* 59: 651-656 (2006).
 101. Underwood TJ, S. S. Adaptive significance of egg coloration. en *Avian Incubation: Behaviour, Environment and Evolution* (ed. DC, I. D.) 280–298 (202d. C.).
 102. Moreno J, O. J. Avian egg colour and sexual selection: Does eggshell pigmentation reflect female condition and genetic quality? en *Ecol Lett* 6 803–806 (2003).
 103. Morales J, Sanz JJ, M. J. *Egg colour reflects the amount of yolk maternal antibodies and fledging success in a songbird.* (2006).
 104. Morales J, Torres R, V. A. Parental conflict and blue egg coloration in a seabird. *Naturwissenschaften* 97: 173-180 (2010).
 105. Moreno J, Morales J, Lobato E, Merino S, Toma's G, et al. Evidence for the signaling function of egg color in the pied flycatcher. *Behav Ecol* 16 931–937 (2005).
 106. Ito S, Tsudzuki M, Komori M, M. M. Celadon: An eggshell color mutation in Japanese quail. *J Hered* 84 145–147 (1993).
 107. Punnett RC. Genetic study in poultry-IX. en *The blue egg.* *Genetics* 465–470 (1933).
 108. Wang CT, Wan TC, Pan CM, C. Y. Comparisons of physicalchemical properties and

- alkalizing process between greenish and whitish eggs of Brown Tsaiya duck. en *Chin Agri Chem Soc* 263–272 (1997).
109. Kennedy GY, V. H. Eggshell pigments of the Araucano fowl. en *Comp Biochem Physiol B* 11–25 (1973).
 110. Bruckner JH, H. F. Linkage of Pea Comb and Blue Egg in the Fowl. *Science* 88 (1939).
 111. Lang MR, W. J. A review of eggshell pigmentation. *World Poult Sci J* **43**, 238–245 (1987).
 112. Zhao, R., Xu, G. Y., Liu, Z. Z., Li, J. Y. & Yang, N. A study on eggshell pigmentation: Biliverdin in blue-shelled chickens. *Poult. Sci.* **85**, 546–549 (2006).
 113. Bitgood JJ, Shoffner RN, Otis JS, B. W. Mapping of the genes for pea comb, blue egg, barring, silver, and blood groups A, E, H, and P in the domestic fowl. *Poult Sci* **59**, 1686–1693 (1980).
 114. Bitgood JJ, Otis JS, S. R. Refined linkage value for comb and blue Egg: lack of effect of pea comb, blue egg, and naked on age at first egg in the domestic fowl. *Poult. Sci.* **62**, 235–238 (1983).
 115. Bitgood JJ, Briles RW, B. W. Further tests for genetic linkages of three morphological traits, three blood groups, and break points of two chromosome translocations on chromosome one in the chicken. *Poult. Sci.* **79**, 293–295 (2000).
 116. Bartlet JR, Jones CP, S. E. Linkage analysis of endogenous viral element 1, blue eggshell, and pea comb loci in chickens. *J Hered* **87**, 67–70 (1996).
 117. Wright D, Boije H, Meadows JR, Bed'hom B, Gourichon D, et al. Copy number variation in intron 1 of SOX5 causes the Pea-comb phenotype in chickens. *PLoS Genet* 5: e1000512 (2009).
 118. Zhao R, Liu ZZ, Xu GY, Y. N. *Analysis of SNP markers for chicken blue-shelled gene using PCR-SSCP.* (2007).
 119. Wragg D, Mwacharo JM, Alcalde JA, Hocking PM, H. O. Analysis of genome-wide structure, diversity and fine mapping of Mendelian traits in traditional and village chickens. *Heredity (Edinb)*. **109**, 6–18 (2012).
 120. Wang, Z. et al. An EAV-HP Insertion in 5' Flanking Region of SLCO1B3 Causes Blue Eggshell in the Chicken. *PLoS Genet.* **9**, (2013).
 121. Chang, C. M. et al. Complete association between a retroviral insertion in the tyrosinase gene and the recessive white mutation in chickens. *BMC Genomics* **7**, 1–15 (2006).

122. Lerner AB, F. T. Biochemistry of melanin formation. *Physiol Rev* **30**, 91–126 (1950).
123. Korner A, P. J. Mammalian tyrosinase catalyzes three reactions in the biosynthesis of melanin. *Science (80-)*. **217**, 1163–1165 (1982).
124. Smyth JR Jr, Ring NM, B. J. A fourth allele at the C- locus of the chicken. *Poult. Sci.* **1986** **65**, 29 (1986).
125. Brumbaugh JA, Bargar TW, O. W. A “new” allele at the C pigment locus in the fowl. *J. Hered.* **74**, 331–336 (1983).
126. Jr, S. J. Chapter 5. Genetics of plumage, skin and eye pigmentation in chickens. en *In Poultry Breeding and Genetics* (ed. Amsterdam, C. R.) 109–168 (1990).
127. Tobita-Teramoto T, Jang GY, Kino K, Salter DW, Brumbaugh J, A. & T. Autosomal albino chicken mutation (*ca/ca*) deletes hexanucleotide (-deltaGACTGG817) at a copper-binding site of the tyrosinase gene. *Poult Sci* **79**, 46–50 (2000).
128. JA, T. From genome to aetiology in a multifactorial disease, type 1 diabetes. *Bioessays* 164–174 (1999).
129. Pugliese, A. Insulinitis in the pathogenesis of type 1 diabetes. *Pediatr. Diabetes* **17**, 31–36 (2016).
130. Steinman, L. Escape from “horror autotoxicus”: pathogenesis and treatment of autoimmune disease. *Cell* **80**, 7–10 (1995).
131. Ueda H, Howson JM, Esposito L, Heward J, Snook H, C. G. *et al.* Association of the T-cell regulatory gene CTLA4 with susceptibility to autoimmune disease. *Nature* **423**, 506–511 (2003).
132. Conrad B, Weidmann E, Trucco G, Rudert WA, Behboo R, R. C. & Rodriguez-Rilo H, Finegold D, T. M. Evidence for superantigen involvement in insulin-dependent diabetes mellitus aetiology. *Nature* **371**, 351–355 (1994).
133. Stauffer Y, Marguerat S, Meylan F, Ucla C, Sutkowski N, Huber B, P. T. & B, C. Interferon-alpha-induced endogenous superantigen: a model linking environment and autoimmunity. *Immunity* **15**, 591–601 (2001).
134. Sutkowski N, Conrad B, Thorley-Lawson DA, H. B. Epstein-Barr virus transactivates the human endogenous retrovirus HERV-K18 that encodes a superantigen. *Immunity* **15**, 579–589 (2001).
135. Conrad, B. *et al.* A human endogenous retroviral superantigen as candidate autoimmune

-
- gene in type I diabetes. *Cell* **90**, 303–313 (1997).
136. Jaeckel E, Manns M, V. H. M. Viruses and diabetes. *Ann N Y Acad. Science (80-.)*. **958**, 7–25 (2002).
137. Ioannou Y, I. DA. Current evidence for the induction of autoimmune rheumatic manifestations by cytokine therapy. *Arthritis Rheum* **43**, 1431–1442 (2000).
138. Marguerat, S., Wang, W. Y. S., Todd, J. A. & Conrad, B. Association of Human Endogenous Retrovirus K-18 Polymorphisms with Type 1 Diabetes. *Diabetes* **53**, 852–854 (2004).