

- [Ver PDF](#)
- [Descargar edición completa](#)

Investigación de virus
[Volumen 302](#), septiembre de 2021, 198466

Vacunas Covid-19 basadas en ADN de vector adenoviral y ARNm de SARS-CoV-2: posible integración en el genoma humano: ¿se expresan los genes adenovirales en vacunas basadas en vectores?

Los enlaces de autor abren el panel de superposición [Walter Doerfler](#) ^{ab} -

<https://doi.org/10.1016/j.virusres.2021.198466>[Obtener derechos y contenido](#)

[Bajo una licencia](#) Creative Commons

Acceso abierto

REFLEJOS

Esta breve revisión se presentó aquí para facilitar una discusión independiente y más equilibrada sobre los riesgos potenciales debido a la presencia de ADN de vector de adenovirus (AstraZeneca, Johnson & Johnson, Sputnik V y otros) o ARN de SARS-CoV-2 (BioNTech/Pfizer, Moderna) en vacunas que supuestamente protegen contra el Covid-19. Por supuesto, las inyecciones de vacunas basadas en vectores en el **humanos** un asunto diferente a los eventos aleatorios raros que conducen a eventos de recombinación entre ADN extraño y humano en sistemas experimentales como se describe anteriormente. Además, ni el tipo ni la frecuencia de las consecuencias de los raros eventos de integración de vectores pueden evaluarse de manera realista en la actualidad. Los resultados publicados recientemente sobre los beneficios de la protección frente al Covid-19 que ofrecen las vacunas de BioNTech/Pfizer están animando [a Dagan et al. 2021](#)]. Por supuesto, el jurado aún está deliberando sobre si alguna de las vacunas protegerá contra las nuevas variantes más peligrosas del SARS-CoV-2 del Reino Unido, Sudáfrica, Brasil y variantes desconocidas que podrían surgir en el futuro dado los niveles mal controlados de replicación viral en todo el mundo. Por

último, ignoramos la protección de la vacuna contra el desarrollo de síntomas prolongados y tardíos de Covid-19.

La información presentada en esta revisión ayudará a los futuros vacunados a sopesar una evaluación de riesgo versus beneficio, es decir, los eventos de integración del vector de adenovirus o del ADN de transcripción inversa de ARN del SARS-CoV-2 a baja frecuencia versus, con suerte, alta eficacia y protección de la vacuna. Además, dado que la infección por SARS-CoV-2 en sí misma puede estar asociada con la integración de transcritos inversos del ARN viral [Zhang et al, 2020], esta serie de eventos podría volverse inevitable en cualquier infección por SARS-CoV-2. Por último, la medida en que los productos génicos adenovirales podrían coexpresarse con la glicoproteína espiga del SARS-CoV-2 tras la inyección de la vacuna vectorial en los músculos deltoides humanos sigue sin investigarse. En la actualidad no podemos medir sus posibles efectos sobre el organismo humano, si realmente se expresan. Las oportunidades y los riesgos, ambos al mismo tiempo, permanecen más allá de nuestras expectativas de controles absolutos porque la vida y la evolución probablemente se han basado en "mecanismos de azar" desde el principio. Observaciones clínicas sobre resultados positivos duraderos de la prueba RT-PCR que implican la integración del ADN del SARS-CoV-2 en el genoma humano en el curso de algunos casos de covid-19, hacen que los temores sobre los eventos de integración asociados con la vacuna sean poco realistas, en comparación con los beneficios esperados de la vacunación contra covid-19. La población humana de 2021 se enfrenta a una crisis biomédica de dimensiones sin precedentes en los últimos tiempos y tendrá que aceptar las mejores contramedidas disponibles contra el Covid-19 del momento: la vacunación.

Resumen

Los programas de vacunación vigorosos contra el Covid-19 que causa el SARS-CoV-2 son la mejor oportunidad para combatir esta terrible pandemia. Las vacunas administradas actualmente dependen de los vectores de ADN de adenovirus o del ARNm del SARS-CoV-2 que podría transcribirse inversamente en ADN, aunque con poca frecuencia. En algunas sociedades, las personas se han sensibilizado contra los posibles efectos secundarios a corto o largo plazo de la inyección de ADN extraño en humanos. En mi laboratorio, se ha investigado durante muchos años el destino del ADN extraño en células y organismos de mamíferos (humanos). En esta revisión se presentará un resumen de los resultados obtenidos. Esta sinopsis se ha puesto en el contexto evolutivo de las inserciones de retrotransposones en genomas prehumanos hace millones de años. Además, los estudios sobre el ADN basado en vectores de adenovirus, Se describirá el destino del ADN ingerido con alimentos, así como la persistencia a

largo plazo del ARN/ADN del SARS-CoV-2. La integración real de las moléculas de ADN viral y del vector de ADN de adenovirus probablemente serán eventos fortuitos cuya frecuencia y consecuencias epigenéticas no pueden evaluarse con certeza. La revisión también aborda los problemas de la expresión génica adenoviral restante en vectores basados en adenovirus y su papel en los efectos secundarios de las vacunas. Eventualmente, se reducirá a sopesar los posibles riesgos de las inserciones genómicas de ADN extraño asociado a la vacuna y niveles desconocidos de expresión génica adenoviral transportada por vectores versus la protección contra los peligros de Covid-19. Parece prudente tomar una decisión a favor de la vacunación contra enfermedades potencialmente mortales.

Palabras clave

Integración de ADN de adenovirus en genomas de mamíferos

integración del ADN del vector de adenovirus en el genoma humano

expresión de genes adenovirales en el vector de ADN

vector de adenovirus vacunas contra el SARS-CoV-2 basadas en ADN y ARN

consecuencias epigenéticas de la integración de ADN extraño

retrotranscripción del ARN del SARS-CoV-2 en ADN

1 . Fondo

Varias de las vacunas actualmente aprobadas contra el SARS-Coronavirus-2 (AstraZeneca/Oxford University, Johnson & Johnson's Janssen COVID-19 Vaccine y Sputnik V) se basan en vectores de ADN de adenovirus como portadores de la información genética de la glicoproteína espiga del SARS-COV-2 <https://www.sciencedirect.com/topics/medicine-and-dentistry/glycoprotein> . Las vacunas producidas por BioNTech/Pfizer o Moderna contienen el ARN mensajero (ARNm) para la síntesis de esta proteína. Tras la inyección de la vacuna, el ARNm desencadenará la síntesis de la proteína espiga viral en los vacunados directamente. Por lo tanto, el interés público en el destino del ADN extraño (adenoviral o TRANSCRITO INVERSAMENTE DEL SARS-CoV-2) en células y organismos de mamíferos (humanos) se ha vuelto agudo y generalizado. Las preocupaciones de las personas se han expresado en encuentros personales ocasionales como: " "? El autor se somete al concepto de que el público tiene derecho a la totalidad de la información científica sobre

estos temas. El relato aquí presentado de trabajos experimentales previos sobre la integración de ADN extraño y sus consecuencias proporcionará una actualización útil sobre estos temas de interés público. Esta sinopsis describe el destino del ADN extraño en células de mamíferos , su posible integración en el genoma del huésped y las posibles consecuencias para las células transgenómicas ([Doerfler, 2000](#)). *¿La vacuna entra en mis genes, Doerfler et al., 2018*). Frente a la pandemia de SARS-CoV-2 en todo el mundo, que aún se está expandiendo , esta información debe contrapesarse con respecto a los beneficios de una vacuna basada en vectores de ADN de adenovirus o una vacuna de ARNm contra el Covid-19 que amenaza la vida (enfermedad por coronavirus 2019).). No hay evidencia de que los adenovirus humanos estén involucrados causalmente en la tumorigénesis humana, pero esta posibilidad tampoco puede excluirse categóricamente, en particular para las vacunas basadas en vectores.

Además, en los tumores de hámster inducidos por Ad12, no se requiere la persistencia del genoma de Ad12 en las células tumorales para el mantenimiento del estado transformado de los tumores inducidos por Ad12 ([Kuhlmann et al., 1982](#)). Como se analiza a continuación, los factores epigenéticos podrían desempeñar un papel importante en la tumorigénesis de adenovirus y, para que su efecto domine, no es esencial la persistencia prolongada del transgenoma ([Doerfler et al., 2018](#) , [Heller et al., 1995](#)).

Las posibles secuelas a largo plazo de la integración del ADN del vector adenoviral o del ARN mensajero del SARS-CoV-2 con transcripción inversa para la funcionalidad y la supervivencia de las células transgénicas del vector no se pueden predecir con certeza en casos individuales. Sin embargo, en esta etapa de la pandemia de Covid-19, nuestras actividades deberán centrarse en combatir la pandemia con vacunas adecuadas y medidas terapéuticas futuras.

2. Antecedentes evolutivos: elementos transponibles en el genoma humano

Casi el 50% del genoma humano de 3×10^9 pares de nucleótidos representan elementos transponibles y el 8% constituyen genomas retrovirales endógenos. La importancia de este hecho genético no se ha reflejado activamente en la investigación en genética molecular. Aparentemente, una parte importante del genoma humano actual se ha insertado gradualmente durante los tiempos evolutivos mediante la integración de ADN extraño o de ADN retrotranscrito de genomas retrovirales de ARN. Análisis más recientes revelaron que los elementos repetitivos podrían representar entre el 66 % y el 69 % del genoma humano ([De Koning et al 2011](#)). Las secuencias de ADN extrañas se han inactivado con frecuencia a través de mecanismos epigenéticos , es decir, por metilación de ADN extraño y alteraciones . metilación de histonas estrategias. Se estima que estos antiguos eventos de integración datan de hace >60 a 70 millones de años,

posiblemente más. Su existencia y extensión masiva respaldan la noción de que la inserción de ADN extraño en genomas establecidos fue facilitada por un mecanismo elemental que surgió en tiempos evolutivos tempranos y muy probablemente haya jugado un papel importante en el impulso de la evolución. Incluso hoy en día, se pueden transcribir partes seleccionadas de estos antiguos integrados, y existen diferencias entre individuos en cuanto a la extensión de sus niveles de expresión. Además, los elementos reguladores presentes en los elementos retrovirales endógenos y los sitios de reconocimiento para las interacciones ADN-proteína cumplen funciones que no se conocen bien. Su importancia para el organismo humano solo puede ser especulada. Algunas partes de las secuencias retrovirales endógenas pueden sobreexpresarse en tumores humanos y enfermedades autoinmunes, así como en infecciones virales, incluidas las causadas por el SARS-CoV-2. Existe evidencia de que los elementos retrovirales endógenos se desregulan durante el envejecimiento. Una visión general sobre la biología de estas secuencias que a menudo se han subestimado erróneamente como *adn basura*, se ha presentado recientemente ([Geis y Goff, 2020](#)).

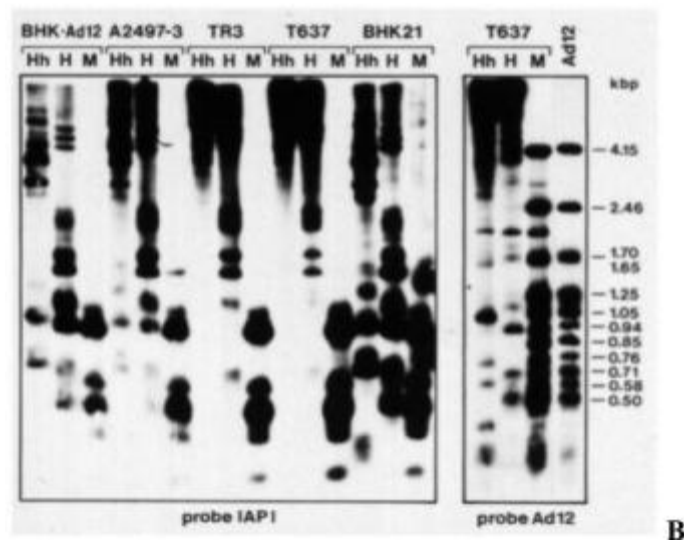
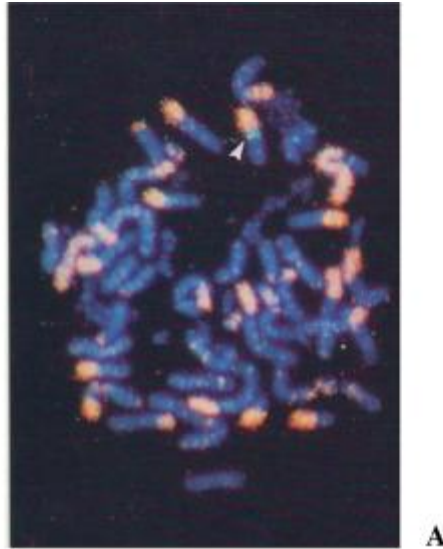
3 . Sinopsis de análisis anteriores

El trabajo sobre y con vectores de adenovirus se basa en la afirmación no comprobada de que estos vectores son seguros porque el ADN de adenovirus "no se integraría" en los genomas de las células receptoras. No hay evidencia sólida para esta interpretación. Por lo tanto, la siguiente sinopsis de nuestro trabajo y el de otros cuestiona esta noción ([Doerfler et al., 1984](#)). Los problemas encontrados en los procedimientos de terapia génica del pasado ([Samanathan et al, 2020](#)) y actualmente con las vacunas SARS-CoV-2 basadas en vectores de adenovirus requerirán una reevaluación exhaustiva de los inconvenientes que conllevan los sistemas de vectores de adenovirus. Por supuesto, el destino del ADN adenoviral intacto y el del vector de ADN parcialmente defectuosos es diferente en algunos aspectos, aunque ambos están sujetos a los mismos mecanismos de recombinación de integración celular. Además, las cantidades de ADN de vector de adenovirus administradas en los programas de vacunación (alrededor de 2,5 μ) son inferiores a las de los procedimientos de terapia génica. Se cree que el ADN del vector de adenovirus llega principalmente a las células del hígado ([Stephen et al, 2010](#)) y probablemente también ingresa a las células del sistema inmunitario.

3.1 . Genomas de adenovirus tipo 12 en tumor de hámster y células transformadas

El adenovirus humano tipo 12 (Ad12) induce neoplasias neuroectodérmicas primitivas en 70 a 90% de los hámsters sirios recién nacidos inoculados con virus , *Mesocricetus auratus* ([Trentin et al. 1962](#) ; [Hohlweg et al. 2003](#)). El ADN de Ad12 en la línea celular T637 de tumor de hámster inducido por Ad12 se integró mediante

recombinación heteróloga en 10 a 12 copias, frecuentemente en un sitio genómico seleccionado al azar (**Fig. 1 A**, flecha verde, blanca). Sin embargo, no hay evidencia de que ninguno de los adenovirus humanos esté implicado en la tumorigénesis humana.



1. [Descargar](#) : Descargar imagen de alta resolución (564KB)
2. [Descargar](#): Descargar imagen a tamaño completo

Figura 1 . La inserción de ADN extraño en el genoma del hámster altera los perfiles de metilación del ADN celular en las ~ 900 copias de secuencias de retrotransposones IAP . Los patrones de metilación alterados se mantienen incluso después de la pérdida de los transgenomas.

[**A**] La hibridación in situ del núcleo de células de hámster transformadas con Ad12 de una célula T637 visualiza alrededor de 10 a 12 copias de ADN de Ad12 integrado cromosómicamente (sonda de ADN de Ad12 , flecha verde, blanca); Sonda IAP (rosa) ~ 900 copias de

genomas de retrotransposones de partículas A intracisternales que se ubican con frecuencia en brazos cortos de cromosomas de hámster; Tinción DAPI (azul) del ADN celular.

[B] Hibridación por transferencia Southern de ADN de (derecha a izquierda) Ad12 (adenovirus humano tipo 12); T637 (células de hámster BHK21 transformadas con Ad12); BHK21 (línea celular de riñón de cría de hámster); T637; TR3 (una reversión de la línea celular T637 cuyo genoma había perdido todas las 10 a 12 copias del genoma viral integrado originalmente (confirmado por PCR); A2497-3 es una línea celular de hámster transformada con Ad12 diferente de las células T637; BHK·Ad12, BHK21 células de hámster infectadas abortivamente con Ad12 ([Doerfler, 1969](#), [Hochstein et al., 2008](#)). Las ³² sondas de hibridación de ADN marcadas con P se designaron en la parte inferior del electroferograma, Ad12 o IAP (de derecha a izquierda).

Los niveles de metilación del ADN CpG en las diferentes muestras de ADN se evaluaron mediante escisión diferencial con endonucleasas de restricción sensibles a la metilación (HpaII, HhaI) o insensibles a la metilación (MspI): MspI escinde 5'-CCGG-3' y 5'-C^m Las secuencias CGG-3' (insensibles a la metilación), HpaII y HhaI (sensibles a la metilación) **no cortan** los sitios 5'-C^m CGG-3'. Los resultados documentan aumentos distintivos de secuencias metiladas de CpG en las líneas celulares transgénicas Ad12 T637 y A-2497-3 como lo demuestran las grandes cantidades de ADN de IAP sin cortar HpaII y HhaI (parte superior de la pantalla). La línea celular revertida TR3, derivada de células T637, también muestra una mayor metilación del ADN de IAP, aunque había perdido todas las copias de los transgenomas Ad12 (confirmado por PCR). Aparentemente, el efecto epigenético (mayor metilación del ADN de IAP) de la inserción del transgén en el ADN del retrotransposón IAP persistió incluso después de la pérdida de los transgenes que habían provocado los efectos epigenéticos *trans*. Estas cifras fueron tomadas de ([Heller et al., 1995](#)).

En 58 tumores de hámster inducidos por Ad12 de forma independiente, se integraron múltiples copias de ADN viral en un sitio de integración celular elegido al azar, aunque las ubicaciones genómicas de estos sitios diferían entre los tumores individuales de origen clonal. En dos tumores adicionales, las integraciones de ADN de Ad12 se ubicaron cada una en dos sitios diferentes en el genoma de la célula tumoral. En cada tumor, el ADN de Ad12 integrado se había metilado con CpG *de novo* ([Hilger-Eversheim y Doerfler, 1997](#)).

El mayor énfasis en los análisis de células tumorales de hámster transformadas con adenovirus o inducidas por Ad12 se puso en la clonación molecular y la secuenciación de numerosos sitios de unión entre el ADN del adenovirus integrado y el ADN celular

adyacente para determinar el enlace covalente entre el ADN viral y celular de los integrados ([Deuring et al., 1981a](#) ; [Stabel, Doerfler, 1982](#); [Gahlmann et al. 1982](#) ; ([Deuring y Doerfler, 1983](#)) [Doerfler et al., 1984](#) , [Schulz et al., 1987](#)). El mecanismo de inserción parecía similar o idéntico al de la recombinación no homóloga. Homologías de secuencia cortas, existía un menudo irregular entre el termino del ADN del adenovirus y la secuencia celular dirigida en los sitios contiguos de inserción. En algunos casos, la secuencia de ADN celular receptor <https://www.sciencedirect.com/topics/medicine-and-dentistry/dna-sequence> adyacente al ADN viral integrado fue transcripcionalmente activa ([Schulz et al. 1987](#)). En un estudio piloto, la recombinación insercional entre ADN virales y celulares se reconstruyó en un sistema libre de células a partir de extractos nucleares de hámster mediante el uso de una secuencia de ADN celular previa a la inserción previamente identificada y segmentos terminales de ADN de adenovirus como socios de recombinación ([Jessberger et al. 1989](#)). Los productos de recombinación se analizaron al volver a clonar a partir de la reacción y mostraron características similares a las de las células transformadas por adenovirus ([Tatzelt et al. 1992](#)).

3.2 . Un sistema modelo para estudiar la integración del ADN de Ad12 en células de hámster infectadas de forma abortiva

El sistema Ad12-tumor de hámster se reconoció en ese momento como un modelo poderoso para investigar las interacciones Ad12-célula huésped. Ad12 infecta células de hámster de forma abortiva con un bloqueo completo de la replicación del ADN viral y una escasez de genomas virales que alcanzan los núcleos de las células ([Doerfler, 1969](#) ; [Zock y Doerfler, 1990, 1995](#); Hochstein et al., 2008). Por lo tanto, debido a esto bloque en la replicación del ADN viral y la expresión génica tardía, Ad12 fue incapaz de replicarse en células de hámster, lo que cumplió con una condición previa esencial para la integración del ADN viral y tumorigénesis. En una serie de experimentos modelo [Doerfler, 1968, 1970], se infectaron células de hámster con ADN celular premarcado con 5-bromodeoxuridina (5-BU) con grandes inóculos de virus Ad12 marcado con ³H-timidina-ADN. Mediante centrifugación en gradiente de densidad flotante en equilibrio alcalino (pH > 13) con CsCl , el ADN ligero de Ad12 y el ADN celular pesado marcado con 5-BU podrían separarse físicamente. Comenzando alrededor de las 12 h después de la infección, ³Ad12 marcado con H-timidina-ADN comenzó a cambiar de la posición de densidad ligera del ADN de Ad12 a la posición de ADN celular pesado, y así progresivamente con el tiempo después de la infección. La autenticidad de Ad12 del ADN de densidad desplazada se determinó mediante hibridación ADN-ADN. Además, el tratamiento ultrasónico del ADN de células de hámster infectadas con Ad12 interrumpió el enlace estable a los álcalis (pH 13) entre el ³Ad12 marcado con 3H-timidina y el ADN de hámster celular pesado con 5-BU. El ADN de Ad12 marcado con 3H luego se reubicó en la posición de densidad viral o cerca de ella, lo que indica que el ³ADN de Ad12 marcado con 3H se liberó de su enlace con el ADN celular

pesado en 5-Bu. Estos resultados fueron los primeros en documentar la integración recombinatoria entre Ad12 y los ADN de células de mamíferos ([Doerfler, 1968](#) , [1970](#)).

3.3 . ¿Qué sucede en las células humanas infectadas productivamente con adenovirus?

Se investigaron infecciones de células humanas con adenovirus tipo 2 (Ad2) o Ad12. Existe evidencia de que el ADN del adenovirus humano es capaz de recombinarse con el ADN celular también en células humanas productivamente infectadas, aunque las verdaderas integraciones son difíciles de documentar ya que ninguna de las células humanas infectadas sobrevive a infecciones productivas por adenovirus. Una forma de sedimentación rápida, pH >13, estable a los álcalis, de ADN viral (presuntos recombinantes entre adenovirus y ADN celular) se documentó mediante experimentos secuenciales de hibridación de ADN-ADN, primero con ADN auténtico de Ad12, seguido de hibridación con ADN celular humano ([Schick et al. 1976](#)). Además, en células humanas infectadas con Ad12, se descubrió un recombinante simétrico de origen natural (SYREC) entre los 2081 nucleótidos del extremo izquierdo del ADN de Ad12 y un palíndromo considerable de ADN celular, según lo documentado por análisis de secuencias de nucleótidos . La presencia de la señal de empaquetamiento de adenovirus en el fragmento de ADN de Ad12 terminal en la molécula híbrida facilitó la incapsidación en partículas virales. Este hallazgo brindó un respaldo inequívoco a la formación de recombinantes entre Ad12 y el ADN celular también en células humanas infectadas productivamente ([Deuring et al., 1981b](#) , [Deuring y Doerfler 1983](#)). La estructura del ADN SYREC Ad12: la molécula de ADN del palíndromo celular sirvió como guía sobre cómo debían construirse las moléculas del vector de adenovirus gutless con cargas útiles elevadas. En otros laboratorios, la evidencia de los experimentos de hibridación *in situ* demostró que el ADN del adenovirus humano persistió en células adenoides humanas infectadas crónicamente ([Neumann et al. 1987](#)). Además, en las líneas celulares de linfocitos humanos infectadas con adenovirus latentes , los genomas de adenovirus también persistieron ([Zhang et al. 2010](#)). Sin embargo, en ninguno de los sistemas se investigó más el estado molecular de los genomas virales persistentes.

3.4 . El ADN de Ad12 integrado se metila con CpG de novo: correlaciones inversas entre los niveles de metilación del ADN de Ad12 y las actividades genéticas de los genes virales

En células tumorales de hámster inducidas por Ad12 y en células de hámster transformadas con Ad2 o Ad12, el ADN viral integrado se metila con CpG *de novo en patrones específicos* ([Sutter et al. 1978](#)) que tienden a propagarse a través de la integración viral de una manera específica. ([Toth et al. 1989](#)). La demostración de

correlaciones inversas entre los niveles de metilación del ADN y las actividades genéticas de regiones específicas de los genomas Ad2 o Ad12 integrados estuvo entre las primeras en la literatura y marcó el comienzo de un compromiso a largo plazo de nuestra investigación para dilucidar las funciones biológicas de CpG. Metilación del ADN en células de mamíferos ([Sutter y Doerfler, 1980](#) ; [Vardimon et al. 1980](#) ; [Doerfler, 1983](#)). Esta interrelación inversa entre el silenciamiento genético y los patrones específicos de metilación de CpG del promotor se confirmó posteriormente en muchos sistemas eucarióticos como de importancia general.

3.5 . La metilación del promotor conduce al silenciamiento del promotor

En una serie de experimentos con diferentes promotores eucarióticos y genes indicadores, documentamos que la metilación de promotores específicos provocó la inactivación de estos promotores ([Vardimon et al. 1982](#) ; [Kruczek y Doerfler, 1983](#) ; [Langner et al. 1984](#)). Además, los patrones de metilación de CpG específicos en los genomas de mamíferos pueden interpretarse como señales para la inactivación de genes a largo plazo ([Doerfler, 1983](#) ; [2006](#)). Una descripción más detallada de esta investigación no se presentará aquí, porque transgrediría el alcance de esta revisión.

3.6 . Consecuencias de la integración de ADN extraño para los genomas celulares

Se ha argumentado con frecuencia que la integración de ADN extraño en los genomas del huésped podría provocar la alteración de los genes en el cromosoma del huésped y, por lo tanto, podrían surgir mutaciones. Sin duda, esta es una posibilidad que ha sido descrita en algunos casos. Sin embargo, considerando que el genoma humano contiene 1,1 % de exones, 24 % de intrones y 75 % de ADN intergénico ([Venter et al. 2001](#)), la integración de ADN extraño tiene una probabilidad de aproximadamente 1/100 de alcanzar genes funcionales. Por el contrario, en nuestros análisis de las consecuencias de la inserción de ADN extraño, hemos puesto énfasis en el papel de los efectos epigenéticos que involucran sitios tanto cercanos como alejados del locus de integración (ver más abajo). Este aspecto de las secuelas de integración de ADN extraño ha sido el tema de trabajos previos de nuestro laboratorio ([Heller et al, 1995](#) ; [Weber et a., 2015, 2016](#) ; [Doerfler et al, 2018](#)).

En los sitios de inserción del ADN viral, el nivel de metilación del ADN CpG en el ADN celular adyacente disminuyó. Por lo tanto, la integración de ADN extraño pudo alterar las señales epigenéticas del ADN celular *en cis* , inmediatamente en el sitio de inserción ([Lichtenberg et al. 1988](#)).

Pero también pueden darse alteraciones *en trans* . En células de hámster transformadas con Ad12 que portan de 10 a 12 copias de ADN viral integrado genómicamente en un sitio cromosómico [verde en la [Fig. 1 A](#), resaltado por una flecha blanca], los niveles de metilación de CpG en las aproximadamente 900 copias de A intracitoplasmático celular

El ADN de retrotransposón de partículas (IAP) [rosa en la [Fig. 1A](#)] aumentó notablemente en comparación con las células de hámster no transformadas y con las células de hámster infectadas con Ad12 ([Fig. 1B](#) ; [Heller et al. 1995](#)). Debido al aumento de los niveles de metilación del ADN CpG en las secuencias IAP, su ADN demostró ser resistente a la escisión con secuencias sensibles a la metilación. endonucleasas de restricción como HpaII y HhaI y no lograron migrar en el análisis de electroforesis de los productos de escisión ([Fig. 1B](#)). Las secuencias de IAP se distribuyen en muchos cromosomas y con frecuencia se ubican en sus brazos cortos [señales rosas en la [Fig. 1A](#)]. Este hallazgo de un *efecto trans* de la metilación del ADN CpG en células de hámster transgénicas para el ADN Ad12 nos llevó a diseñar investigaciones sobre las consecuencias de las inserciones de ADN extraño en células humanas (ver más abajo)

Es importante enfatizar que en los experimentos descritos en la [Fig. 1B](#), el efecto transgenómico en los perfiles de metilación de IAP CpG no dependía de la presencia continua de los transgenomas Ad12 sino que persistió en la línea celular TR3, aunque había perdido todo el anterior. genomas Ad12 integrados ([Fig. 1B](#) ; [Heller et al. 1995](#)). Por lo tanto, no se puede argumentar que la falta de encontrar genomas de adenovirus, por ejemplo, en células tumorales humanas o células en individuos con dolencias crónicas, implicaría necesariamente que la integración del ADN del adenovirus o la de cualquier otro ADN extraño no había jugado un papel importante en la patogénesis. de estas enfermedades. La persistencia del ADN transgenómico no es una condición previa necesaria para el mantenimiento de *transfectos*, por ejemplo aquí del estado transformado de los genomas y células receptores [mecanismo de golpe y fuga]. Para investigaciones adicionales de los efectos *trans epigenéticos* en células humanas transgénicas, se inició la siguiente serie de experimentos piloto. En líneas clonales de células humanas transgénicas para un plásmido bacteriano de 5,6 kpb, se compararon los patrones de transcripción y metilación de CpG entre clones de células transgénicas y no transgénicas. mediante el uso de sistemas de microarrays de chips genéticos. En el 4,7% de los 28.869 segmentos de genes analizados, las actividades transcripcionales estaban reguladas diferencialmente al alza o a la baja en los clones transgénicos. El perfil de todo el genoma demostró metilación diferencial en 3791 de > 480 000 sitios CpG que se examinaron en clones de células transgénicas versus no transgénicas. Estos datos indicaron que la inserción de ADN extraño en un genoma humano establecido puede alterar notablemente la metilación del ADN CpG celular y los perfiles de transcripción. De hecho, diferentes tipos de células parecen haber evolucionado ([Weber et al. 2015](#) ; [Doerfler et al. 2018](#)). Consideramos estos efectos epigenéticos de la inserción de ADN extraño de gran importancia, ya que influyen en la estabilidad epigenética y la función de todo el

genoma (humano). Dado que muchos enfoques experimentales en biología y medicina recurren al estudio de células u organismos transgenómicos, los efectos epigenéticos frecuentemente insospechados a raíz de la inserción de ADN extraño deberán tenerse en cuenta en una interpretación realista de los datos experimentales.

El efecto trans descrito anteriormente parecía ser específico, ya que no afectaba a todas las partes del genoma humano. Los perfiles de metilación en secuencias retrovirales humanas endógenas (HERV), que constituyen aproximadamente el 8 % del genoma humano, permanecieron inalterados en los mismos clones celulares ([Weber et al. 2016](#)) que revelaron distintos cambios de metilación en otras partes de sus genomas ([Weber et al. 2015](#)). Los patrones de metilación del ADN del HERV en células transgénicas y de control expuestas a los mismos protocolos experimentales fueron casi idénticos ([Weber et al. 2016](#)).

Ampliando los estudios sobre el papel del ADN extraño en el medio ambiente, exploramos el destino del ADN extraño aislado que se había alimentado a ratones de laboratorio. El ADN extraño ingerido en alimentos probablemente constituye el encuentro más abundante y regular de órganos humanos con ADN extraño. ADN del bacteriófago M13, la proteína verde fluorescente clonada por plásmido(GFP), o el gen codificado por ADN nuclear específico de la planta para ribulosa-1, 5-bisfosfato carboxilasa (Rubisco) se administraron por vía oral a ratones en un gran número de experimentos diferentes. Aproximadamente el 1% del ADN alimentado sobrevivió al paso por el tracto gastrointestinal murino en forma fragmentada y se pudo rastrear en cantidades aún más bajas hasta diferentes sistemas de órganos, en particular el bazo y el hígado de los animales. En un experimento, se pudo aducir evidencia de que el ADN de prueba recuperado de las células del bazo se unió a un segmento de ADN de 80 nt con un 70% de homología con el gen del receptor de IgE de ratón ([Schubbert et al. 1997](#)). La línea germinal de los ratones parecía estar protegida de la invasión del ADN ingerido por los alimentos [([Hohlweg y Doerfler, 2001](#))]. Por lo tanto, parece probable que la exposición al ADN ingerido por los alimentos sea un desafío continuo para la estabilidad del genoma en las células implicadas estocásticamente del organismo de los mamíferos. No tenemos información sobre este problema en humanos.

3.7 . Integración de ADN de vector de adenovirus

El laboratorio de Stefan Kochanek en la Universidad de Ulm en Alemania realizó un estudio piloto para investigar si el ADN del vector de adenovirus podría integrarse cromosómicamente a raíz de la transferencia de genes mediada por el vector de adenovirus en ratones [Stephen et al. 2010]. Se inyectaron por vía intravenosa en ratones vectores de adenovirus de replicación deficiente que portaban diferentes transgenes. En hepatocitos que expresan transgenes, se encontraron construcciones

vectoriales integradas en el genoma del ratón. Los análisis de los sitios de unión entre el vector y el ADN celular revelaron un enlace covalente de los extremos del vector con el ADN celular de ratón mediante recombinación heteróloga a una frecuencia de $6,7 \times 10^{-5}$ de hepatocito transducido. Se identificaron recombinantes homólogos a frecuencias cien veces más bajas ([Stephen et al. 2010](#)). En su evaluación de estos resultados, los autores sugirieron que la frecuencia de la recombinación del ADN del vector adenoviral heterólogo con el genoma receptor era comparable a la de las mutaciones espontáneas en células de mamífero. Por supuesto, es una pregunta abierta qué factores provocan "mutaciones espontáneas". Entre otras causas, la recombinación de ADN humano con ADN extraño podría jugar un papel importante en la generación de mutaciones espontáneas. Por último, la cantidad de ADN de vector de adenovirus empaquetado con virión que se administra de forma rutinaria por vía intramuscular, por ejemplo, con la vacuna AstraZeneca (50x10⁹ viriones por dosis de vacuna, equivalente a aproximadamente 2,5 µg de ADN de vector de adenovirus por dosis), es menor que en muchos regímenes de terapia génica. Para obtener más información, consulte [https://assets.publishing.service.gov.uk/government/uploads/system/uploads/attachment_data/file/963928/UKPAR_COVID_19_Vaccine_AstraZeneca_23.02.2021.pdf].

3.8 . ¿ARN del SARS-CoV-2 transcrito de forma inversa e integrado en el genoma?

Motivados por los informes sobre la eliminación prolongada del ARN del SARS-CoV-2 y las continuas pruebas positivas de RT-PCR entre los sobrevivientes de Covid-19, Zhang et al. investigó si el ARN del SARS-CoV-2 podría transcribirse inversamente en ADN que, a su vez, podría integrarse en el genoma del huésped y continuar transcribiéndose en ARN ([Zhang et al., 2021](#)). Mediante análisis de secuencia de nucleótidos, los autores observaron copias de ADN del SARS-CoV-2 en los genomas de alrededor del 10 al 20 % de los pacientes con covid-19. Este ADN de SARS-CoV-2 estaba flanqueado por duplicaciones del sitio objetivo y endonucleasa LINE-1 de consenso secuencias de reconocimiento. Estas dos últimas características no siempre se observaron. Por lo tanto, también eran concebibles mecanismos independientes de LINE-1 para la integración del ADN del SARS-CoV-2. Se enfatizó que solo se encontraron integradas partes subgenómicas del ADN del SARS-CoV-2. Este tipo de integración excluye la posibilidad de que aquellos que portan ADN viral fragmentado del SARS-CoV-2 produzcan virus infecciosos . Las partes integradas del ADN del SARS-CoV-2 se transcribían con frecuencia. Los autores concluyeron que la infección por SARS-CoV-2 podría conducir a la síntesis de transcriptasas inversas endógenas codificadas por retrotransposones LINE-1. Estas enzimas generaron retrotranscripciones de ADN. Posiblemente solo se insertaron fragmentos de este ADN en los genomas humanos y se transcribieron en el ARN del SARS-CoV-2. Este hallazgo podría tener implicaciones en el contexto de las secuelas a largo plazo de las infecciones por SARS-

CoV-2 para los genomas de los pacientes con Covid-19. Además, las vacunas basadas en ARN supuestamente empleadas con éxito en todo el mundo también deberán ser examinadas a este respecto. Hallazgos inesperados como los descritos aquí tendrán que ser reproducidos por otros. Probablemente, los hallazgos aquí descritos estimularán las investigaciones sobre mecanismos similares que afectan a patógenos virales de ARN adicionales ([Zhang et al., 2021](#)).

3.9 . Comentarios sobre el vector de adenovirus de chimpancé utilizado en la vacuna ChAdOx1 de AstraZeneca SARS-CoV-2

Recientemente se han publicado detalles sobre la estructura y la transcripción del esqueleto viral del vector de adenovirus de chimpancé que se ha utilizado en el diseño de la vacuna ChAdOx1 contra el SARS-CoV-2 de AstraZeneca ([Almuqrin et al. 2021](#)). En este vector, una parte no especificada de la región E1 del genoma adenoviral fue reemplazada por la secuencia codificante de la proteína de punta del SARS-CoV-2. Por lo tanto, la construcción del vector tiene una replicación defectuosa. La expresión de la glicoproteína del pico del SARS-CoV-2 en la construcción del vector se postuló bajo el control del promotor CMV [citomegalovirus] sensible a Tet ([Loew et al. 2010](#)), uno de los promotores eucariotas fuertes. El vector, sin embargo, además todavía transporta 28 kpb, particularmente de genes de adenovirus de chimpancé tardío ([Almuqrin et al. 2021](#)). Su actividad transcripcional aún podría estar bajo el control remoto de segmentos de la región E1 que posiblemente permanecieron en la construcción. Dependiendo de la línea celular humana que se infectó como control con el vector, se encontraron genes de la columna vertebral viral adenoviral expresados en diferentes niveles. Actualmente se desconoce qué genes del adenovirus del chimpancé se expresan realmente en los vacunados humanos y cómo varían los perfiles de expresión del adenovirus entre los diferentes receptores de la vacuna. Hasta el momento, no se ha investigado y no se puede descartar la contribución causal de los productos de genes adenovirales tardíos a los efectos secundarios de la vacuna que se han observado en todo el mundo. Por lo tanto, además de los posibles problemas a largo plazo derivados del uso de vectores adenovirales debido a su integración y secuelas epigenéticas (ver arriba), [Almuqrin et al. 2021](#)) cuyo papel en la provocación de efectos secundarios peligrosos en humanos vacunados no ha sido evaluado críticamente.

No se ha presentado información sobre el alcance y la naturaleza de la expresión del gen adenoviral ChAdOx1 en humanos vacunados. En ausencia de las funciones transactivadoras de la región E1 de ChAdOx1, los transactivadores celulares en los organismos de los vacunados podrían facilitar la expresión de los genes virales ChAdOx1 tardíos. Las homologías de secuencias cortas en estos genes ChAdOx1 con los genes de adenovirus humanos podrían ser suficientes para provocar respuestas inmunitarias de memoria en los vacunados con una fuerza individualmente

diferente. Este último podría aumentar en los jóvenes que aún están más cerca de sus experiencias infantiles con infecciones adenovirales humanas . Las mujeres jóvenes que brindan la mayor parte del cuidado de pacientes y ancianos en la sociedad podrían entonces verse afectadas preferentemente por estas reacciones inmunológicas exageradas, por lo que estos vacunados podrían verse afectados con mayor frecuencia por efectos adversos. reacciones vacunales . Queda por investigar por qué los trombocitos serían el objetivo específico de este tipo de respuestas inmunitarias de memoria. En este contexto, será obligatorio recordar que también se encontró trombocitopenia en receptores de construcciones de vector de adenovirus en el curso de aplicaciones de terapia génica ([López-Gordo et al, 2017](#)).

Los investigadores que trabajan con vectores adenovirales han tenido conocimiento del incidente de Jesse Gelsinger en 1999 [https://en.wikipedia.org/wiki/Jesse_Gelsinger]. En ese momento, un hombre de 18 años que padecía una enfermedad metabólica genética ligada al cromosoma X , deficiencia de ornitina transcarbamilasadel hígado, fue el primer receptor de un régimen terapéutico génico basado en un vector adenoviral y murió pocos días después de la aplicación del adenovirus recombinante. Los posibles factores involucrados en el desenlace fatal se investigaron en ese momento, pero no pudieron identificarse claramente. El incidente terminó con el uso de vectores de adenovirus en la terapia génica durante mucho tiempo. Muy recientemente, una investigación detallada, aparentemente continua, de este fatal incidente lo atribuyó a la generación de complejos de adenovirus-anticuerpo que contribuyeron a la "inflamación sistémica letal" en el organismo del receptor ([Somanathan et al. 2020](#)). Por supuesto, el adenovirus humano tipo 5(Ad5) que se empleó en la medida terapéutica génica de 1999 no se puede comparar directamente con el vector de adenovirus de chimpancé utilizado en la vacuna contra el SARS-CoV-2 en 2021. Sin embargo, los vectores derivados de Ad5 son parte de otros vectores de SARS-CoV-2. vacunas. Por lo tanto, aún se debe tener extrema precaución al inyectar vectores adenovirales en humanos. Con suerte, las experiencias catastróficas del pasado no resurgirán con los vectores de hoy que, sin embargo, no son tan diferentes de los antiguos y problemáticos. A la larga, y con una consideración más cuidadosa, las vacunas convencionales basadas en la proteína de punta recombinante podrían haber sido una opción más segura.

4 . Conclusiones

La vida se ha desarrollado en un mundo de ADN, muy probablemente precedida por un mundo de ARN. Todos vivimos en este mundo de ADN comenzando en nuestros patios traseros cuando cavamos la tierra con incontables microorganismos y su ADN enterrado en escombros antiguos de restos animales y vegetales en descomposición. Solo considere el follaje arrojado anualmente. Con nuestro suministro diario de alimentos,

tomamos ADN extraño en grandes cantidades que no se digiere momentáneamente en mononucleótidos, sino que persiste transitoriamente en forma de fragmentos que son capaces de ingresar al organismo humano y distribuirse en diferentes sistemas de órganos humanos. El ADN es una molécula muy estable. En diminutas astillas de hueso de individuos de la población neandertal de hace unos 50.000 años, fragmentos de ADN neandertal han persistido hasta el día de hoy. En muestras de huesos excavados de neandertales, que Svante Pääbo y sus colegas investigaron, el ADN de neandertal representaba solo alrededor del 0,5 % del ADN de las muestras de hueso que analizaron ([Prüfer et al. 2017](#)). Cuando se presentó la ocasión, el ADN extraño y su capacidad para sobrevivir y recombinarse con el ADN de los organismos vivos podría haber jugado un papel importante en la evolución. Mientras luchamos con la pandemia de Covid-19 en el planeta Tierra, el rover *Perseverance* está excavando en busca de rastros de descomposición orgánica en el planeta Marte.

Esta breve revisión se presentó aquí para facilitar una discusión independiente y más equilibrada sobre los riesgos potenciales debido a la presencia de ADN de vector de adenovirus (AstraZeneca, Johnson & Johnson, Sputnik V y otros) o ARN de SARS-CoV-2 (BioNTech/Pfizer, Moderna) en vacunas que supuestamente protegen contra el Covid-19. Por supuesto, las inyecciones de vacunas basadas en vectores en el **humanos** un asunto diferente a los eventos aleatorios raros que conducen a eventos de recombinación entre ADN extraño y humano en sistemas experimentales como se describe anteriormente. Además, ni el tipo ni la frecuencia de las consecuencias de los raros eventos de integración de vectores pueden evaluarse de manera realista en la actualidad. En cambio, los resultados publicados recientemente sobre los beneficios de protección frente a la Covid-19 que ofrecen las vacunas de BioNTech/Pfizer son alentadores ([Dagan et al. 2021](#)). Por supuesto, aún no se sabe en qué medida alguna de las vacunas protegerá contra las nuevas variantes más peligrosas del SARS-CoV-2 del Reino Unido, Sudáfrica, Brasil, India (ahora denominadas α , β , γ , δ , respectivamente).) o contra variantes desconocidas que podrían surgir en el futuro dados los niveles de replicación viral mal controlados en todo el mundo ([Weber et al., 2021](#)). Por último, ignoramos la protección de la vacuna contra el desarrollo de síntomas prolongados y tardíos de Covid-19.

La información presentada en esta revisión ayudará a los futuros vacunados a sopesar una evaluación de riesgo versus beneficio, es decir, los eventos de integración del vector de adenovirus o del ADN de transcripción inversa de ARN del SARS-CoV-2 a baja frecuencia versus, con suerte, alta eficacia y protección de la vacuna. Además, dado que la infección por SARS-CoV-2 en sí misma puede estar asociada con la integración de transcritos inversos del ARN viral ([Zhang et al., 2021](#)), esta serie de eventos podría volverse inevitable en cualquier infección por SARS-CoV-2. Por último, la medida en

que los productos génicos adenovirales podrían coexpresarse con la glicoproteína espiga del SARS-CoV-2 tras la inyección de la vacuna vectorial en los músculos deltoides humanos sigue sin investigarse. En la actualidad no podemos medir sus posibles efectos sobre el organismo humano, si realmente se expresan. Las oportunidades y los riesgos, ambos al mismo tiempo, permanecen más allá de nuestras expectativas de controles absolutos porque la vida y la evolución probablemente se han visto afectadas por "mecanismos de azar" desde el principio. Observaciones clínicas sobre resultados positivos duraderos de la prueba RT-PCR que implican la integración del ADN del SARS-CoV-2 en el genoma humano en el curso de algunos casos de covid-19, hacen que los temores sobre los eventos de integración asociados con la vacuna sean poco realistas, en comparación con los beneficios esperados de la vacunación contra covid-19. La población humana de 2021 se enfrenta a una crisis biomédica de dimensiones sin precedentes en los últimos tiempos y tendrá que aceptar las mejores contramedidas disponibles en la actualidad contra el Covid-19: la vacunación.

4.1 . Nota añadida en la revisión

En el apogeo de una pandemia sin precedentes, el rápido desarrollo de vacunas eficaces contra el SARS-CoV-2 fue recibido con alivio y admiración por la ciencia experimental ([Sahin et al., 2021](#)). Sin embargo, resultará médicamente convincente considerar las posibles secuelas de las inyecciones de vacunas en miles de millones de humanos. Según se informa, una dosis de 0,5 ml de adenovirus recombinante ChAdOx1-S de AstraZeneca contiene 5×10^{10} partículas de adenovirus de chimpancé 26 (Ad26) (https://assets.publishing.service.gov.uk/government/uploads/system/uploads/attachment_data/file/963928/UKPAR_COVID_19_Vaccine_AstraZeneca_23.02.2021.pdf) que contienen un equivalente de aproximadamente 2,5 µg de ADN de chimpancé Ad26 recombinante. Es probable que las partículas de adenovirus sean absorbidas por las células del sistema linfático y el hígado, y su ADN será transportado a los núcleos de las células. En esta revisión, se han presentado las pruebas de la inserción de ADN de adenovirus en los genomas de los receptores y sus consecuencias.

(Las vacunas basadas en vectores de adenovirus pueden conducir a la integración de ADN de adenovirus con una frecuencia desconocida y con consecuencias epigenéticas impredecibles. Es concebible que los efectos epigenéticos se noten solo años después de la vacunación.

Los genes adenovirales aún presentes en el ADN del vector del adenovirus podrían ser transactivados por factores celulares y conducir a reacciones de memoria inmune que varían individualmente y que experimentan los vacunados como síntomas transitorios posteriores a la vacunación. Afortunadamente, los resultados fatales debido a reacciones inmunes extremas han sido eventos muy raros.

El ARN del SARS-CoV-2 o segmentos del mismo, como el gen de la espiga, se pueden transcribir de forma inversa mediante transcriptasas inversas codificadas con LINE-1 u otros factores, y el ADN así sintetizado se puede integrar en frecuencias y ubicaciones desconocidas en los genomas de los vacunados. . Por supuesto, lo mismo es cierto para todas las infecciones por SARS-CoV-2. Por lo tanto, el riesgo de eventos de integración no deseados de las transcripciones inversas de ARN del SARS-CoV-2 en las infecciones por SARS-CoV-2 parece similar al de la vacunación con la vacuna Covid-19 basada en ARNm.

Estos mecanismos de biología básica deben considerarse en el contexto de los programas de vacunación masiva de humanos en todo el mundo. Si estos mecanismos jugarán un papel predominante en la medicina en el futuro, y cómo lo harán, deberá ser seguido por metanálisis críticos. Actualmente no existe una alternativa viable a la vacunación de miles de millones de seres humanos. La población humana actualmente participa en la exposición a ADN extraño en un gran experimento. Después de completar las vacunaciones en todo el mundo, se debe establecer **un programa centinela posterior a la vacunación** para monitorear la exacerbación de dolencias humanas inesperadas, posiblemente nuevas, en individuos vacunados.

Declaración de interés en competencia

El autor declara que no hay conflicto de interés.

Expresiones de gratitud

Agradezco a Rudolf Jaenisch, Whitehead Institute for Biomedical Research, Cambridge, MA, EE. UU., por hacer su manuscrito Zhang et al., Proc. Academia Nacional Sci., EE. UU., 2021, en línea, disponible para mí antes de la publicación. En diferentes momentos, la investigación en el laboratorio de WD ha sido apoyada por la Deutsche Forschungsgemeinschaft en Bonn-Bad Godesberg (SFB 74 y SFB 274), por el Centro de Medicina Molecular de Colonia (CMMC, TP13), por la Fundación Thyssen en Colonia (Az. 10.07.2.138 más un estipendio para A. Naumann Az. 40.12.0.029.), por Staedtler Stiftung en Nürnberg (WW/eh 01/15), por Dr. Robert Pflieger Stiftung en Bamberg y por el apoyo continuo de WD's Epigenetics Grupo en el Instituto de Virología Clínica y Molecular, Universidad Friedrich-Alexander, Erlangen-Nürnberg. Nuestros análisis mutantes de SARS-CoV-2 muy recientes ([Webber et al. 2020](#) , [2021](#)), han sido apoyados en parte por Dr. Robert Pflieger Stiftung.

Artículos recomendados

Referencias

[Almuqrín et al., 2021](#)

A. Almuqrín , *et al.*

La infección por la vacuna contra el SARS-CoV-2 ChAdOx1 nCoV-19 de líneas celulares humanas revela niveles bajos de transcripción del gen de la columna vertebral viral junto con niveles muy altos de transcripción del gen de la glicoproteína S del SARS-CoV-2

Genoma Med (2021) , [10.1186/s13073-021-00859-1](https://doi.org/10.1186/s13073-021-00859-1)

[Ver PDF](#)

[Google Académico](#)

[Dagan et al., 2021](#)

N. Dagan , *et al.*

Vacuna Covid-19 de ARNm BNT162b2 en un entorno de vacunación masiva a nivel nacional

N. ingl. J.Med. (2021) , [10.1056/NEJMoa2101765](https://doi.org/10.1056/NEJMoa2101765)

[Ver PDF](#)

[Google Académico](#)

[de Koning et al., 2011](#)

AP de Koning , W. Gu , TA Castoe , MA Batzer , DD Pollock

Los elementos repetitivos pueden comprender más de dos tercios del genoma humano

PLoS Genet , 7 (12) (2011) , Artículo e1002384 , [10.1371/journal.pgen.1002384](https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1002384)

Epub 2011 1 de diciembre. PMID: 22144907; IDPM: PMC3228813

[Ver PDF](#)

[Ver registro en ScopusGoogle Académico](#)

[Deuring y Doerfler, 1983](#)

R. Deuring , W. Doerfler

Prueba de recombinación entre genomas virales y celulares en células KB humanas productivamente infectadas por adenovirus tipo 12: estructura del sitio de unión en un recombinante simétrico (SYREC)

Gen, 26 (1983), págs. 283 - 289 , [10.1016/0378-1119\(83\)90198-1](https://doi.org/10.1016/0378-1119(83)90198-1)

[Artículo](#)[Descargar PDF](#)[Ver registro en ScopusGoogle Académico](#)

[Deuring et al., 1981b](#)

R. Deuring , G. Klotz , W. Doerfler

Un recombinante simétrico inusual entre el ADN de adenovirus tipo 12 y el ADN de células humanas

Proc. Academia nacional ciencia USA , 78 (1981) , págs. 3142 - 3146

[Ver PDF](#)

[Referencia cruzada](#)[Ver registro en Scopus](#)[Google Académico](#)

[Deuring et al., 1981a](#)

R. Deuring , U. Winterhoff , F. Tamanoi , S. Stabel , W. Doerfler

Sitio de enlace entre el adenovirus tipo 12 y el ADN celular en la línea tumoral de hámster CLAC3

Naturaleza, 293 (1981), págs. 81 - 84 , [10.1038/293081a0](#)

[Ver PDF](#)

[Ver registro en Scopus](#)[Google Académico](#)

[Doerfler, 1968](#)

W. Doerfler

El destino del ADN del adenovirus tipo 12 en células de riñón de hámster bebé

Proc. Academia Nacional Ciencia USA, 60 (1968) , págs. 636 - 643 , [10.1073/pnas.60.2.636](#)

[Ver PDF](#)

[Google Académico](#)

[Doerfler, 1969](#)

W. Doerfler

Infección no productiva de células renales de hámster bebé (BHK21) con adenovirus tipo 12

Virolog y , 38 (1969) , págs. 587 - 606 , [10.1016/0042-6822\(69\)90179-2](#)

[Artículo](#)[Descargar PDF](#)[Ver registro en Scopus](#)[Google Académico](#)

[Doerfler, 1970](#)

W. Doerfler

Integración del ácido desoxirribonucleico del adenovirus tipo 12 en el ácido desoxirribonucleico de células renales de crías de hámster

J.Virol. , 6 (1970) , págs. 652 - 666 , [10.1128/JVI.6.5.652-666.1970](#)

[Ver PDF](#)

[Ver registro en ScopusGoogle Académico](#)

[Doerfler, 1983](#)

W. Doerfler

Metilación del ADN y actividad génica.

Anecdótico. *Reverendo Bioquímica* , 52 (1983) , págs. 93 - 124 ,
[10.1146/annurev.bi.52.070183.000521](#)

[Ver PDF](#)

[Google Académico](#)

[Doerfler et al.,
1984](#)

W. Doerfler , R. Gahlmann , S. Stabel , *et al.*

Sobre el mecanismo de recombinación entre ADN adenoviral y celular: la estructura de los sitios de unión

actual Parte superior. *Microbiol. inmunol.* , 109 (1984) , págs. 193 - 228 , [10.1007/978-3-642-69460-8_9](#)

[Ver PDF](#)

[Ver registro en ScopusGoogle Académico](#)

[Doerfler,
2000](#)

W. Doerfler

ADN extraño en sistemas de mamíferos

Wiley-VCH , Weinheim, Nueva York, Chichester, Brisbane, Singapur, Toronto (2000)

[Google Académico](#)

[D
o
e
r
f
l
e
r](#)

W. Doerfler

Metilación del ADN: metilación de novo, silenciamiento del promotor a largo plazo, patrones de metilación del ADN y sus cambios

actual Parte superior. Microbiol. inmunol. , 301 (2006) , págs. 125 - 175 , [10.1007/3-540-31390-7_5](https://doi.org/10.1007/3-540-31390-7_5)

[Ver PDF](#)

[Ver registro en ScopusGoogle Académico](#)

W. Doerfler , S. Weber , A. Naumann

Respuesta epigenética hereditaria hacia la entrada de ADN extraño por células huésped de mamíferos: un guardián de la estabilidad genómica

Revisión invitada, Epigenética, 13 (2018) , págs. 1141 - 1153 ,
[10.1080/15592294.2018.1549463](https://doi.org/10.1080/15592294.2018.1549463)

[Ver PDF](#)

[Ver registro en ScopusGoogle Académico](#)

R. Gahlmann , R. Leisten , L. Vardimon , W. Doerfler

Homologías de parches e integración de ADN de adenovirus en células de mamíferos

EMBO J, 1 (1982) , págs. 1101 - 1104

[Ver PDF](#)

[Referencia cruzadaVer registro en ScopusGoogle Académico](#)

FK Geis , SP Goff

G
a
h
l
m
a
n
n
e
t
a
l
:
1
9
8
2

Silenciamiento y regulación transcripcional de retrovirus endógenos: una descripción general

Virus , 12 (8) (2020) , pág. 884 , [10.3390/v12080884](https://doi.org/10.3390/v12080884)

PMID: 32823517; IDPM: PMC7472088

[Ver PDF](#)

[Google Académico](#)

H. Heller , C. Kämmer , P. Wilgenbus , W. Doerfler

La inserción cromosómica de ADN extraño (adenovirus tipo 12, plásmido o bacteriófago lambda) se asocia con una mayor metilación de los segmentos de ADN celular

Proc. Academia Nacional Ciencia USA , 92 (1995) , págs. 5515 - 5519 ,
[10.1073/pnas.92.12.5515](https://doi.org/10.1073/pnas.92.12.5515)

[Ver PDF](#)

[Ver registro en ScopusGoogle Académico](#)

K. Hilger-Eversheim , W. Doerfler

Origen clonal de tumores inducidos por adenovirus tipo 12: sitios de integración cromosómica no específicos del ADN viral

Cáncer Res, 57 (1997), págs. 3001 - 3009

[Ver registro en ScopusGoogle Académico](#)

N. Hochstein , D. Webb , M. Hösel , W. Seidel , S. Auerochs , W. Doerfler

La expresión del gen CAR humano en células de hámster no permisivas aumenta la entrada de adenoviriones tipo 12 y la importación nuclear de ADN viral.

J.Virol. , 82 (2008) , págs. 4159 - 4163 , [10.1128/JVI.02657-07](https://doi.org/10.1128/JVI.02657-07)

[Ver PDF](#)

[Ver registro en ScopusGoogle Académico](#)

U. Hohlweg , *et al.*

Diseminación intraperitoneal de tumores neuroectodérmicos de hámster no diferenciados inducidos por Ad12: patrones de metilación y transcripción de novo de genes virales y celulares integrados

Virus Res, 98 (2003) , págs. 45 - 56 , [10.1016/j.virusres.2003.08.012](https://doi.org/10.1016/j.virusres.2003.08.012)

[Artículo](#)[Descargar PDF](#)[Ver registro en ScopusGoogle Académico](#)

U. Hohlweg , W. Doerfler

Sobre el destino de la planta u otros genes extraños tras la absorción en los alimentos o después de la inyección intramuscular en ratones

Mol. Gineta. Genómica (2001) , págs. 225 - 233 , [10.1007/s004380100450](https://doi.org/10.1007/s004380100450)

[Ver PDF](#)

[Ver registro en ScopusGoogle Académico](#)

R. Jessberger , D. Heuss , W. Doerfler

Recombinación en extractos nucleares de células de hámster entre ADN de adenovirus tipo 12 y dos secuencias de preinserción de hámster

EMBO J, 8 (1989), págs. 869 - 878

[Ver PDF](#)

[Referencia cruzadaVer registro en ScopusGoogle Académico](#)

I. Kruczek , W. Doerfler

Expresión del gen de la cloranfenicol acetiltransferasa en células de mamífero bajo el control de promotores de adenovirus tipo 12: efecto de la metilación del promotor en la expresión génica

Proc. Academia Nacional Ciencia USA, 80 (1983) , págs. 7586 - 7590 ,
[10.1073/pnas.80.24.7586](https://doi.org/10.1073/pnas.80.24.7586)

[Ver PDF](#)

[Ver registro en ScopusGoogle Académico](#)

I. Kuhlmann , S. Achten , R. Rudolph , W. Doerfler

Inducción de tumores por adenovirus humano tipo 12 en hámsters: la pérdida del genoma viral de las células tumorales inducidas por adenovirus tipo 12 es compatible con la formación de tumores

EMBO J, 1 (1982) , págs. 79 - 86

PMID: 7188179; IDPM: PMC552999

[Ver PDF](#)

[Referencia cruzadaVer registro en ScopusGoogle Académico](#)

KD Langner , L. Vardimon , D. Renz , W. Doerfler

La metilación del ADN de tres sitios 5 'CCGG 3' en el promotor y la región 5' inactiva el gen E2a del adenovirus tipo 2

Proc. Academia Nacional Ciencia USA , 81 (1984) , págs. 2950 - 2954 ,
[10.1073/pnas.81.10.2950](https://doi.org/10.1073/pnas.81.10.2950)

[Ver PDF](#)

[Google Académico](#)

U. Lichtenberg , C. Zock , W. Doerfler

La integración de ADN extraño en el genoma de los mamíferos puede estar asociada con la hipometilación en el sitio de inserción

Virus Res, 11 (1988) , págs. 335 - 342 , [10.1016/0168-1702\(88\)90006-8](https://doi.org/10.1016/0168-1702(88)90006-8)

[Artículo](#)[Descargar PDF](#)[Ver registro en Scopus](#)[Google Académico](#)

R. Loew , N. Heinz , M. Hampf , H. Bujard , M. Gossen

Promotores sensibles a Tet mejorados con expresión de fondo minimizada

BMC Biotechnol , 10 (2010) , pág. 81 , [10.1186/1472-6750-10-81](https://doi.org/10.1186/1472-6750-10-81)

[Ver PDF](#)

[Ver registro en Scopus](#)[Google Académico](#)

E. López-Gordo , A. Doszpoly , MR Duffy , *et al.*

Definición de un papel novedoso para el coxsackievirus y el receptor de adenovirus en la transducción del serotipo 5 del adenovirus humano *in vitro* en presencia de suero de ratón

J Virol , 91 (12) (2017) , [10.1128/JVI.02487-16](https://doi.org/10.1128/JVI.02487-16)

e02487-16PMID: 28381574; IDPM: PMC5446653

[Ver PDF](#)

[Google Académico](#)

R. Neumann , E. Genersch , HJ Eggers

Detección de secuencias de ácido nucleico de adenovirus en amígdalas humanas en ausencia de virus infeccioso

Virus Res, 7 (1987), págs. 93 - 97 , [10.1016/0168-1702\(87\)90060-8](https://doi.org/10.1016/0168-1702(87)90060-8)

[Artículo](#)[Descargar PDF](#)[Ver registro en Scopus](#)[Google Académico](#)

K. Prüfer , C. de Filippo , S. Grote , *et al.*

Un genoma neandertal de alta cobertura de la cueva de Vindija en Croacia

Ciencia, 358 (2017), págs. 655 - 658 , [10.1126/ciencia.aao1887](https://doi.org/10.1126/ciencia.aao1887)

[Ver PDF](#)

[Ver registro en ScopusGoogle Académico](#)

U. Sahin, *et al.*

La vacuna BNT162b2 induce anticuerpos neutralizantes y células T poliespecíficas en humanos.

Naturaleza (27 de mayo) (2021) , [10.1038/s41586-021-03653-6](https://doi.org/10.1038/s41586-021-03653-6)

Epub antes de la impresión. PMID: 34044428, En prensa

[Ver PDF](#)

[Google Académico](#)

J. Schick , *et al.*

Formas intracelulares de ADN de adenovirus: la forma integrada de ADN de adenovirus aparece temprano en la infección productiva

Proc. Academia Nacional Ciencia USA , 73 (1976) , págs. 1043 - 1047

[Ver PDF](#)

[Referencia cruzadaVer registro en ScopusGoogle Académico](#)

R. Schubbert , D. Renz , B. Schmitz , W. Doerfler

El ADN extraño (M13) ingerido por los ratones alcanza los leucocitos periféricos, el bazo y el hígado a través de la mucosa de la pared intestinal y puede unirse covalentemente al ADN del ratón.

Proc. Academia Nacional Ciencia USA , 94 (1997) , págs. 961 - 966 ,
[10.1073/pnas.94.3.961](https://doi.org/10.1073/pnas.94.3.961)

[Ver PDF](#)

[Ver registro en ScopusGoogle Académico](#)

M. Schulz , U. Freisem-Rabin , R. Jessberger , W. Doerfler

Actividades transcripcionales de genomas de mamíferos en sitios de recombinación con ADN extraño

J.Virol. , 61 (1987) , págs. 344 - 353 , [10.1128/JVI.61.2.344-353.1987](https://doi.org/10.1128/JVI.61.2.344-353.1987)

[Ver PDF](#)

[Ver registro en ScopusGoogle Académico](#)

S. Somanathan, R. Calcedo, J.M. Wilson

Los complejos adenovirus-anticuerpo contribuyeron a la inflamación sistémica letal en un ensayo de terapia génica

Mol. Ther., 28 (2020), pp. 784-793, [10.1016/j.ymthe.2020.01.006](https://doi.org/10.1016/j.ymthe.2020.01.006)

Epub 2020 7 de febrero

[Artículo](#)[Descargar PDF](#)[Ver registro en Scopus](#)[Google Scholar](#)

S. Stabel, W. Doerfler

Secuencia de nucleótidos en el sitio de unión entre el ADN del adenovirus tipo 12 y el ADN repetitivo de células de hámster en la línea celular transformada CLAC1

Ácidos nucleicos Res, 10 (1982), pp. 8007-8023, [10.1093/nar/10.24.8007](https://doi.org/10.1093/nar/10.24.8007)

[Ver PDF](#)

[Ver registro en ScopusGoogle Scholar](#)

S.L. Stephen, *et al.*

Integración cromosómica del ADN del vector adenoviral in vivo

J. Virol., 84 (2010), págs. 9987-9994, [10.1128/JVI.00751-10](https://doi.org/10.1128/JVI.00751-10)

[Ver PDF](#)

[Ver registro en ScopusGoogle Scholar](#)

D. Sutter, M. Westphal, W. Doerfler

Patrones de integración de secuencias de ADN viral en los genomas de células de hámster transformadas por adenovirus tipo 12

Cell, 14 (1978), págs. 569-585, [10.1016/0092-8674\(78\)90243-x](https://doi.org/10.1016/0092-8674(78)90243-x)

[Artículo](#)[Descargar PDF](#)[Ver registro en Scopus](#)[Google Scholar](#)

D. Sutter, W. Doerfler

La metilación de secuencias de ADN de adenovirus tipo 12 integradas en células transformadas está inversamente correlacionada con la expresión génica viral
Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A., 77 (1980), págs. 253 a 256, [10.1073/pnas.77.1.253](https://doi.org/10.1073/pnas.77.1.253)

[Ver PDF](#)

[Ver registro en ScopusGoogle Scholar](#)

J. Tatzelt , B. Scholz , K. Fechteler , R. Jessberger , W. Doerfler

Recombinación entre el ADN del adenovirus tipo 12 y una secuencia de preinserción de hámster en un sistema libre de células. Homologaciones de parches y fraccionamiento de extractos nucleares

J. Mol. Biol. , 226 (1992) , págs. 117 - 126 , [10.1016/0022-2836\(92\)90128-7](https://doi.org/10.1016/0022-2836(92)90128-7)

[ArtículoDescargar PDF](#)[Ver registro en ScopusGoogle Académico](#)

M. Toth , U. Lichtenberg , W. Doerfler

La secuenciación genómica revela un dominio libre de 5-metilcitosina en promotores activos y la propagación de patrones de metilación preimpuestos

Proc. Academia Nacional Ciencia USA , 86 (1989) , págs. 3728 - 3732 ,
[10.1073/pnas.86.10.3728](https://doi.org/10.1073/pnas.86.10.3728)

[Ver PDF](#)

[Ver registro en ScopusGoogle Académico](#)

JJ Trentin , Y. Yabe , G. Taylor

La búsqueda de los virus del cáncer humano

Ciencia, 137 (1962), págs. 835 - 841

[Ver PDF](#)

[Referencia cruzadaVer registro en ScopusGoogle Académico](#)

L. Vardimon , R. Neumann , I. Kuhlmann , D. Sutter , W. Doerfler

Metilación del ADN y expresión de genes virales en células transformadas e infectadas con adenovirus

Núcleo Ácidos Res., 8 (1980) , págs. 2461 - 2473 , [10.1093/nar/8.11.2461](https://doi.org/10.1093/nar/8.11.2461)

[Ver PDF](#)

[Ver registro en ScopusGoogle Académico](#)

L. Vardimon , A. Kressmann , H. Cedar , M. Maechler , W. Doerfler

La metilación in vitro inhibe la expresión de un gen de adenovirus clonado

Proc. Academia Nacional Ciencia USA , 79 (1982) , págs. 1073 - 1077 ,
[10.1073/pnas.79.4.1073](https://doi.org/10.1073/pnas.79.4.1073)

[Ver PDF](#)

[Google Académico](#)

JC Venter , *et al.*

La secuencia del genoma humano

Ciencia, 291 (2001), pág. 1304 , [10.1126/ciencia.1058040](https://doi.org/10.1126/ciencia.1058040)

[Ver PDF](#)

[Google Académico](#)

S. Weber , A. Hofmann , S. Herms , P. Hoffmann , W. Doerfler

Desestabilización del epigenoma humano: consecuencias de las inserciones de ADN extraño

Epigenómica, 7 (2015) , págs. 745 - 755 , [10.2217/epi.15.40](#)

[Ver PDF](#)

[Ver registro en ScopusGoogle Académico](#)

S. Weber , S. Jung , W. Doerfler

La metilación y la transcripción del ADN en las secuencias HERV (K, W, E) y LINE permanecen sin cambios tras las inserciones de ADN extraño

Epigenómica, 8 (2016) , págs. 157 - 165 , [10.2217/epi.15.109](#)

[Ver PDF](#)

[Ver registro en ScopusGoogle Académico](#)

S. Weber , C. Ramírez , W. Doerfler

Las mutaciones de puntos críticos de señal en los genomas del SARS-CoV-2 evolucionan a medida que el virus se propaga y se replica activamente en diferentes partes del mundo

Investigación de virus , 289 (2020) , Artículo 198170 , [10.1016/j.virusres.2020.198170](#)

[ArtículoDescargar PDF](#)[Ver registro en ScopusGoogle Académico](#)

S. Weber , CM Ramírez , B. Weiser , H. Burger , W. Doerfler

La replicación mundial del SARS-CoV-2 impulsa el rápido aumento y la selección de mutaciones en todo el genoma viral: un estudio de evolución temporal: un desafío potencial para las vacunas y las terapias

EMBOmol. Medicina. (2021) , pág. e14062 , [10.15252/emmm.202114062](#)

PMID: 33931941, en este número

[Ver PDF](#)

[Ver registro en ScopusGoogle Académico](#)

Y. Zhang , W. Huang , DA Ornelles , LRJ Gooding

Modelado de latencia de adenovirus en líneas celulares de linfocitos humanos

J.Virol. , 84 (2010) , págs. 8799 - 8810 , [10.1128/JVI.00562-10](https://doi.org/10.1128/JVI.00562-10)

Epub 2010 23 de junio. PMID: 20573817

[Ver PDF](#)

[Ver registro en ScopusGoogle Académico](#)

L Zhang , A Richards , MI Barrasa , SH Hughes , RA Young , R. Jaenisch

El ARN del SARS-CoV-2 con transcripción inversa puede integrarse en el genoma de células humanas cultivadas y puede expresarse en tejidos derivados de pacientes

Proc. Academia Nacional Ciencia EE. UU. , 118 (21) (2021) , artículo e2105968118 , [10.1073/pnas.2105968118](https://doi.org/10.1073/pnas.2105968118)

PMID: 33958444

[Ver PDF](#)

[Ver registro en ScopusGoogle Académico](#)

C. Zock , W. Doerfler

Una secuencia mitigadora en la región corriente abajo del principal promotor tardío del ADN del adenovirus tipo 12

EMBO J, 9 (1990), págs. 1615-1623

[Ver PDF](#)

<https://doi.org/10.1002/j.1460-2075.1990.tb08281.x>Registro de vista CrossRef en [ScopusGoogle Scholar](#)

C. Zock, W. Doerfler

Investigaciones sobre las interacciones virus-huésped: un sistema abortivo

Métodos en Genética Molecular, 7 (1995) , pp. 167 - 192

[Artículo](#)[Descargar PDF](#)[Ver registro en ScopusGoogle Académico](#)

Citado por (13)

•

[Un caso de infección por COVID-19 en un receptor de trasplante renal después de recibir la dosis única de la vacuna contra el COVID-19](#)

2022, Anales de Medicina y Cirugía

[Mostrar resumen](#)

- [Cambios inmunopatológicos, complicaciones, secuelas y memoria inmunológica en pacientes con COVID-19](#)

2022, Heliyón

[Mostrar resumen](#)

- [Eficacia inmunogénica y reactogénica de Covaxin y Covishield: una revisión comparativa](#)

2022, Investigación inmunológica

- [Construcción de la subunidad waaF y vacuna de ADN contra Escherichia coli en mastitis bovina y estudio preliminar de su inmunogenicidad](#)

2022, Fronteras en la ciencia veterinaria

- [Vacunas de ARNm: ¿Por qué se ignora la biología de la retroposición?](#)

2022, Genes

- [Desarrollo de verrugas planas en las mejillas después de la vacuna BioNTech-Pfizer BNT162b2: ¿Existe una correlación?](#)

2022, Vacunas

[Ver todos los artículos que citan en Scopus](#)

© 2021 El Autor. Publicado por Elsevier BV

- [Acerca de ScienceDirect](#)
- [Acceso remoto](#)
- [Carrito de compras](#)
- [Anunciar](#)
- [Contacto y soporte](#)
- [Términos y condiciones](#)
- [Política de privacidad](#)

Usamos cookies para ayudar a proporcionar y mejorar nuestro servicio y personalizar el contenido y los anuncios. Al continuar, acepta el **uso de cookies** .

Copyright © 2022 Elsevier BV o sus licenciantes o colaboradores. ScienceDirect® es una marca registrada de Elsevier BV