

## ADENOMATOSIS PULMONAR OVINA (Adenocarcinoma)

---

### RESUMEN

*La adenomatosis pulmonar ovina (APO) se conoce también como adenocarcinoma pulmonar ovino, o como jaagsiekte, y es un tumor contagioso de las ovejas y, excepcionalmente, de las cabras. Es una enfermedad respiratoria progresiva que afecta sobre todo a animales adultos y que se presenta en muchas regiones del mundo. Se han asociado dos virus con la enfermedad, un herpesvirus y un retrovirus, pero solo el último tiene un papel etiológico. El retrovirus de la APO es diferente de los lentivirus ovinos no oncogénicos y se clasifica como un betaretrovirus.*

**Identificación del agente:** *El betaretrovirus de la APO todavía no puede propagarse in vitro, por lo que no hay métodos rutinarios de diagnóstico disponibles basados en el aislamiento del virus. En la actualidad el diagnóstico descansa en la historia clínica y en el examen del animal, así como en los hallazgos de las necropsias y en la histopatología. Mediante la reacción en cadena de la polimerasa se puede detectar ADN o ARN vírico en el tumor, en los ganglios linfáticos de drenaje, y en las células mononucleares de la sangre periférica.*

**Pruebas serológicas:** *No se han detectado anticuerpos contra el retrovirus en ovejas infectadas y, en consecuencia, no se dispone de pruebas serológicas para el diagnóstico.*

**Requisitos para las vacunas y los materiales de diagnóstico:** *No existen vacunas ni materiales de diagnóstico.*

### A. INTRODUCCIÓN

La adenomatosis pulmonar ovina (APO), también conocida como adenocarcinoma pulmonar ovino, jaagsiekte (= enfermedad poderosa) o carcinoma pulmonar ovino (CPO), es un tumor pulmonar contagioso de las ovejas y, con menos frecuencia, de las cabras. Es el tumor pulmonar más corriente en las ovejas y se presenta en muchos países del mundo. Está ausente de Australia y Nueva Zelanda y se ha erradicado de Islandia.

Se han relacionado etiológicamente con la APO varios virus diferentes, incluyendo un herpesvirus y un lentivirus, que se han logrado propagar a partir de tejido tumoral. Sin embargo, el primero no tiene ningún papel etiológico en la APO y el segundo presenta características de los lentivirus no oncogénicos. Recientemente se ha demostrado que la APO está causada por un betaretrovirus que aún no puede cultivarse *in vitro*, pero que ha sido clonado y secuenciado. Para referirse a este virus se utiliza el término retrovirus de la jaagsiekte ovina (JSRV).

### B. TÉCNICAS DE DIAGNÓSTICO

En la actualidad, el diagnóstico de la APO depende de las investigaciones clínicas y patológicas. En poblaciones donde se sospecha la enfermedad, su presencia debe confirmarse, al menos una vez, por examen histopatológico del tejido pulmonar afectado. Para tal examen es necesario tomar muestras de varios sitios afectados y, si es posible, de más de un animal. Esto se debe a que una neumonía bacteriana secundaria, que puede ser la causa inmediata de la muerte, enmascara a menudo las lesiones de la enfermedad primaria (tanto macro como microscópicas). En ausencia de pruebas serológicas específicas que puedan utilizarse para el diagnóstico de la APO en animales vivos, el control de la enfermedad se basa en inspecciones regulares de los rebaños y en una eliminación rápida de los casos sospechosos, y de sus crías en el caso de las hembras.

## 1. Identificación del agente

Aunque el herpesvirus ovino 1 (OvHV-1) se aisló exclusivamente de tumores de APO, los estudios epidemiológicos y las infecciones experimentales realizadas con posterioridad no arrojaron evidencias de que desempeñara un papel etiológico en la APO. El herpesvirus ovino 2 (OvHV-2) es el herpesvirus asociado con la fiebre catarral maligna de las ovejas y nunca se ha relacionado con la APO.

La asociación de los retrovirus con la APO se ha reconocido desde hace años. En varias ocasiones se han aislado lentivirus ovinos, pero estos virus no tienen papel etiológico en la APO (15, 16).

Durante años, la incapacidad para cultivar el JSRV y la ausencia de anticuerpos contra el virus en ovejas afectadas impidió la confirmación de este virus como el agente causal. Sin embargo, las técnicas biológicas moleculares supusieron un gran avance, sobre todo con la clonación y secuenciación del genoma de 7,5 kb del JSRV, después de la purificación de los viriones a partir de los lavados pulmonares de ovejas infectadas naturalmente (26). El JSRV se considera un betaretrovirus por su organización genética y sus proteínas estructurales. Aunque los genes clonados del JSRV, utilizados como sondas de hibridación, han revelado que existen secuencias homólogas endógenas tanto en el genoma de ovejas sanas como en las afectadas de APO (1, 7, 26), el JSRV es claramente exógeno y exclusivamente asociado con la APO (12). El JSRV se detecta constantemente en el líquido pulmonar, en el tumor, en las células mononucleares de la sangre periférica y en los tejidos linfoides de ovejas afectadas por la APO o en cabezas del rebaño no afectadas pero en contacto con las afectadas, y nunca se encuentra en ovejas de rebaños no afectados y sin historia de tumores. Recientemente, se ha obtenido un clon completo del provirus del JSRV a partir del ADN de un tumor de APO. Las partículas víricas de JSRV preparadas de este clon mediante transfección de una línea celular se utilizaron después para la inoculación intratraqueal de corderos neonatos. En dos de cuatro corderos se indujo un tumor de APO, lo que demostró que el JSRV es el agente causal de la APO (14).

No se conoce cual es el papel de las secuencia víricas endógenas en la etiología de la APO, si es que hay alguno, pero su expresión fetal puede explicar la aparente falta de respuesta inmune al JSRV exógeno en los animales maduros por inducción de la tolerancia..

### a) Métodos de reconocimiento de ácidos nucleicos

La secuenciación del JSRV y de secuencias endógenas en el genoma de la oveja ha permitido el desarrollo de pruebas de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) que detectan específicamente JSRV (1, 12). Usando este procedimiento tan sensible, se ha detectado JSRV en células mononucleares de la sangre periférica de ovejas no afectadas pero en contacto con rebaños con APO, así como en corderos infectados experimentalmente (5, 9). Estos hallazgos sugieren la posibilidad de desarrollar una prueba molecular para la identificación durante la fase preclínica de los animales infectados, ofreciendo la posibilidad de un método para el diagnóstico de la APO.

### b) Inoculación en animales

La APO sólo puede transmitirse con material que contiene JSRV, como los homogenizados tumorales y, más significativamente, el líquido pulmonar acelular concentrado de los casos naturales de APO. La fracción infecciosa del líquido contiene viriones de JSRV y actividad transcriptasa inversa (RT). Después de la inoculación experimental de ovejas adultas, la enfermedad clínica sólo aparece después de varios meses o años. Una inoculación similar en corderos recién nacidos acorta el período de incubación a 3–6 semanas, y muchas de las células epiteliales transformadas contienen partículas intracitoplásmicas de retrovirus (21, 25). Actualmente no hay un método práctico de diagnóstico de la APO por inoculación en animales.

### c) Aislamiento del virus

Algunos cultivos celulares preparados de tumores de corderos jóvenes pueden mantener la replicación vírica durante un corto período (10, 22). Después de la inoculación intratraqueal de los sobrenadantes concentrados de tales cultivos en tres corderos a las 24 horas del nacimiento, se detectó en un cordero una evidencia histológica clara de APO 6 meses más tarde (19). Se trata de estudios preliminares y en la actualidad no hay un método establecido para aislar el virus.

### c) Síntomas clínicos y patología

Como no existe un método de laboratorio fiable para el diagnóstico de la APO, los síntomas clínicos y las lesiones post-mortem son el método primario para establecer el diagnóstico de la enfermedad. Debido a que la APO tiene un largo período de incubación, la enfermedad clínica aparece con mayor frecuencia en ovejas de más de 2 años de edad, con un máximo de casos a los 3–4 años. En casos excepcionales la enfermedad se presenta en animales de 2–3 meses. Los síntomas más importantes son dificultades respiratorias progresivas, en particular después del ejercicio; la gravedad de los síntomas refleja la extensión del desarrollo tumoral en los pulmones. Una característica distintiva de la APO es la acumulación

de líquido en el tracto respiratorio, dando lugar a estertores húmedos que son fácilmente detectados por auscultación. La elevación de los cuartos traseros y el descenso de la cabeza de las ovejas afectadas puede ocasionar descargas nasales de líquido mucoso espumoso. La tos y la inapetencia no son comunes pero, una vez que se evidencian los síntomas clínicos, la pérdida de peso es progresiva y la enfermedad es mortal en semanas o meses. La muerte se acelera a menudo por la superposición de una neumonía bacteriana, debida en particular a *Mannheimia* (antigua *Pasteurella*) *haemolytica*. En los animales con afecciones clínicas, puede ayudar al diagnóstico la detección de una linfopenia caracterizada por una reducción en linfocitos T de tipo CD4+ y una neutrofilia correspondiente, pero los cambios no son patognómicos y no se detectan inicialmente en la infección experimental (17, 23).

En algunos países ocurre otra forma de APO (APO atípica), que generalmente se presenta como un hallazgo accidental en la necropsia o en el matadero (3, 4).

#### e) Necropsia

En la mayoría de los casos las lesiones de la APO se limitan a los pulmones, aunque puede ocurrir metástasis intra y extratorácica a los nódulos linfáticos y a otros tejidos. En los casos típicos, los pulmones están considerablemente agrandados y son más pesados de lo normal debido a las extensas lesiones nodulares coalescentes y grisáceas que afectan a la mayor parte del tejido pulmonar. Normalmente las lesiones se presentan en ambos pulmones, aunque la extensión a cada lado es variable. Los tumores son sólidos, grisáceos o ligeramente violáceos con brillo traslúcido, y a menudo separados del área pulmonar normal que está adyacente por una estrecha zona enfisematosa. La presencia de líquido espumoso blanco en el tracto respiratorio es una característica destacada incluso cuando las lesiones son tan pequeñas que no superan unos cuantos milímetros. En casos avanzados este líquido fluye de la tráquea cuando ésta se corta o se cuelga.

Se puede observar pleuresía sobre la superficie del tumor y, en algunos casos, se presentan abscesos en el tejido adenomatoso.

En la APO atípica, los tumores constituyen nódulos blancos duros que se presentan solitarios o formando agregados, con una superficie seca y con clara demarcación del tejido circundante. La presencia de líquido en exceso no es una característica notable.

En el caso de ovejas adultas que en un examen post-mortem parezcan haber muerto de pasteurelosis aguda se deben examinar cuidadosamente los pulmones, ya que las lesiones de APO pueden estar enmascaradas por la coexistencia de una bronconeumonía, una neumonía verminosa, una neumonía crónica progresiva (maedi-visna) o una combinación de ellas. En la necropsia se deben tomar muestras para PCR para examen del genoma del retrovirus. Se recomienda conservar estas muestras a  $-80^{\circ}\text{C}$  antes de extraer el ARN e iniciar la prueba.

#### f) Histopatología

Las lesiones se caracterizan histológicamente por la proliferación mayoritaria de neumocitos de tipo II, una célula secretora epitelial de los alvéolos pulmonares. Pueden estar implicadas también las células sin cilios y epiteliales de los bronquiolos terminales. Las células tumorales cuboidales o columnares reemplazan a las finas células alveolares normales y, a veces, forman crecimientos papiliformes que se proyectan en el alvéolo. Puede presentarse proliferación intrabronquiolar. En casos avanzados se puede desarrollar una fibrosis extensiva y, en ocasiones, pueden presentarse nódulos de tejido conectivo laxo con una sustancia mucopolisacáridica.

Una característica destacable es la acumulación de gran número de macrófagos alveolares en los alvéolos adyacentes a las lesiones neoplásicas.

Cuando la enfermedad concurre con un caso de maedi-visna, puede apreciarse una infiltración linfocítica perivascular, peribronquial e intersticial.

La apariencia histológica de la APO atípica es esencialmente la misma que la de la APO clásica, pero con una respuesta inflamatoria exagerada (sobre todo con linfocitos y células plasmáticas) y con fibrosis (3, 4).

Para una descripción más detallada de los aspectos clínicos, post-mortem e histopatológicos, el lector debe consultar otras fuentes (4, 18, 20, 24).

Parece existir una interacción sinérgica entre la APO y el maedi-visna. La transmisión lateral del virus maedi-visna parece aumentar en ovejas infectadas por APO (2, 6).

## 2. Pruebas serológicas

En la actualidad no hay pruebas de laboratorio en las que apoyar el diagnóstico clínico de la APO en animales vivos. El JSRV se ha asociado exclusivamente tanto con la forma típica como con la forma atípica de la APO, pero no se han detectado anticuerpos frente al virus en los sueros de ovejas afectadas, incluso por pruebas muy sensibles como las de inmunotransferencia (11).

## C. REQUISITOS PARA LAS VACUNAS Y LOS MATERIALES DE DIAGNÓSTICO

En la actualidad no hay disponibles vacunas ni materiales para el diagnóstico.

### REFERENCIAS

1. Bai J., Zhu R.-Y., Stedman K., Cousens C., Carlson J.O., Sharp J.M. & Demartini J.C. (1996). Unique long terminal repeat U3 sequences distinguish exogenous jaagsiekte sheep retroviruses associated with ovine pulmonary carcinoma from endogenous loci in the sheep genome. *J. Virol.*, 70, 3159–3168.
2. Dawson M., Venables C. & Jenkins C.E. (1985). Experimental infection of a natural case of sheep pulmonary adenomatosis with maedi-visna virus. *Vet. Rec.* 116, 588–589.
3. De Las Heras M., Calafat J.J., Jaime J.M., Garcia De Jalon J.A., Ferrer L.M., Garcia Goti M. & Minguíjon E. (1992). Sheep pulmonary adenomatosis (jaagsiekte) in slaughtered sheep: variation in pathological characteristics. *Medicina Veterinaria*, 9 (Suppl.), 52–53.
4. Garcia-Goti M., Cousens C., Cortabarria N., Extramiana A.B., Minguíjon E., Ortin A., Sharp J.M., De las Heras M. & Gonzalez L. (2000). Sheep pulmonary adenomatosis: different pathological forms of the tumour are associated with jaagsiekte retrovirus. *J. Comp. Pathol.*, 122, 55–65.
5. Gonzalez L., Garcia-Goti M., Cousens C., Dewar P., Cortabarria N., Extramiana B., Ortin A., De las Heras M. & Sharp J.M. (2001). Jaagsiekte sheep retrovirus can be detected in the peripheral blood during the preclinical period of sheep pulmonary adenomatosis. *J. Gen. Virol.*, 82, 1355–1358.
6. Gonzalez L., Juste R.A., Cuervo L.A., Idigoras I. & Saez De Ocariz C. (1993). Pathological and epidemiological aspects of the coexistence of maedi-visna and sheep pulmonary adenomatosis. *Res. Vet. Sci.*, 54, 140–146.
7. Hecht S.J., Carlson J.O. & De Martini J.C. (1994). Analysis of a type D retroviral capsid gene expressed in ovine pulmonary carcinoma and present in both affected and unaffected sheep genomes. *Virology*, 202, 480–484.
8. Herring A.J., Sharp J.M., Scott F.M.M. & Angus K.W. (1983). Further evidence for a retrovirus as the aetiological agent of sheep pulmonary adenomatosis (jaagsiekte). *Vet. Microbiol.*, 8, 237–249.
9. Holland M.J., Palmarini M., Garcia-Goti M., Gonzalez L., de las Heras M. & Sharp J.M. (1999). Jaagsiekte retrovirus establishes a pantropic infection of lymphoid cells of sheep with naturally and experimentally acquired pulmonary adenomatosis. *J. Virol.*, 73, 4004–4008.
10. Jassim F.A. (1988). Identification and characterisation of transformed cells in jaagsiekte, a contagious lung tumour of sheep. PhD thesis. University of Edinburgh, UK.
11. Ortin A., Minguíjon E., Dewar P., Garcia M., Ferrer L.M., Palmarini M., Gonzalez L., Sharp J.M. & De Las Heras M. (1997). Lack of a specific immune response against a recombinant capsid protein of Jaagsiekte sheep retrovirus in sheep and goats naturally affected by enzootic nasal tumour or sheep pulmonary adenomatosis. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, 61, 229–237.
12. Palmarini M., Cousens C., Dalziel R.G., Bai J., Stedman K., Demartini J.C. & Sharp J.M. (1996). The exogenous form of Jaagsiekte retrovirus (JSRV) is specifically associated with a contagious lung cancer of sheep. *J. Virol.*, 70, 1618–1623.
13. Palmarini M., Fan H. & Sharp J.M. (1997). Sheep Pulmonary Adenomatosis: a unique model of a retrovirus-associated cancer. *Trends Microbiol.*, 5, 478–483

14. Palmarini M., Sharp J.M., De las Heras M. & Fan H.Y. (1999). Jaagsiekte sheep retrovirus is necessary and sufficient to induce a contagious lung cancer in sheep. *J. Virol.*, 73, 6964–6972.
15. Perk K., De Villiers E.M., Dawson M., Herring H.J., Sharp J.M. & De Martini J.C. (1985). Comparison by Western blotting of the retroviruses associated with sheep adenomatosis (jaagsiekte). En: *Slow Virus Diseases in Sheep, Goats and Cattle*. Sharp J.M. & Hoff–Jorgensen R., eds. CEC Report EUR 8076 EN, Luxembourg, 349–351.
16. Querat G., Barban V., Sauze N., Vigne R., Payne A.L., York D.F., De Villiers E.M. & Verwoerd D.W. (1987). Characteristics of a novel lentivirus derived from South African sheep with pulmonary adenomatosis (jaagsiekte). *Virology*, 158, 158–167.
17. Rosadio R. & Sharp J.M. (1992). Leucocyte frequency alterations in sheep with naturally and experimentally infected lung cancer. *Medicina Veterinaria*, 9 (Suppl.), 49–51.
18. Rosadio R.H., Sharp J.M., Lairmore M.D., Dahlberg J.E. & De Martini J.C. (1988). Lesions and retroviruses associated with naturally occurring ovine pulmonary carcinoma (sheep pulmonary adenomatosis). *Vet. Pathol.*, 25, 58–66.
19. Sharp J.M. & Angus K.W. (1990). Sheep pulmonary adenomatosis: studies in its aetiology. En: *Maedi–Visna and Related Diseases. Developments in Veterinary Virology*. Petursson G. & Hoff–Jorgensen R., eds. Martinus Nijhoff, The Hague, The Netherlands, 157–175.
20. Sharp J.M. & Angus K.W. (1990). Sheep pulmonary adenomatosis: clinical, pathological and epidemiological aspects. En: *Maedi–Visna and Related Diseases. Developments in Veterinary Virology*. Petursson G. & Hoff–Jorgensen R., eds. Martinus Nijhoff, The Hague, The Netherlands, 177–185.
21. Sharp J.M., Angus K.W., Gray E.W. & Scott F.M.M. (1983). Rapid transmission of sheep pulmonary adenomatosis (jaagsiekte) in young lambs. *Arch. Virol.*, 78, 89–95.
22. Sharp J.M., Herring A.J., Angus K.W., Scott F.M.M. & Jassim F.A. (1985). Isolation and in vitro propagation of a retrovirus from sheep pulmonary adenomatosis. En: *Slow Virus Diseases in Sheep, Goats and Cattle*. Sharp J.M. & Hoff–Jorgensen R., eds. CEC Report EUR 8076 EN, Luxembourg, 345–348.
23. Summers C., Neill W., Dewar P., Gonzalez L., van der Molen R., Norval M. & Sharp J.M. (2002). Systemic immune responses following infection with jaagsiekte sheep retrovirus and in the terminal stages of ovine pulmonary adenocarcinoma. *J. Gen. Virol.*, 83, 1753–1757.
24. Verwoerd D.W., Tustin R.C. & Payne A. (1985). Jaagsiekte: An infectious pulmonary adenomatosis of sheep. En: *Comparative pathobiology of Viral Diseases*, Vol. II. Olsen R.G., Krakowa S. & Blakeslee J.R., eds. CRC Press, Florida, USA, 53–75.
25. Verwoerd D.W., Williamson A. & De Villiers E.M. (1980). Aetiology of jaagsiekte: transmission by means of cellular fractions and evidence for the involvement of a retrovirus. *Onderstepoort J. Vet. Res.*, 47, 275–280.
26. York D.F., Vigne R., Verwoerd D.W. & Querat G. (1992). Nucleotide sequence of the jaagsiekte retrovirus, an exogenous and endogenous type D and B retrovirus of sheep and goats. *J. Virol.*, 66, 4930–4939.

\*

\* \*