

**DIVERGENCIA FILOGENÉTICA MOLECULAR DE LAS PROTEÍNAS ACE – 2
(ENZIMA CONVERTIDORA DE ANGIOTENSINA II) Y TMPRSS – 2 (SERIN – PROTEASA
TRANSMEMBRANA – 2) EN VERTEBRADOS Y SU RELACIÓN
CON EL POTENCIAL DE INFECCIÓN POR SARS – COV – 2**

UNIVERSIDAD INTERNACIONAL SEK

FACULTAD DE INGENIERÍA Y CIENCIAS APLICADAS

Trabajo de Fin de Carrera Titulado:

**“DIVERGENCIA FILOGENÉTICA MOLECULAR DE LAS PROTEÍNAS ACE – 2
(ENZIMA CONVERTIDORA DE ANGIOTENSINA II) Y TMPRSS – 2 (SERIN –
PROTEASA TRANSMEMBRANA – 2) EN VERTEBRADOS Y SU RELACIÓN CON
EL POTENCIAL DE INFECCIÓN POR SARS – COV – 2”**

Realizado por:

ESTEBAN DAVID YÉPEZ PASQUEL

Director del proyecto:

Dr. Juan Carlos Navarro, Ph.D.

Como requisito para la obtención del título de:

INGENIERÍA EN BIOTECNOLOGÍA

Quito, 29 de septiembre de 2021

**DIVERGENCIA FILOGENÉTICA MOLECULAR DE LAS PROTEÍNAS ACE – 2
(ENZIMA CONVERTIDORA DE ANGIOTENSINA II) Y TMPRSS – 2 (SERIN – PROTEASA
TRANSMEMBRANA – 2) EN VERTEBRADOS Y SU RELACIÓN
CON EL POTENCIAL DE INFECCIÓN POR SARS – COV – 2**

**DIVERGENCIA FILOGENÉTICA MOLECULAR DE LAS PROTEÍNAS ACE – 2
(ENZIMA CONVERTIDORA DE ANGIOTENSINA II) Y TMPRSS – 2 (SERIN – PROTEASA
TRANSMEMBRANA – 2) EN VERTEBRADOS Y SU RELACIÓN
CON EL POTENCIAL DE INFECCIÓN POR SARS – COV – 2**

DECLARACIÓN JURAMENTADA

Yo, ESTEBAN DAVID YÉPEZ PASQUEL, con cédula de identidad # 1724010366-0, declaro bajo juramento que el trabajo aquí desarrollado es de mi autoría, que no ha sido previamente presentado por ningún grado a calificación profesional; y, que he consultado las referencias bibliográficas que se incluyen en este documento.

A través de la presente declaración, cedo mis derechos de propiedad intelectual correspondientes a este trabajo, a la UNIVERSIDAD INTERNACIONAL SEK, según lo establecido por la Ley de Propiedad Intelectual, por su reglamento y por la normativa institucional vigente.



FIRMA

1724010366-0

**DIVERGENCIA FILOGENÉTICA MOLECULAR DE LAS PROTEÍNAS ACE – 2
(ENZIMA CONVERTIDORA DE ANGIOTENSINA II) Y TMPRSS – 2 (SERIN – PROTEASA
TRANSMEMBRANA – 2) EN VERTEBRADOS Y SU RELACIÓN
CON EL POTENCIAL DE INFECCIÓN POR SARS – COV – 2**

DECLARATORIA

El presente trabajo de investigación titulado:

**“DIVERGENCIA FILOGENÉTICA MOLECULAR DE LAS PROTEÍNAS ACE – 2
(ENZIMA CONVERTIDORA DE ANGIOTENSINA II) Y TMPRSS – 2 (SERIN –
PROTEASA TRANSMEMBRANA – 2) EN VERTEBRADOS Y SU RELACIÓN CON
EL POTENCIAL DE INFECCIÓN POR SARS – COV – 2”**

Realizado por:

ESTEBAN DAVID YÉPEZ PASQUEL

Como Requisito para la obtención del título de:

INGENIERÍA EN BIOTECNOLOGÍA

Ha sido dirigido por el profesor

JUAN CARLOS NAVARRO, Ph.D

Quien considera que constituye un trabajo original de su autor

FIRMA

**DIVERGENCIA FILOGENÉTICA MOLECULAR DE LAS PROTEÍNAS ACE – 2
(ENZIMA CONVERTIDORA DE ANGIOTENSINA II) Y TMPRSS – 2 (SERIN – PROTEASA
TRANSMEMBRANA – 2) EN VERTEBRADOS Y SU RELACIÓN
CON EL POTENCIAL DE INFECCIÓN POR SARS – COV – 2**

LOS PROFESORES INFORMANTES

Los Profesores Informantes:

JOSÉ RUBÉN RAMIREZ

ALBERTO ALEJANDRO AGUIRRE

Después de revisar el trabajo presentado,

Lo han calificado como apto para su defensa oral ante

El tribunal examinador



FIRMA



FIRMA

Quito, 29 de septiembre de 2021

**DIVERGENCIA FILOGENÉTICA MOLECULAR DE LAS PROTEÍNAS ACE – 2
(ENZIMA CONVERTIDORA DE ANGIOTENSINA II) Y TMPRSS – 2 (SERIN – PROTEASA
TRANSMEMBRANA – 2) EN VERTEBRADOS Y SU RELACIÓN
CON EL POTENCIAL DE INFECCIÓN POR SARS – COV – 2**

DEDICATORIA

A mi mamá, por hacerme todo lo que soy.

**DIVERGENCIA FILOGENÉTICA MOLECULAR DE LAS PROTEÍNAS ACE – 2
(ENZIMA CONVERTIDORA DE ANGIOTENSINA II) Y TMPRSS – 2 (SERIN – PROTEASA
TRANSMEMBRANA – 2) EN VERTEBRADOS Y SU RELACIÓN
CON EL POTENCIAL DE INFECCIÓN POR SARS – COV – 2**

AGRADECIMIENTO

A mi familia, a mis amigos y a todas las personas que han creído en mi alguna vez.

**DIVERGENCIA FILOGENÉTICA MOLECULAR DE LAS PROTEÍNAS ACE – 2
(ENZIMA CONVERTIDORA DE ANGIOTENSINA II) Y TMPRSS – 2 (SERIN – PROTEASA
TRANSMEMBRANA – 2) EN VERTEBRADOS Y SU RELACIÓN
CON EL POTENCIAL DE INFECCIÓN POR SARS – COV – 2**

Para someter a:

To be submitted:

**Divergencia filogenética molecular de las proteínas ACE – 2 (enzima convertidora de
angiotensina 2) y TMPRSS – 2 (serin – proteasa transmembrana – 2) en vertebrados y
su relación con el potencial de infección por SARS – Cov – 2**

Esteban David Yépez Pasquel¹, Juan Carlos Navarro Castro²

¹Universidad Internacional SEK, Facultad de Ingeniería y Ciencias Aplicadas, Quito, Ecuador

²Universidad Internacional SEK, Facultad de Ciencias de la Salud, Quito, Ecuador

*AUTOR DE CORRESPONDENCIA: Juan Carlos Navarro, PhD, Universidad Internacional
SEK, Facultad de Ciencias de la Salud, Quito, Ecuador.

Telefono: +593, email: juancarlos.navarro@uisek.edu.ec

Título corto o Running title: Filogenética molecular de ACE-2 y TMPRSS-2 y susceptibilidad
a con Sars – Cov – 2 en vertebrados.

**DIVERGENCIA FILOGENÉTICA MOLECULAR DE LAS PROTEÍNAS ACE – 2
(ENZIMA CONVERTIDORA DE ANGIOTENSINA II) Y TMPRSS – 2 (SERIN – PROTEASA
TRANSMEMBRANA – 2) EN VERTEBRADOS Y SU RELACIÓN
CON EL POTENCIAL DE INFECCIÓN POR SARS – COV – 2**

Resumen.

Las enfermedades virales zoonóticas representan una amenaza constante a los sistemas de salud pública mundialmente y, debido a los hábitos expansivos de nuestra economía nos vemos expuestos constantemente a posibles rebrotes o nuevos virus para las que no estamos preparados y, las cuales pueden propagarse descontroladamente debido al estado de hiper – globalización en el que vivimos. Como consecuencia, es importante conocer cuáles son los mecanismos de emergencia de estos virus y también, factores que determinan la susceptibilidad de los distintos organismos a la infección de patógenos, así como también su potencial capacidad de transmitirlos a otros organismos y, la relación evolutiva o ecológica entre ellos para establecer posibles estrategias que permitan prevenir la dispersión masiva de dichos patógenos. Se realizaron análisis filogenéticos – moleculares de secuencias de las principales proteínas relacionadas con los mecanismos de invasión celular del virus SARS – CoV – 2 (causante de la pandemia actual Covid-19) provenientes de distintos animales y, se consideraron las relaciones evolutivas con respecto al receptor de ingreso celular del virus con la capacidad de distintos animales vertebrados estar involucrados en el spillover (salto de organismo), portar, replicar y transmitir el virus de forma zoonótica. Mediante análisis bioinformáticos se construyeron matrices de alieneamiento de las secuencias de ACE2-2 y TMPRSS-2 de las clases principales de vertebrados y, se obtuvieron hipótesis (árboles) filogenéticas que permiten visualizar las relaciones evolutivas existentes en torno a las enzimas mencionadas. La topología de los árboles muestra un patrón cercano a la taxonomía y evolución de los organismos y, adicionalmente, sugieren una susceptibilidad decreciente desde el punto más interno del árbol (mamíferos-primates) hacia los clados mas externos (peces). Los primates son, entonces, los vertebrados más susceptibles puesto que sus enzimas son las más similares a

**DIVERGENCIA FILOGENÉTICA MOLECULAR DE LAS PROTEÍNAS ACE – 2
(ENZIMA CONVERTIDORA DE ANGIOTENSINA II) Y TMPRSS – 2 (SERIN – PROTEASA
TRANSMEMBRANA – 2) EN VERTEBRADOS Y SU RELACIÓN
CON EL POTENCIAL DE INFECCIÓN POR SARS – COV – 2**

aquellas expresadas por los seres humanos, posteriormente los mamíferos carnívoros (cánidos, félidos, mustélidos y pangolines) y quirópteros (murciélagos) que poseen las secuencias de estas enzimas más cercanas evolutivamente y podrían explicar su participación en la transmisión de las enfermedades sin la presencia de cuadros clínicos fatales.

Palabras Clave: Receptor celular, Filogenética, Susceptibilidad, SARS, Zoonosis, Enfermedades Emergentes, Vertebrados.

Abstract.

Zoonotic viral diseases represent a constant threat to public health systems around the world and, due to the expansive habits of our economy we have been continually exposed to possible outbreaks of new viruses for which we are not yet prepared and which could propagate uncontrollably due to the hyper – globalization state we live in. As a consequence, it is important to learn about the emergence mechanisms of these viruses, as well as, the determining factors behind the susceptibility of different organisms to infection from pathogens, their potential capacity for spreading them to other organisms and, the evolutionary and ecological relationship between them in order to establish strategies that are likely to prevent the massive spreading of said pathogens. Phylogenetic – molecular analysis were carried out using sequences of the main proteins involved in the cellular invasion mechanisms of SARS – CoV – 2 virus that caused the current Covid – 19 pandemic, these sequences belong to different animals and analyzing their evolutionary relationships regarding the cellular entry receptor for the virus compared to the ability of different vertebrates involved in the spillover, carrying, replication and zoonotic transmission of the virus. Through bioinformatic analysis, sequence matrixes were aligned corresponding to ACE – 2 and TMPRSS – 2, taking in consideration the

**DIVERGENCIA FILOGENÉTICA MOLECULAR DE LAS PROTEÍNAS ACE – 2
(ENZIMA CONVERTIDORA DE ANGIOTENSINA II) Y TMPRSS – 2 (SERIN – PROTEASA
TRANSMEMBRANA – 2) EN VERTEBRADOS Y SU RELACIÓN
CON EL POTENCIAL DE INFECCIÓN POR SARS – COV – 2**

main classes of vertebrates for the obtention of phylogenetic hypothesis (trees) that allow the visualization of existent evolutionary relationships regarding the aforementioned enzymes. The topology of these trees shows a pattern close to taxonomy and evolution of the organisms included and, in addition, they suggest a decreasing susceptibility starting at the innermost point in the trees (Primates – Mammals) towards the outermost clads (fish). Primates are, then, the most susceptible vertebrates due to the similarities shared in their enzymes with the ones expressed by human beings, furthermore, carnivore mammals (canids, felids, mustelids and pangolins) as well as chiropters (bats) who possess evolutionarily closer sequences might explain their participation in the transmission of these diseases without the exhibition of fatal clinical manifestations.

Key Words: Cell receptor, Phylogenetics, Susceptibility, SARS, Zoonosis, Emerging Diseases, Vertebrates

Introducción

Entre los microorganismos conocidos, los virus, parecen ser más aptos para la patogenicidad, no sólo debido a que poseen mecanismos de adaptación tradicionales como las mutaciones aleatorias, por ejemplo; sino también están expuestos a recombinación y reorganización de sus secuencias codificantes y, de esta forma, son capaces de infectar constantemente a nuevos hospedadores o, paralelamente, adaptarse a nuevas condiciones ambientales (La Rosa, Fartini, Libera, Iaconelli, & Muscillo, 2012).

Los Coronavirus (CoV), son virus de cadena simple de ARN que pertenecen a la familia Coronaviridae, y engloban a virus que varían en longitud de cadena (60 – 200 nm) (McCormick, Jacobs, & Mellors, 2021). Son patógenos respiratorios principalmente, aunque se han descrito

**DIVERGENCIA FILOGENÉTICA MOLECULAR DE LAS PROTEÍNAS ACE – 2
(ENZIMA CONVERTIDORA DE ANGIOTENSINA II) Y TMPRSS – 2 (SERIN – PROTEASA
TRANSMEMBRANA – 2) EN VERTEBRADOS Y SU RELACIÓN
CON EL POTENCIAL DE INFECCIÓN POR SARS – COV – 2**

otros mecanismos de transcripción distintos al contacto directo con secreción respiratoria contaminada, como podría ser la transmisión fecal-oral, que se ha demostrado para la cepa causante de SARS (La Rosa, Fartini, Libera, Iaconelli, & Muscillo, 2012), y constituye, en la actualidad, la familia de virus más importante como amenaza para la población y el sistema de salud pública mundial, debido al brote pandémico que se originó en la ciudad de Wuhan (China), como se reportó el 31 de diciembre del año 2019, y se ha diseminado mundialmente llegando a afectar a 219 países confirmados durante el año de 2020, causando un número alarmante de 136'996.364 casos y 2'954.832 muertes (WHO, 2021).

Debido a la velocidad con la que se diseminó la enfermedad, el colapso de los sistemas de salud, tanto en los países industrializados (o del primer mundo), como en los países en vías de desarrollo (o del tercer mundo), fue inevitable (WHO, 2021). Razón por la cual se vio la necesidad de declarar estados de emergencia en casi todos los países afectados, provocando el confinamiento de los individuos a sus hogares y, poniendo en riesgo los principales sectores industriales de las diferentes economías en el mundo (WHO, 2021). Producto de esta necesidad se comenzaron los ensayos experimentales para el desarrollo de más de 200 posibles vacunas para el virus, de las cuales aproximadamente 60 han ingresado efectivamente en fases clínicas durante el año 2021, esto ha sido posible debido a que la OMS, en conjunto con otros organismos internacionales apliquen medidas para lograr el objetivo de obtener vacunas viables en tiempo record para historia de la medicina mundial, es decir, agilizar el estudio y el desarrollo de vacunas seguras y eficaces contra el COVID – 19, incrementar la capacidad de producción al máximo posible de las mismas y promover la colaboración con los gobiernos y fabricantes de las mismas para “garantizar la asignación justa y equitativa” de dosis a todos los países. A esta propuesta se la denominó “Mecanismo COVAX” y constituye la única iniciativa de escala

**DIVERGENCIA FILOGENÉTICA MOLECULAR DE LAS PROTEÍNAS ACE – 2
(ENZIMA CONVERTIDORA DE ANGIOTENSINA II) Y TMPRSS – 2 (SERIN – PROTEASA
TRANSMEMBRANA – 2) EN VERTEBRADOS Y SU RELACIÓN
CON EL POTENCIAL DE INFECCIÓN POR SARS – COV – 2**

mundial que se haya planteado con el fin de cumplir la meta de inmunizar a la mayor cantidad de habitantes en el menor tiempo posible. El procedimiento de desarrollo ha sido el mismo que se ha utilizado para el resto de vacunas producidas en la historia, es decir, que inicia con un proceso de investigación y evaluación que pretende identificar y/o aislar los componentes antigénicos de la estructura viral que se requieren para provocar una respuesta inmunitaria sin la proliferación viral. Una vez que se ha logrado demostrar la generación de respuesta inmunitaria utilizando las moléculas estudiadas la vacuna es aprobada para ensayos clínicos en seres humanos, la cual, a su vez, consta de tres fases. Una primera fase en la que se administran dosis experimentales a grupos pequeños de voluntarios (sin factores de riesgo) con el fin de evaluar el efecto dosis – respuesta; en la segunda fase involucra un estudio de tipo caso – control en el que se evalúan grupos más amplios de voluntarios pertenecientes a los distintos grupos etarios y tiene como fin determinar el desarrollo de efectos secundarios o cambios en la respuesta inmunitaria que sean atribuibles a las características de cada grupo de estudio y que puedan relacionarse confiablemente a los efectos de la vacuna; y la tercera fase que involucra un ensayo clínico de casos y controles de tipo “doble – ciego” que pretende corroborar los resultados revelados en la fase 2 (WHO, 2021). Al momento se reportan 733’287.398 dosis de vacunas administradas lo cual equivale a aproximadamente el 40% de la población mundial (WHO, 2021)

Epidemiología molecular del SARS

En la actualidad, se conoce que la secuencia del virus SARS – Cov2 es 96% idéntica a la del coronavirus de murciélago (*Rhinopholus affinis*) RaTG15, en la provincia de Yunnan, China, otro virus que se asemeja en identidad nucleotídica es el coronavirus de murciélago

**DIVERGENCIA FILOGENÉTICA MOLECULAR DE LAS PROTEÍNAS ACE – 2
(ENZIMA CONVERTIDORA DE ANGIOTENSINA II) Y TMPRSS – 2 (SERIN – PROTEASA
TRANSMEMBRANA – 2) EN VERTEBRADOS Y SU RELACIÓN
CON EL POTENCIAL DE INFECCIÓN POR SARS – COV – 2**

RmYN02, que muestra hasta un 97% de semejanza en el segmento codificante más largo (Prince, Smith, Radford, Solomon, Hughes, & Patterson, 2021). Esto ha llevado a la hipótesis de que el virus haya resultado de una recombinación entre una clase de coronavirus de murciélago y otra clase desconocida de coronavirus (Sharun, y otros, 2021).

Una de las primeras hipótesis fue que el virus podría haber sido transportado en los pangolines malasio que se contrabandean al interior de China, tras la demostración de que las células del organismo son aptas para el desarrollo del virus, sin embargo, no se logró evidenciar la presencia del virus en ningún ejemplar silvestre, esto sugiere que los pangolines malasio que se encontraban contaminados por el patógeno en China, fueron contagiados después de ser abducidos del medio silvestre y, muy probablemente por el contacto con humanos (Sharun, y otros, 2021). Además, se ha logrado evidenciar los patrones de infección del virus en distintas clases de animales mediante el estudio de sus receptores ACE – 2 que en muchos casos definen la inmunidad al patógeno o el permiso para su ingreso a las células del hospedador, de esta forma se ha logrado predecir en distintos animales domésticos y silvestres, cuáles son las probabilidades de infección por el virus (Martínez-Hernández, y otros, 2020). Y, finalmente se ha demostrado que los animales invertebrados como los mosquitos no constituyen hospedadores para el patógeno, debido a que no se logró evidenciar replicación viral dentro de las células de mosquitos del género *Aedes* (Martínez-Hernández, y otros, 2020).

Conocer en qué punto se adaptó el patógeno para poder infectar a los humanos es crítico para nuestra comprensión de futuros brotes, así como los actuales, de igual manera que define nuestra aproximación a la prevención de COVID – 19, además nos puede proveer de información y experiencia para manejar otras posibles enfermedades de igual o mayor riesgo

**DIVERGENCIA FILOGENÉTICA MOLECULAR DE LAS PROTEÍNAS ACE – 2
(ENZIMA CONVERTIDORA DE ANGIOTENSINA II) Y TMPRSS – 2 (SERIN – PROTEASA
TRANSMEMBRANA – 2) EN VERTEBRADOS Y SU RELACIÓN
CON EL POTENCIAL DE INFECCIÓN POR SARS – COV – 2**

(Martínez-Hernández, y otros, 2020). Si bien, es ampliamente aceptado que el virus evolucionó de un coronavirus de murciélago, no se ha identificado adecuadamente un hospedador intermedio y, considerando que es muy poco probable que esta pandemia modifique de raíz los hábitos de las comunidades humanas en torno al consumo y la explotación de recursos naturales, es necesario poder demostrar ciertas conexiones o pasos en el ciclo de transmisión, que evidencien estas conductas nocivas que exacerban la destrucción de hábitats, sobre todo en las áreas rurales y que, abren el camino para la transmisión zoonótica de enfermedades (Moratelli & Calisher, 2015).

No obstante, es posible que ciertas enfermedades como COVID – 19 no sean erradicadas efectivamente, esto es en gran parte debido a que los procesos de vacunación global requieren de una cantidad excesiva de tiempo y recursos, además de que se desconoce la duración de cualquier tipo de inmunidad, y es necesario conocer cuáles son los posibles reservorios naturales que puede tener el virus, de manera que se puedan establecer planes efectivos que prevengan el rebrote de la enfermedad desde dichos reservorios, de otro modo la erradicación del virus en los núcleos sociales humanos solo sirve como tratamiento paliativo (Prince, Smith, Radford, Solomon, Hughes, & Patterson, 2021).

SARS y las proteínas receptoras de la membrana celular

Los virus cuentan con distintos mecanismos para apropiarse de la maquinaria de las células hospedadoras e iniciar sus ciclos de replicación, en este caso, el virus SARS – CoV – 2 cuenta con un receptor funcional que participa de manera fundamental en el desarrollo de la fisiopatología del COVID19, el receptor en cuestión es la Enzima Convertidora de Angiotensina 2 (ACE – 2), una enzima de tipo endopeptidasa que se expresa en la membrana

**DIVERGENCIA FILOGENÉTICA MOLECULAR DE LAS PROTEÍNAS ACE – 2
(ENZIMA CONVERTIDORA DE ANGIOTENSINA II) Y TMPRSS – 2 (SERIN – PROTEASA
TRANSMEMBRANA – 2) EN VERTEBRADOS Y SU RELACIÓN
CON EL POTENCIAL DE INFECCIÓN POR SARS – COV – 2**

de células en los epitelios mucosos como, por ejemplo, la mucosa del tracto digestivo, la mucosa del sistema excretor, la mucosa de la cavidad bucal – nasal – faríngea, la mucosa del tracto respiratorio, etc. (Bourgonje, y otros, 2019).

Para poder comprender las interacciones entre SARS – CoV – 2 y ACE – 2, como su receptor celular, es necesario profundizar un poco acerca de la estructura proteica de la enzima en cuestión. A grandes rasgos la arquitectura de la enzima consta de 805 residuos aminoacídicos dispuestos en torno a una estructura con forma de canal, la cual se conforma principalmente de cadenas de aminoácidos dispuestas como hélices alfa con una sola porción dispuesta como lámina beta con un sitio catalítico ubicado en el interior del canal; estas hélices alfa provocan la formación de crestas alrededor de la superficie exterior de la molécula, las cuales podrían servir como región de unión para la glicoproteína S (“Spike”) de la envoltura del SARS – CoV – 2 (Prabakaran, Xiao, & Dimitrov, 2004). Ya que la parte superior de la molécula se encuentra alejada de la membrana celular, es más fácil de alcanzar que las regiones más cercanas a la membrana. Adicionalmente, la disposición geométrica de las estructuras proteicas provoca la formación de protuberancias y concavidades en la superficie de la molécula que podrían favorecer a la complementariedad estructural entre las moléculas virales y el receptor celular (Prabakaran, Xiao, & Dimitrov, 2004). Por otro lado, los análisis estructurales sugieren que estas crestas acumulan cargas negativas, las cuales se complementan con las cargas positivas del dominio de unión al receptor del SARS – CoV – 2, estas cargas se encuentran rodeadas de parches hidrofóbicos en la estructura de la enzima, al mismo tiempo que carece de carbohidratos en su parte superior, por lo tanto, estos parches hidrofóbicos podrían actuar como aislantes favoreciendo la unión del virus al receptor (Prabakaran, Xiao, & Dimitrov, 2004).

Fisiológicamente, ACE – 2 es una enzima clave que juega un papel esencial en la

**DIVERGENCIA FILOGENÉTICA MOLECULAR DE LAS PROTEÍNAS ACE – 2
(ENZIMA CONVERTIDORA DE ANGIOTENSINA II) Y TMPRSS – 2 (SERIN – PROTEASA
TRANSMEMBRANA – 2) EN VERTEBRADOS Y SU RELACIÓN
CON EL POTENCIAL DE INFECCIÓN POR SARS – COV – 2**

regulación del sistema renina – angiotensina – aldosterona (RAS), cuya finalidad es mantener el equilibrio hidro – electrolítico en el organismo, al mismo tiempo que regula la volemia y, consecuentemente la tensión arterial (Guyton & Hall, 2006). A grandes rasgos, el mecanismo requiere de la producción de angiotensinógeno, un péptido de alto peso molecular precursor de angiotensina que requiere de la actividad enzimática de la enzima renina para convertirse en su forma activa angiotensina 1, esta representa la forma activa del sistema y activa todos los mecanismos vaso-activos, y reguladores de líquidos tanto en el sistema excretor como en la periferia del organismo, una vez que la angiotensina 1 ha cumplido con su objetivo esta es degradada por la Enzima Convertidora de Angiotensina 1, la cual es una endopeptidasa muy similar en tamaño y en secuencia a la Enzima Convertidora de Angiotensina 2 y, cuya actividad es semejante aunque actúa sobre una molécula distinta (Guyton & Hall, 2006).

La ACE, degrada la Angiotensina 1 terminando su actividad biológica y produciendo 2 moléculas de angiotensina 2, que posee actividad vaso – activa y de regulación hídrica, pero con funciones opuestas a su precursora (Arias, 2005). Es decir, por medio de su unión al receptor para angiotensina tipo 1, la angiotensina 2 es capaz de inducir una actividad endotelial vasoconstrictora, que incrementa la excreción renal de sodio y potasio, promueve la síntesis de aldosterona y, como consecuencia provoca la elevación de la tensión sanguínea (Arias, 2005). También es capaz de inducir estados de estrés oxidativo, pro – inflamatorios, hipertróficos y fibróticos (Arias, 2005) (Guyton & Hall, 2006).

Finalmente, se sabe que los sistemas hormonales cuentan con distintos niveles de regulación, los cuales incrementan su complejidad dependiendo de la capacidad de control que ejercen sobre eje hormonal; en este caso, el mecanismo de regulación inmediato o a corto plazo

**DIVERGENCIA FILOGENÉTICA MOLECULAR DE LAS PROTEÍNAS ACE – 2
(ENZIMA CONVERTIDORA DE ANGIOTENSINA II) Y TMPRSS – 2 (SERIN – PROTEASA
TRANSMEMBRANA – 2) EN VERTEBRADOS Y SU RELACIÓN
CON EL POTENCIAL DE INFECCIÓN POR SARS – COV – 2**

se realiza por medio de un mecanismo de “feedback” negativo: esto quiere decir que, al ejercer su actividad proteasa, ACE – 2 genera una molécula de Angiotensina 2 que va a ejercer su actividad fisiológica, bien sea mediante el AT1R (Receptor de Angiotensina tipo 1) o AT2R (Receptor de Angiotensina tipo 2), al mismo tiempo que se libera una molécula de angiotensina de 7 o 9 residuos; esta molécula es capaz de activar los receptores codificados por el protogen “Mas” en la membrana celular (perteneciente a la familia de los receptores asociados a proteínas G) y contrarrestan directamente los efectos de angiotensina 1 y 2, de este modo conforme incrementa la secreción de angiotensinógeno, la concentración de angiotensina 1 y 2 libre incrementa también, sin embargo, simultáneamente a la liberación de angiotensina 1 y 2, también incrementan los niveles de angiotensina (1-9 y 1-7) las cuales eventualmente detienen y/o contrarrestan la actividad del RAS (Figura 1) (Ni, y otros, 2020) (Jerez & De Bruno, 2013).

Estas funciones podrían determinar el estado inflamatorio aberrante que manifiestan los pacientes de Covid – 19 mediante el secuestro de los receptores de angiotensina 2, perpetuando los estados pro – inflamatorios por medio de la estimulación exagerada de los receptores AT1R (Almaguer, Cuello, & Almaguer, 2020) (Jerez & De Bruno, 2013). Sin embargo, el mecanismo de entrada celular del COVID – 19 es complejo y se desconoce con exactitud cuáles sean sus particularidades con totalidad, aun así, se sabe que la entrada de SARS – CoV – 2 está mediada por el recorte de su glicoproteína transmembrana de tipo “spike” y, existen diferentes proteasas que podrían contribuir en el proceso que, aunque se desconoce el mecanismo de recorte, se especula que entre las posibles moléculas que participan en esta actividad se encuentran: TMPRSS – 2 (Serin – proteasa transmembrana 2 o proteasa transmembrana de la serina 2), cathepsina B y L, y furina (Deng, ur Rasool, Russell, Natesan, & Asangani, 2021). De estas, solo se posee evidencia actualmente de la participación de TMPRSS – 2 en el recorte de la

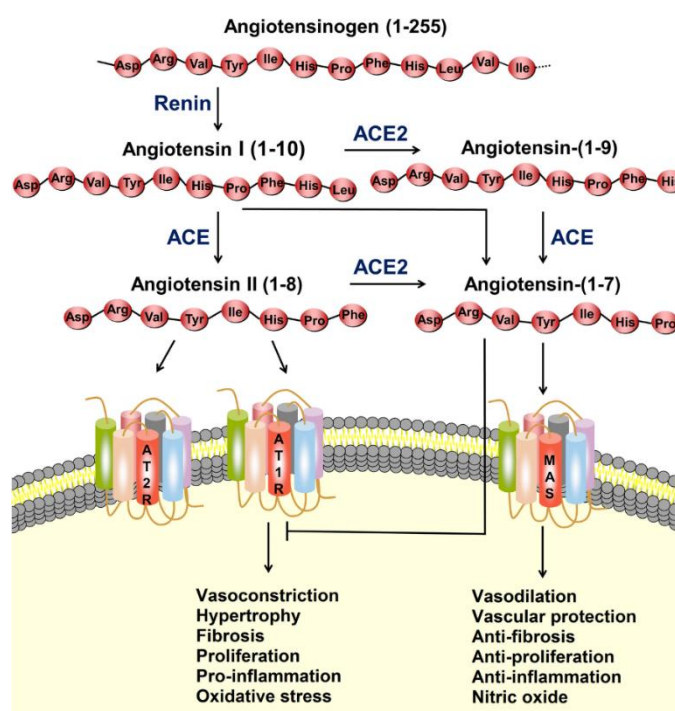
**DIVERGENCIA FILOGENÉTICA MOLECULAR DE LAS PROTEÍNAS ACE – 2
(ENZIMA CONVERTIDORA DE ANGIOTENSINA II) Y TMPRSS – 2 (SERIN – PROTEASA
TRANSMEMBRANA – 2) EN VERTEBRADOS Y SU RELACIÓN
CON EL POTENCIAL DE INFECCIÓN POR SARS – COV – 2**

glicoproteína S que activa la fusión de la membrana mediante modificaciones conformacionales radicales e irreversibles; Por lo tanto, la entrada de SARS – CoV – 2 requiere de interacciones complejas entre el receptor de unión a la célula (ACE2) y TMPRSS – 2 para provocar la “fusión” del virus a la célula (Hoffman, y otros, 2020). TMPRSS – 2, por su parte es una proteasa que consta de una región citoplasmática, una región transmembrana y una región extracelular; esta región extracelular cuenta con 3 dominios, un dominio LDLRA (Receptor para lipoproteínas de baja densidad) para unión de iones calcio, un dominio SRCR (Receptor para cisteína de tipo “scavenger”) y un dominio peptidasa S1 donde se encuentra el sitio activo determinado por los residuos H296, D345 y S441 (Deng, ur Rasool, Russell, Natesan, & Asangani, 2021). Por otro lado, ACE2, también consta de una región citoplasmática, transmembrana y extracelular (Extremo N-terminal) en donde se encuentra un dominio metaloproteasa que sufre un recorte en su extremo N – terminal desde el residuo 697 hasta el 716, requerido para que ACE – 2 pueda interactuar con la proteína S del SARS – CoV – 2 (Deng, ur Rasool, Russell, Natesan, & Asangani, 2021). En otras palabras, TMPRSS – 2 participa en el ingreso de SARS – CoV – 2 a la célula hospedadora por medio de dos mecanismos: la interacción con el extremo N – terminal de ACE – 2 para permitir la asociación de la glicoproteína S del virus al dominio metaloproteasa de la enzima, y la interacción con la glicoproteína S del virus que permite la fusión con la membrana celular (Figura 2) (Deng, ur Rasool, Russell, Natesan, & Asangani, 2021).

**DIVERGENCIA FILOGENÉTICA MOLECULAR DE LAS PROTEÍNAS ACE – 2
(ENZIMA CONVERTIDORA DE ANGIOTENSINA II) Y TMPRSS – 2 (SERIN – PROTEASA
TRANSMEMBRANA – 2) EN VERTEBRADOS Y SU RELACIÓN
CON EL POTENCIAL DE INFECCIÓN POR SARS – COV – 2**

Esto implica que comprensión de este mecanismo de invasión celular del virus puede ser crucial, no solo para la explicación de patrones epidemiológicos como la aparente mayor susceptibilidad a la mortalidad en pacientes hombres con COVID19, (probablemente debido a la influencia en la expresión de TMPRSS – 2 ejercida por hormonas prostáticas), sino que

Figura 1. Sistema Renina - Angiotensina (RAS) (Ni, y otros, 2020).



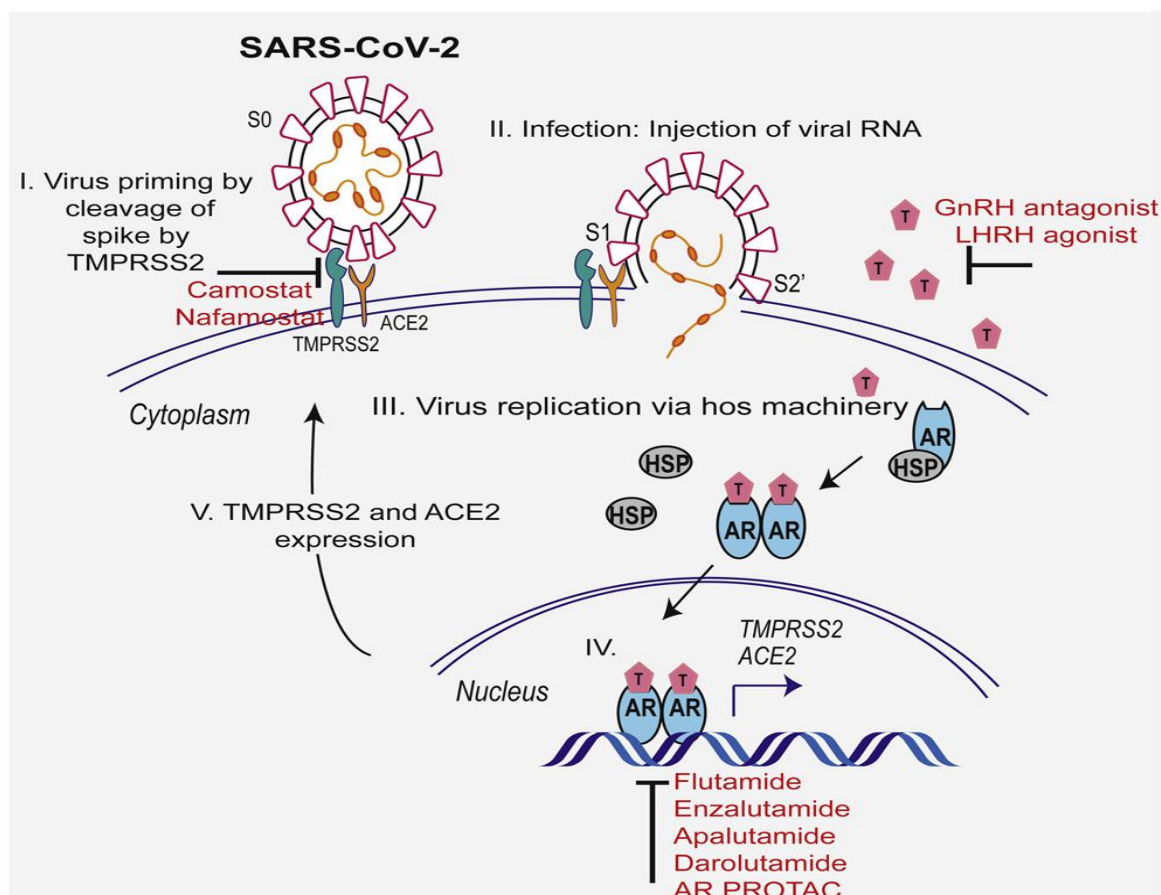
además sugiere una posibilidad terapéutica a través de la exploración de los tratamientos como bloqueadores de ATRs, anti – andrógenos, entre otros como una alternativa preventiva frente a la posible infección por SARS – CoV – 2 (Deng, ur Rasool, Russell, Natesan, & Asangani, 2021).

DIVERGENCIA FILOGENÉTICA MOLECULAR DE LAS PROTEÍNAS ACE – 2 (ENZIMA CONVERTIDORA DE ANGIOTENSINA II) Y TMPRSS – 2 (SERIN – PROTEASA TRANSMEMBRANA – 2) EN VERTEBRADOS Y SU RELACIÓN CON EL POTENCIAL DE INFECCIÓN POR SARS – COV – 2

Mecanismo de unión y entrada ACE2 y TMPRSS2, y susceptibilidad animal

Aunque existen varios miembros de la familia Coronaviridae que circulan en la población humana, usualmente solo causan de cuadros clínicos respiratorios leves, a diferencia de virus como SARS – CoV y MERS – CoV, cuya cualidad común es que fueron transmitidos desde los animales a los humanos, parece ser consecuencia del mecanismo de entrada celular

Figura 2. Mecanismo de unión y entrada de SARS - CoV - 2 con la participación de ACE - 2 y TMPRSS - 2 (Deng, ur Rasool, Russell, Natesan, & Asagani, 2021)



señalado anteriormente, que la entrada celular depende de la unión de una subunidad superficial a la subunidad S1 de la glicoproteína S del virus, que posteriormente resulta en la separación de la glicoproteína en sus subunidades S1 y S2 con la adicional liberación de una subunidad S2' que también participa en la fusión con la membrana celular; lo que quiere decir que la

**DIVERGENCIA FILOGENÉTICA MOLECULAR DE LAS PROTEÍNAS ACE – 2
(ENZIMA CONVERTIDORA DE ANGIOTENSINA II) Y TMPRSS – 2 (SERIN – PROTEASA
TRANSMEMBRANA – 2) EN VERTEBRADOS Y SU RELACIÓN
CON EL POTENCIAL DE INFECCIÓN POR SARS – COV – 2**

eficiencia de ACE – 2 para descomponer la glicoproteína S es un factor clave para la determinación de la capacidad de transmisión del patógeno entre especies (Hoffman et al., 2020). Esto podría explicar la particularidad de que exista susceptibilidad diferencial entre organismos, tanto a la transmisión asintomática del patógeno, como el desarrollo del cuadro clínico asociado a la infección.

Debido a que el dominio receptor de unión de la proteína spike del SARS – CoV – 2 presenta una gran afinidad por su sitio de unión en ACE – 2 humana, se ha sugerido que podrían existir otros receptores potenciales en distintos hospedadores que compartan la misma composición de aminoácidos que los sitios de unión en ACE – 2 humana, lo que significa que es posible que existan receptores diferentes en células de especies distintas (Cao, y otros, 2020). Por ejemplo, Hoffmann et al. 2020 realizaron análisis sobre las secuencias de SARS – S y SARS – 2 – S en el año 2020 con el fin de determinar si ambas proteínas spike poseen la misma secuencia de amino ácidos para la interacción con el receptor ACE – 2 en humanos, y demostraron que SARS – 2 – S es incluso, más afín a ACE – 2 que SARS – S debido a modificaciones en los residuos marginales a la región de unión al receptor que podrían incrementar la influencia de las cargas positivas en la unión; además, construyeron árboles filogenéticos utilizando secuencias de virus de la familia Coronaviridae provenientes de Asia, Europa y África que afectarían (pero no simultáneamente) a murciélagos, vivérridos y humanos.

El análisis filogenético reveló que existe una relación entre SARS – CoV – 2 humano con los grupos de SARSr – CoV (murciélago), de entre los cuales la mayoría utiliza ACE – 2 como receptor celular, sin embargo, el hecho de que existan otros miembros en el grupo que no utilizan ACE – 2 como receptor celular podría corroborar la sospecha de que existen receptores celulares distintos a ACE – 2 en algunos organismos susceptibles a la transmisión de SARS –

**DIVERGENCIA FILOGENÉTICA MOLECULAR DE LAS PROTEÍNAS ACE – 2
(ENZIMA CONVERTIDORA DE ANGIOTENSINA II) Y TMPRSS – 2 (SERIN – PROTEASA
TRANSMEMBRANA – 2) EN VERTEBRADOS Y SU RELACIÓN
CON EL POTENCIAL DE INFECCIÓN POR SARS – COV – 2**

CoV – 2 (Hoffman, y otros, 2020). Por ejemplo, se han propuesto homologías estructurales entre ACE – 2 humana y ACE – 2/ACE de otros animales como mapaches (*Nyctereutes procynoides*), marsopas (*Neophocaena aisaorientalis*) y murciélagos (*Rhinolophus ferrumequinum*) para demostrar que los sitios de unión de sus distintas proteínas son estructuralmente similares, de igual manera las secuencias de las glicoproteínas S muestran altos grados de conservación, así como también los dos sitios de interacción identificados en ACE y ACE – 2 mostraron altos grados de conservación entre especies tanto en secuencias, como en estructuras, siendo la única particularidad que la variante ACE – 2 humana posee un mayor número de residuos en su sitio activo, haciéndola ligeramente más profunda que las demás, lo que sugiere que ACE – 2 humana podría ser más susceptible a la unión de SARS – CoV – 2 que el resto de especies de vertebrados (Hoffman, y otros, 2020).

Problema de investigación.

Para el SARS – Cov – 2, se han identificado moléculas que participan en su adhesión e ingreso a las células del hospedador. Las cuales se han definido como la Enzima Convertidora de Angiotensina II (ACE – 2) como su receptor celular y la proteasa de membrana asociada a serina (TMPRSS – 2) (Martínez-Hernández, y otros, 2020) (Almaguer, Cuello, & Almaguer, 2020) (Bourgonie, y otros, 2019) (Mollica, Rizzo, & Massari, 2020). Ambas moléculas esenciales para el desarrollo de la fisiopatología asociada a la infección por el virus, denominada Covid – 19, que afecta multi – sistémicamente al organismo haciendo énfasis en los tejidos cardio – pulmonares y digestivos que, coincidentemente son aquellos tejidos en los que la expresión de estas enzimas es más elevada. Es por esto que se ha intentado identificar posibles rutas de zoonosis, por medio de las cuales el virus haya logrado efectivamente a

**DIVERGENCIA FILOGENÉTICA MOLECULAR DE LAS PROTEÍNAS ACE – 2
(ENZIMA CONVERTIDORA DE ANGIOTENSINA II) Y TMPRSS – 2 (SERIN – PROTEASA
TRANSMEMBRANA – 2) EN VERTEBRADOS Y SU RELACIÓN
CON EL POTENCIAL DE INFECCIÓN POR SARS – COV – 2**

realizar el salto entre especies para infectar a los humanos utilizando análisis moleculares y filogenéticos que han demostrado que la participación de estas dos moléculas es esencial para la transmisión del virus, además de que existen proporciones considerables de elementos conservados entre las diferentes variantes de dichas moléculas expresadas en distintos organismos. Esto se ha correlacionado con la aparente susceptibilidad variable entre diferentes especies a la infección por el virus, así como al desarrollo de sus característicos cuadros clínicos en los individuos afectados (Martínez-Hernández, y otros, 2020) (Almaguer, Cuello, & Almaguer, 2020) (Bourgonie, y otros, 2019) (Mollica, Rizzo, & Massari, 2020). Lo cual lleva a pensar que la clave para la identificación de dicha susceptibilidad y el motivo de la misma se esconde detrás de los patrones de expresión de las moléculas que participan en su invasión a las células hospedadoras (Martínez-Hernández, y otros, 2020) (Almaguer, Cuello, & Almaguer, 2020) (Bourgonie, y otros, 2019) (Mollica, Rizzo, & Massari, 2020).

Lo arriba señalado nos lleva a plantearnos las siguientes interrogantes: ¿Existe una correlación evolutiva (cofilogenia) entre las secuencias/genes/proteínas de ACE-2 y TMPRSS2, -participantes en la infección celular por el virus-, y la clasificación taxonómica evolutiva de los vertebrados? (Es decir, el mismo patrón evolutivo, del gen, la proteína y la especie)

¿Es posible identificar organismos susceptibles a la infección por SARS – CoV2 mediante el análisis filogenético de las relaciones evolutivas existentes entre sus receptores ACE – 2 y TMPRSS – 2 como participantes en la infección celular por el virus, entre diferentes especies de vertebrados?

**DIVERGENCIA FILOGENÉTICA MOLECULAR DE LAS PROTEÍNAS ACE – 2
(ENZIMA CONVERTIDORA DE ANGIOTENSINA II) Y TMPRSS – 2 (SERIN – PROTEASA
TRANSMEMBRANA – 2) EN VERTEBRADOS Y SU RELACIÓN
CON EL POTENCIAL DE INFECCIÓN POR SARS – COV – 2**

Hipótesis General de Investigación

Debido a que se ha demostrado que, los sitios de unión a SARS – CoV – 2 en ACE – 2 son altamente conservados entre especies, a pesar de que las longitudes de la enzima varíen considerablemente (300-900pb) dependiendo de la especie que observe y, tomando en cuenta que se han descrito factores bio – moleculares y físico – químicos que favorecen la unión de la proteína S viral específicamente a la variante de ACE – 2 humana (Almaguer, Cuello, & Almaguer, 2020) (Chen, y otros, 2010) (Cooper, Hooper, Korstanje, Osterhaus, & Timens, 2007) (Deng, ur Rasool, Russell, Natesan, & Asagani, 2021) (He, Liu, & Ma, 2013) (Hoffman, y otros, 2020). Podemos deducir, como ha sido planteado anteriormente que, si bien no se conoce los mecanismos moleculares en su totalidad, parece haber una conexión entre la estructura específica del receptor celular en individuos de distintas especies con la susceptibilidad de los mismos a ser infectados por SARS – CoV – 2 y desarrollar el consecuente cuadro clínico, así como también parece haber una conexión entre la estructura específica del receptor celular en individuos de distintas especies con la capacidad de transmitir la enfermedad a individuos de otras especies (Almaguer, Cuello, & Almaguer, 2020) (Chen, y otros, 2010) (Cooper, Hooper, Korstanje, Osterhaus, & Timens, 2007) (Deng, ur Rasool, Russell, Natesan, & Asagani, 2021) (He, Liu, & Ma, 2013) (Hoffman, y otros, 2020).

Por lo tanto, para realizar esta investigación se planteó la hipótesis de que *existe un grupo de organismos evolutivamente más susceptibles que otros a la infección por el virus SARS – CoV – 2, y que pueden ser identificados mediante las relaciones evolutivas cercanas Monofilia y grupos hermanos) entresecuencias/individuos de distintas especies con respecto al*

**DIVERGENCIA FILOGENÉTICA MOLECULAR DE LAS PROTEÍNAS ACE – 2
(ENZIMA CONVERTIDORA DE ANGIOTENSINA II) Y TMPRSS – 2 (SERIN – PROTEASA
TRANSMEMBRANA – 2) EN VERTEBRADOS Y SU RELACIÓN
CON EL POTENCIAL DE INFECCIÓN POR SARS – COV – 2**

patrón filogenético de los receptores celulares ACE – 2 y TMPRSS – 2, debido a que la evidencia demuestra que su participación es clave en la infección viral.

De esta forma, nuestros objetivos fueron describir las relaciones evolutivas entre vertebrados con respecto a las secuencias de las enzimas ACE-2 y TMPRSS-2, Establecer los vertebrados más cercanos al ser humano con respecto a ACE-2 y TMPRSS-2 e identificar cuáles de esas relaciones sugieren mayor o menor susceptibilidad a la infección por SARS-Cov-2, la posibilidad de identificar posibles vertebrados reservorios u hospedadores del salto al humano (spillover zoonótico) o incluso la posibilidad de la infección reversa humano-animal silvestre o en cautiverio.

Metodología.

Se realizó una revisión bibliográfica exhaustiva para abarcar los temas de: virus emergentes en la última década, particularidades de la zoonosis y enfermedades causadas por transmisión de patógenos por murciélagos, información relevante con respecto a las enzimas ACE – 2 y TMPRSS – 2 (particularidades moleculares y funciones biológicas de las mismas), coronavirus y su mecanismo de infección celular.

Muestreo y alineamiento de secuencias de ADN

Se recopilaron las secuencias de ACE – 2 y TMPRSS – 2 de vertebrados, y se tomaron en cuenta algunas de las que fueron utilizadas en investigaciones previas como base para este estudio, así como otras adicionales que se encontraron disponibles en la base de datos genómicos de NCBI (Nacional Center of Biotechnology Information), las mismas que pueden ser observadas en las **Tablas 1 y 2**.

**DIVERGENCIA FILOGENÉTICA MOLECULAR DE LAS PROTEÍNAS ACE – 2
(ENZIMA CONVERTIDORA DE ANGIOTENSINA II) Y TMPRSS – 2 (SERIN – PROTEASA
TRANSMEMBRANA – 2) EN VERTEBRADOS Y SU RELACIÓN
CON EL POTENCIAL DE INFECCIÓN POR SARS – COV – 2**

Existen variaciones entre ambas matrices debido a que algunas secuencias de TMPRSS – 2 para los mismos organismos no se encontraban disponibles. Posteriormente, se realizaron alineamientos de las secuencias en búsqueda de las homologías posicionales mediante el algoritmo de ClustalW incluido en el software MEGA – X (Kumar, Stecher, Li, Knyaz, & Tamura, 2018), con parámetros de Gap Open Penalty (GOP) y Gap Extension Penalty (GEP) dos veces mas alto default. Se incluyeron y alinearon las porciones conservadas señaladas en las investigaciones tomadas como base, las cuales seleccionan porciones de las secuencias que son relevantes para la infección viral, concretamente, los residuos H296, D345, S441, y la porción 697 – 716 en el extremo N – terminal, que corresponden al sitio de unión de la proteína S viral (Deng, ur Rasool, Russell, Natesan, & Asangani, 2021).

De esta manera, se disminuyó adicionalmente la carga del análisis informático, así como también se consiguió estandarizar la forma en la que se evalúan las distintas secuencias debido a que existe una amplia variación tanto en sus tamaños como en sus residuos entre distintas especies. Sin embargo, las zonas mencionadas como relevantes para la infección han demostrado altos niveles de conservación que justifican su utilización al momento de realizar los análisis filogenéticos (Deng, ur Rasool, Russell, Natesan, & Asangani, 2021).

Tabla 1. Especies incluidas en la matriz de MEGA-X para ACE – 2

CLASE	ORDEN	FAMILIA	ESPECIE
MAMIA LIA	Primates	Hominidae	<i>Homo sapiens</i>
			<i>Pan paniscus</i>
			<i>Pan troglodytes</i>
			<i>Pongio abelii</i>
		Cebidae	<i>Sapajus apella</i>
			<i>Saimiri boliviensis</i>

**DIVERGENCIA FILOGENÉTICA MOLECULAR DE LAS PROTEÍNAS ACE – 2
(ENZIMA CONVERTIDORA DE ANGIOTENSINA II) Y TMPRSS – 2 (SERIN – PROTEASA
TRANSMEMBRANA – 2) EN VERTEBRADOS Y SU RELACIÓN
CON EL POTENCIAL DE INFECCIÓN POR SARS – COV – 2**

		Cercopithecidae	<i>Chlorocebus sabaeus</i>
			<i>Cercocebus atys</i>
			<i>Macaca fascicularis</i>
			<i>Macaca mulatta</i>
			<i>Macaca nemestrina</i>
			<i>Papio anubis</i>
			<i>Trachypitecus francoisi</i>
		Indriidae	<i>Propithecus coquereli</i>
		Galagidae	<i>Otolemur garnettii</i>
		Tarsiidae	<i>Carlito syrichta</i>
		Aotidae	<i>Aotus nancymae</i>
	Artiodactyla	Phocoenidae	<i>Phocoena Sinus</i>
		Bovidae	<i>Bos indicus</i>
			<i>Bos taurus</i>
			<i>Capra hircus</i>
			<i>Ovis aries</i>
		Camelidae	<i>Camelus dromedarius</i>
		Delphinidae	<i>Lagenorhynchus obliquidens</i>
			<i>Orcinus orca</i>
		Monodontidae	<i>Monodon monoceros</i>
		Balaneopteridae	<i>Balaneoptera musculus</i>
		Suidae	<i>Sus scrofa</i>
	Rodentia	Cricetidae	<i>Arvicola amphibius</i>
			<i>Cricetulus griseus</i>
			<i>Mesocricetus auratus</i>
			<i>Peromyscus leucopus</i>
		Octodontidae	<i>Octodon degus</i>
		Sciuridae	<i>Ictidomys tridecemlineatus</i>
			<i>Urocitellus parryii</i>
		Muridae	<i>Grammomys surdaster</i>
		Heteromyidae	<i>Dipodomys ordii</i>
		Chinchillidae	<i>Chinchilla lanigera</i>
	Lagomorpha	Leporidae	<i>Oryctolagus cuniculus</i>
	Carnivora	Canidae	<i>Canis lupus dingo</i>
			<i>Canis lupus familiaris</i>
			<i>Vulpes vulpes</i>
		Phocidae	<i>Neomonachus schauinslandi</i>
		Mustelidae	<i>Lontra canadensis</i>
			<i>Enhydra lutris</i>

**DIVERGENCIA FILOGENÉTICA MOLECULAR DE LAS PROTEÍNAS ACE – 2
(ENZIMA CONVERTIDORA DE ANGIOTENSINA II) Y TMPRSS – 2 (SERIN – PROTEASA
TRANSMEMBRANA – 2) EN VERTEBRADOS Y SU RELACIÓN
CON EL POTENCIAL DE INFECCIÓN POR SARS – COV – 2**

			<i>Mustela erminea</i>
			<i>Mustela putorius</i>
		Hyaenidae	<i>Hyaena hyaena</i>
		Felidae	<i>Acinonyx jubatus</i>
			<i>Felis catus</i>
	Diprotodontia	Phalangeridae	<i>Trichosurus vulpecula</i>
	Chiroptera	Phyllostomidae	<i>Desmodus rotundus</i>
			<i>Sturnira hondurensis</i>
		Vespertilionidae	<i>Myotis brandtii</i>
			<i>Myotis davidii</i>
			<i>Myotis lucifugus</i>
			<i>Myotis myotis</i>
		Molossidae	<i>Molossus molossus</i>
		Pteropodidae	<i>Pteropus vampyrus</i>
	Diprotodontia	Phascolarctidae	<i>Phascolarctos cinereus</i>
SAUROPSIDA	Squamata	Lacertidae	<i>Pantherophis guttatus</i>
			<i>Zootoca vivipara</i>
AVES	Psittaciformes	Strigopidae	<i>Strigops habroptila</i>
	Falconiformes	Falconidae	<i>Falco rusticolus</i>
			<i>Falco naumanni</i>
	Galliformes	Phasianidae	<i>Coturnix japonica</i>
	Passeriformes	Corvidae	<i>Corvus moneduloides</i>
		Pipridae	<i>Chiroxiphia lanceolata</i>
		Turdidae	<i>Catharus ustulatus</i>
	Charadriiformes	Charadriidae	<i>Charadrius vociferus</i>
AMPHIBIA	Gymnophiona	Rhinatrematidae	<i>Rhinatrema bivittatum</i>
		Dermophiidae	<i>Geotrypetes seraphini</i>
	Anura	Ranidae	<i>Rana temporaria</i>
		Pipidae	<i>Xenopus tropicalis</i>
ACTINOPTERYGII	Cypriniformes	Cyprinidae	<i>Pimephales promelas</i>
		Fundulidae	<i>Fundulus heteroclitus</i>
	Perciformes	Sciaenidae	<i>Larimichthys crocea</i>
Chondrichthyes	Chimaeriformes	Chaloorhynchidae	<i>Challorhynchus milii</i>
Hyperoartia	Petromyzontiformes	Petromyzontidae	<i>Petromyzon marinus</i>
REPTILIA	Testudines	Emydidae	<i>Chrysemys picta</i>
	Squamata	Dactyloidae	<i>Anolis carolinensis</i>

**DIVERGENCIA FILOGENÉTICA MOLECULAR DE LAS PROTEÍNAS ACE – 2
(ENZIMA CONVERTIDORA DE ANGIOTENSINA II) Y TMPRSS – 2 (SERIN – PROTEASA
TRANSMEMBRANA – 2) EN VERTEBRADOS Y SU RELACIÓN
CON EL POTENCIAL DE INFECCIÓN POR SARS – COV – 2**

Tabla 2. Especies incluidas en la matriz de MEGA-X para TMPRSS – 2

CLASE	ORDEN	FAMILIA	ESPECIE
MAMMALIA	Primates	Hominidae	<i>Homo sapiens</i>
			<i>Pan paniscus</i>
			<i>Pan troglodytes</i>
			<i>Pongio abelii</i>
		Cebidae	<i>Sapajus apella</i>
		Cercopithecidae	<i>Chlorocebus sabaeus</i>
			<i>Macaca fascicularis</i>
			<i>Macaca mulatta</i>
			<i>Macaca nemestrina</i>
			<i>Papio anubis</i>
		Indriidae	<i>Propithecus coquereli</i>
		Galagidae	<i>Otolemur garnettii</i>
		Tarsiidae	<i>Carlito syrichta</i>
		Aotidae	<i>Aotus nancymae</i>
	Artiodactyla	Phocoenidae	<i>Phocoena Sinus</i>
		Bovidae	<i>Bos indicus</i>
			<i>Bos taurus</i>
			<i>Capra hircus</i>
			<i>Ovis aries</i>
		Camelidae	<i>Camelus dromedarius</i>
		Delphinidae	<i>Lagenorhynchus obliquidens</i>
			<i>Orcinus orca</i>
		Monodontidae	<i>Monodon monoceros</i>
		Balaneopteridae	<i>Balaneoptera musculus</i>
	Rodentia	Cricetidae	<i>Arvicola amphibius</i>
			<i>Cricetulus griseus</i>
			<i>Mesocricetus auratus</i>
			<i>Peromyscus leucopus</i>
		Octodontidae	<i>Octodon degus</i>
		Sciuridae	<i>Ictidomys tridecemlineatus</i>
		Muridae	<i>Grammomys surdaster</i>
		Heteromyidae	<i>Dipodomys ordii</i>
		Chinchillidae	<i>Chinchilla lanigera</i>
	Lagomorpha	Leporidae	<i>Oryctolagus cuniculus</i>
	vora Carni	Canidae	<i>Canis lupus dingo</i>
			<i>Canis lupus familiaris</i>

**DIVERGENCIA FILOGENÉTICA MOLECULAR DE LAS PROTEÍNAS ACE – 2
(ENZIMA CONVERTIDORA DE ANGIOTENSINA II) Y TMPRSS – 2 (SERIN – PROTEASA
TRANSMEMBRANA – 2) EN VERTEBRADOS Y SU RELACIÓN
CON EL POTENCIAL DE INFECCIÓN POR SARS – COV – 2**

			<i>Vulpes vulpes</i>
		Phocidae	<i>Neomonachus schauinslandi</i>
		Mustelidae	<i>Manis javanica</i>
			<i>Lontra canadensis</i>
			<i>Mustela erminea</i>
			<i>Mustela putorius</i>
		Hyaenidae	<i>Hyaena hyaena</i>
		Felidae	<i>Acinonyx jubatus</i>
			<i>Felis catus</i>
	Diprotodontia	Phalangeridae	<i>Trichosurus vulpecula</i>
	Chiroptera	Phyllostomidae	<i>Desmodus rotundus</i>
			<i>Sturnira hondurensis</i>
		Vespertilionidae	<i>Myotis brandtii</i>
			<i>Myotis davidii</i>
			<i>Myotis lucifugus</i>
			<i>Myotis myotis</i>
		Molossidae	<i>Molossus molossus</i>
		Pteropodidae	<i>Pteropus vampyrus</i>
	Diprotodontia	Phascolarctidae	<i>Phascolarctos cinereus</i>
SAUROPSIDA	Squamata	Lacertidae	<i>Pantherophis guttatus</i>
			<i>Zootoca vivipara</i>
AVES	Psittaciformes	Strigopidae	<i>Strigops habroptila</i>
	Falconiformes	Falconidae	<i>Falco rusticolus</i>
			<i>Falco naumanni</i>
	Galliformes	Phasianidae	<i>Coturnix japonica</i>
	Passeriformes	Corvidae	<i>Corvus moneduloides</i>
		Pipridae	<i>Chiroxiphia lanceolata</i>
		Turdidae	<i>Catharus ustulatus</i>
	Charadriiformes	Charadriidae	<i>Charadrius vociferus</i>
AMPHIBIA	Gymnophiona	Rhinatremaidae	<i>Rhinatrema bivittatum</i>
		Dermophiidae	<i>Geotrypetes seraphini</i>
	Anura	Ranidae	<i>Rana temporaria</i>
ACTINOPTERYGII	Cypriniformes	Cyprinidae	<i>Pimephales promelas</i>
		Fundulidae	<i>Fundulus heteroclitus</i>
REPTILIA	Testudines	Emydidae	<i>Chrysemys picta</i>
	Squamata	Dactyloidae	<i>Anolis carolinensis</i>

**DIVERGENCIA FILOGENÉTICA MOLECULAR DE LAS PROTEÍNAS ACE – 2
(ENZIMA CONVERTIDORA DE ANGIOTENSINA II) Y TMPRSS – 2 (SERIN – PROTEASA
TRANSMEMBRANA – 2) EN VERTEBRADOS Y SU RELACIÓN
CON EL POTENCIAL DE INFECCIÓN POR SARS – COV – 2**

Análisis filogenéticos

Una vez obtenidos los alineamientos y realizadas las modificaciones requeridas en las secuencias, se establecieron parámetros relevantes que permitan realizar árboles filogenéticos de los cuales sea posible sacar conclusiones con significancia estadística. Para esto se utilizó los programas MEGAX (Kumar, Stecher, Christina, & Kiochiro, 2018) y PAUP 4.0 (Swofford, 2017) en los cuales se realizaron análisis heurísticos de las matrices previamente alineadas y editadas.

Se realizó un análisis de distancia genética con base en el método Neighbor-Joining (NJ), el cual se basa en el principio de reconstrucción de árboles a partir de la información relevante a la distancia evolutiva entre los individuos, de manera que se establezcan Unidades Taxonómicas Operacionales (OTUs: Operational Taxonomic Units) por medio de matrices de secuencias de nucleótidos o residuos amino acídicos para minimizar la ramificación de manera que la topología de árboles parsimoniosos sea obtenida más rápidamente (Saitou & Nei, 1987).

Posteriormente se realizó un análisis filogenético estricto con optimizaron mediante el método de “Maximum Parsimony” (MP) de forma que las agupaciones evolutivas de secuencias de las proteínas minimizaran la influencia de caracteres hipoplásicos, por ejemplo, producto de convergencias evolutivas, paralelismos evolutivos o reversiones evolutivas (Farris, 2008). Adicionalmente se utilizó el método estadístico *a posteriori* denominado “Bootstrap” (Felsenstein, 1985) de remuestreo de la matriz con 500 pseudoréplicas por cada 100 adiciones al azar de taxas (secuencias) y caracteres (pares de bases) para obtener el apoyo de grupos o clados con nivel de confianza (%) que genera un porcentaje de aparición de clados con bases a todas las replicas de adición realizadas.

**DIVERGENCIA FILOGENÉTICA MOLECULAR DE LAS PROTEÍNAS ACE – 2
(ENZIMA CONVERTIDORA DE ANGIOTENSINA II) Y TMPRSS – 2 (SERIN – PROTEASA
TRANSMEMBRANA – 2) EN VERTEBRADOS Y SU RELACIÓN
CON EL POTENCIAL DE INFECCIÓN POR SARS – COV – 2**

Resultados y discusión.

Se construyeron matrices de secuencias de nucleótidos alineadas que constan de 81 secuencias y más de 164 mil nucleótidos para ACE – 2 (matriz de tamaño 81x164.693) y 66 secuencias y más de 73 mil nucleótidos para TMPRSS – 2 (matriz de tamaño 66x73.317) respectivamente como se muestra en las **Figuras 3 y 4**.

Las topologías de los árboles de NJ y MP fueron similares, por lo que se muestran los resultados obtenidos por Parsimonia Máxima en las **Figuras 5 y 6**, en donde se puede observar las posiciones y clados evolutivos calculadas entre las 81 (ACE – 2) y 66 (TMPRSS – 2) especies/secuencias utilizadas para ambos análisis.

DIVERGENCIA FILOGENÉTICA MOLECULAR DE LAS PROTEÍNAS ACE – 2 (ENZIMA CONVERTIDORA DE ANGIOTENSINA II) Y TMPRSS – 2 (SERIN – PROTEASA TRANSMEMBRANA – 2) EN VERTEBRADOS Y SU RELACIÓN CON EL POTENCIAL DE INFECCIÓN POR SARS – COV – 2

Figura 3. Alineamiento de secuencias de nucleótidos para ACE – 2

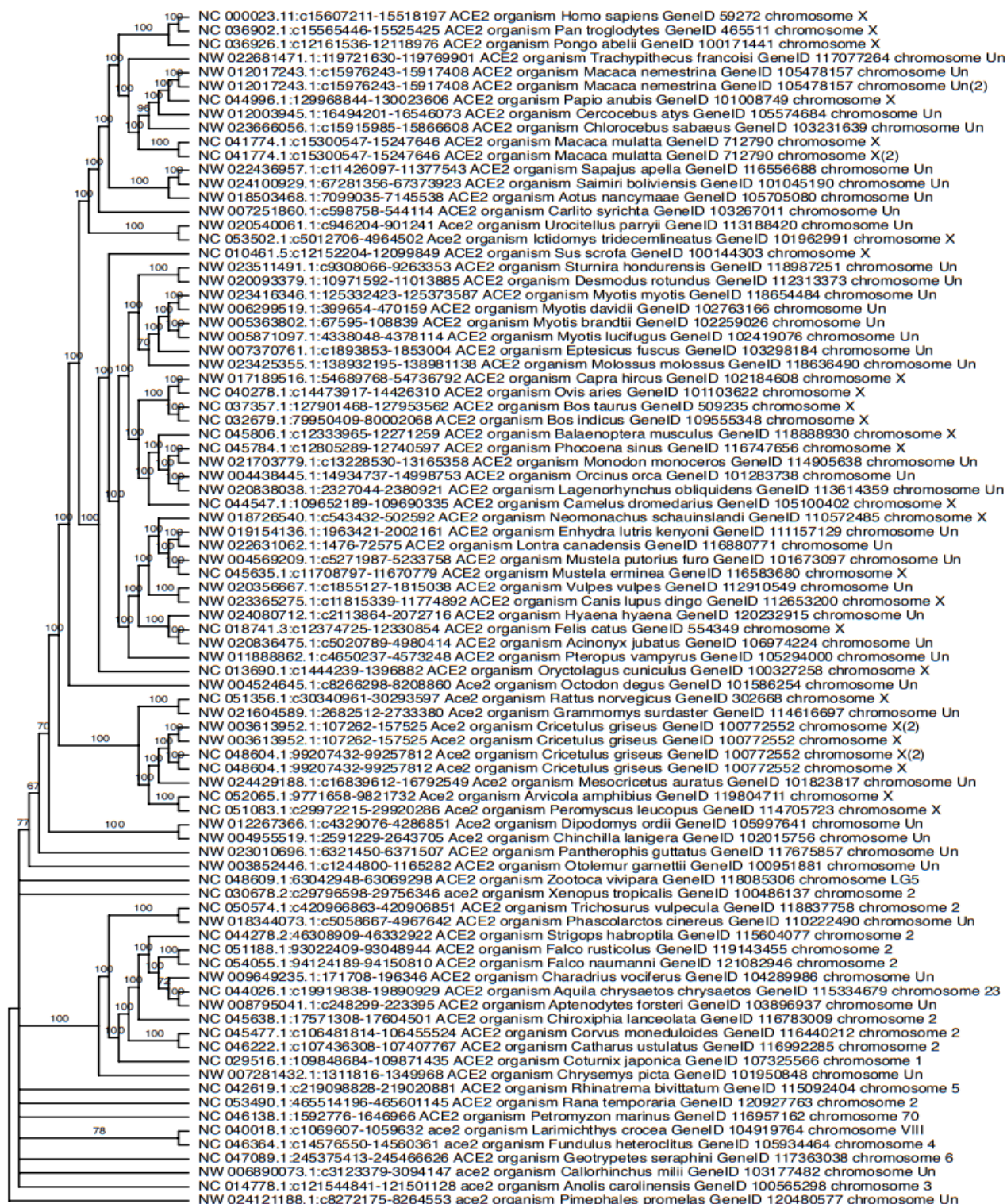
Species/Abbrev	DNA Sequences	Translated Protein Sequences
1. NC 000223.11 Homo sapiens	C T A C A G G G A G G A T G T G C G A C	T G G C T A A T T T G A A A C C A A G A A T C T C C T T A A T T T C T T T G T C A C T G C A C C T A A A A A T G T G T C T G A T A T C A T T C C T
2. NC 048609.1 Zootoca vivipara		
3. NC 030678.2 Xenopus tropicalis		
4. NW 022681471.1 Trachypithecus francoisi	C T A C A G G G A G G A T G T G C G A C	T T G C T G A T T T G A A A C C A A G A A T C T C C T T A A T T T C T A T G T C A C T G C A C C T A A A A A T G T G T C T G A C A T C A T T C C T
5. NC 050574.1 Trichosurus vulpecula	A T C T T T G A T G T C A T A G A C C C T G	A A A A G G T C T T G A G G A C A C C C A G A G G T C C A A G T G G C T C C A C T T T G G G A A C C G C T G T C T C T A T T T C A A T C
6. NC 010461.5 Sus scrofa	C C A C A G G G C G G A G G A C G T G T G G G	T G A G T G A C T T T G A A G C C A A G A A T C T C C T T C A A C T T C T T T G T C A C C T C A C C T G C C A A C A C T G T C T G A C A T C A T T C C C
7. NW 023511491.1 Stumira hondurensis	C C A C A G G G C G G A G G A T G T G T G G G	T G A G T G A T T T G A A A C C A A G A G T C C T T C C A A C T T C T T T G T T A C T T C G C C T A A T A G T G T G T C G G A C A T C A T T C C C
8. NC 044278.2 Strigops habroptila		
9. NW 022439957.1 Sapajus apella	C T A C A G G G A G G A T G T G C G A G	T C G C T G A T T T G A A A C C A A G A A T C T C C T T A A T T T C T T T G T C A C T G C A C C T A A A A A T G T G T C T G A C A T C A T T C C T
10. NW 024100929.1 Saimiri boliviensis	C T G C A G G G A G G A T G T G C G A G	T G G C T G A T T T G A A A C C A A G A A T C T C C T T A A T T T C T T T G T C A C T G C A C C T C A A A A T G T G T C T G A C A T C A T T C C T
11. NC 042619.1 Rhinatrema bivittatum	C C G C A G G G A T G A A G A T G T C C C T G	T G T A C G A C C A G A C C C C A G A A T C T C C T T T A A T T T T T T G T C C A C A T G C C T A A T A A C C T C A G A G C A T C G T T C C C
12. NC 051356.1 Rattus norvegicus	C C A C A G G G A G G A C G T A T G G G	T G A G T G A T T T G A A A C C A A G A G T C T C C T T C A A C T T C T T T G T C A C T T C A C C C A A A A A T G T G T C T G A C A T C A T T C C C
13. NC 053490.1 Rana temporaria	A C A A A A A A A G C G G C C C T C T A A G	C G T A G T A T G G A G T T T A A T A A A A G G A C A A C A A C A A T A A T T C T T A T - - - G A G A G G T T A C T C A C A A G A A T G C A
14. NC 036926.1 Pongo abelii	C T A C A G G G A G G A T G T G C G A G	T G G C T A A T T T G A A A C C A A G A A T C T C C T T A A T T T C T T T G T C A C T G C A C C T A A A A A T G T G T C T G A C A T C A T T C C T
15. NW 024121188.1 Pimephales promelas		
16. NW 018344073.1 Phascolarctos cinereus	A A T T G C A G A A T C A G A C C C A T C T C C	A C C C A A T A T T T G C A C C T T T C C C C A C C C C C A T G T C A T T C C A A T T T T C C G T A G T C T T A C T G C T A T T C T T A T T T T T A A
17. NC 046138.1 Petromyzon marinus	T T T C T C G T G C C A A T T A G A T C C G	T A C C T C T T T A C A G A T T C C T C C T C T C C C C A C C T C C C C C A C T C T C T C C - - - C C T C T C T C C C C C T C C C C
18. NW 023010596.1 Pantherophis guttatus	N N	N N
19. NC 013690.1 Oryctolagus cuniculus	C C A C A G G G A G G A T G T C A G A G	T G A G T G A T T T G A A A C C A A G A A T C T C C T T C A A C T T C T T G T G A C T G C A C C T A A C A A C G T G A A T G A C A T C A T T C C C T
20. NW 018726540.1 Neomonachus schauinslandi	C T G C A G G G A G G A T A A C G T G T G G	T G A C G A T T T G A A A C C A A G A A T C T C C T T C A C C T T C T T T G T C A C T T T A C C T G G A A A T G T G T C T G A T A T C A T T C C T
21. NW 006299519.1 Myotis davidi	C C T C A G G G T G G A G A A C G T G A T G G	T G A A T G A T G T A A A A C C A A G A A T C T C C T T C A A G T T C T T T G T C A C T T T C A C C T G A A A A T G T A T C T G T C A T C A T T C C T
22. NW 023416346.1 Myotis myotis	C C T C A G G G T G G A G A A C G T G A T G G	T G A G T G A T G T A A A A C C A A G A A T C T C C T T C A A C T T C T T T G T C A C T T T C A C C T G A A A A T G T A T C T G T C A T C A T T C C T
23. NW 005363802.1 Myotis brandii	C C T C A G G G T G G A G A A T G T G A T G G	T G A A T G A T G T A A A A C C A A G A A T C T C C T T C A A C T T C T T T G T C A C T T T C A C C T G A A A A T A T A T C T G T C C T C A T T C C C
24. NW 023425355.1 Molossus molossus	C C T C A G G G T G G A G A A C G T G T G G	T G A G T G A T G T A A A A C C A A G A A T C T C C T T C A A C T T C T T G T C A C T T T C G C C T A A T A A T A T G T C T G A C T T C A T T C C C T
25. NC 040018.1 Laimichthys crocea		
26. NW 024080712.1 Hyaena hyaena	C C G C A G G G A G G A T A A C G T G T G G	T G A G C A A C T T G A A A C C A A G A A T C T C C T T C A A C T T C T T T G T C A C T T C A T A T A A A A T G T G T C T G A C G T C A T T C C C
27. NC 047089.1 Geotyptes seraphini	C T G C A C A A G C C T C G A A C A C T T T A A A A T C C	T A A G T A G C A A C A T T C T A G A G C T C A G A T T G T A T G T C A T A A T G C C T C A T T C C C A A A T G C C T A A G C T C C G T C C C A T C
28. NC 046364.1 Fundulus heteroclitus		
29. NC 051188.1 Falco rusticolus		
30. NC 054055.1 Falco naumanni		
31. NW 007370761.1 Eptesicus fuscus	C C A C A G G G C A G A G G A C G T G T G G	T G A A T G A T G T A A A A C C A A G A G T C T C C T T C A A G T T C T T T G T C A T T T C A C C T A C A A A T A T G T C T G A C A T C A T T C C T
32. NW 019154136.1 Erythra lutris kenyoni	C T G C A G G T A C G A A G A C G T G A C G G	T G A G C A T T T G A A A C C A A G A A T C T C C T T C A A C T T C G T T G T C A C T T T A C C T G G G A A A T G T G T C T G A C A T C A T T C C C
33. NW 012267366.1 Dipodomys ordii	T G A T T G A G G A T T T C A A T T A T T G	C A C A T C T G A T T G - C T A G - - - T G T G C - - - T T T G C C A C T A G A T T T T T T T C T G A C T C T G A G A A A T A A T - - - T
34. NW 003613952.1 Cricetus griseus	T C A C A G G G T G G A A G A T A T A C G G G	T G A G T G A C T T G A A A C C A A G A G T C T C C T T C A A C T T C T T T G T C A C T T C A C C T A C A A A T G T G T C T G A C A T C A T T C C T
35. NC 029516.1 Coturnix japonica		
36. NC 045477.1 Corvus moneduloides		
37. NW 007281432.1 Chrysomys picta		
38. NW 023660506.1 Chloroceryx sabaeus	C T A C A G G G A G G A T G T G C G A G	T T G C T G A T T T G A A A C C A A G A A T C T C C T T A A T T T C T A T G T C A C T G C A C C T A A A A A T G T G T C T G A C A T C A T T C C T
39. NC 045638.1 Chiroxipha lanceolata		
40. NW 004955519.1 Chinchilla lanigera	A A C A C A G A A A C T A G G A A A A C C T G	C T C A T T T C C C T G A C T T A A - T C T T T G T G G T T T T T C T A A C C A G T G C A G T C C T C A T T T T G C C T A C C A G G - - - T
41. NW 009649235.1 Chardarius vociferus		
42. NW 012033945.1 Cercopithecus atys	C T A C A G G G A G G A T G T G C G A G	T T G C T G A T T T G A A A C C A A G A A T C T C C T T A A T T T C T A T G T C A C T G C A C C T A A A A A T G T G T C T G A C A T C A T T C C T
43. NC 046222.1 Catharus ustulatus		
44. NW 017189516.1 Capra hircus	C C A C A G G G A G A G A A C G T G T G G	T G A G T G A C A A G A A A C C A A G A A T C T C C T T C A A G T T C T T T G T C A C G T C A C C C A A C A A T G T G T C T G A C A T C A T T C C T
45. NW 006990073.1 Callorhinus milii		
46. NC 045806.1 Balanoptera musculus	C C A C A G G G A A G G A C G T G T G G	T G A G T G A C T T G A A A C C A A G A A T C T C C T T C A A C T T C T T T G T C A C T A C A C C T A A A A A T G T G T C T G A C A T C A T T C C T
47. NC 052065.1 Anolis carolinensis	T C A T A G G G T G G A A G A T A T A C G G G	T G A G T G G T T T G A C C G A G A G T C T C T T T C A A C T T C T T C G T C A C T T C T C G A A A A T G T G T C T G A C G T C A T T C C C
48. NC 044026.1 Aquila chrysaetos chrysaetos		
49. NW 008795041.1 Aptenodytes forsteri		
50. NW 018503468.1 Autus nancymae	C T A C A G G G A G G A T G T C C C G A G	T G G C T G A T T T G A A A C C A A G A A T C T C C T T A A T T T C T T T G T C A C T G C A C C T A A A A A T G T G T C T G A C A T C A T T C C T
51. NC 014778.1 Anolis carolinensis		
52. NC 041774.1 Macaca mulatta	C T A C A G G G A G G A T G T G C G A G	T T G C T G A T T T G A A A C C A A G A A T C T C C T T A A T T T C T A T G T C A C T G C A C C T A A A A A T G T G T C T G A C A T C A T T C C T
53. NW 020540061.1 Urocyon parvulus	C C A C A G A G A G G A T G T A T G T G G	T G A G T G A T T T G A A A C C A A G A A T C T C C T T C A A C T T C T T T G T C A C T G C A C C T C A A A A T G T G T C T G A C A T T A T C C C T
54. NW 020356667.1 Vulpes vulpes	C T G C A G G G A G A T A A C G T G T G G	T G A G C G A T C T G A A A C C A A G A A T C T C C T T C A A C T T C T T T G T C A C T T C A C C T G G A A A T G T G T C T G A C A T C A T T C C C
55. NW 011888662.1 Pteropus vampyrus	C T A C A G G G A G G A T G A T G T G T G G	T G A G T G A C C T G A A A C C A A G A A T C T C C T T C A A C T T C T T T G T C A C C T C A C C T A A T A A T A T G T G T C T G A C T T A T T C C T
56. NC 045784.1 Phocoena sinus	C C A C A G G G A G G A C G T G T G G	T G A G T G A C T T G A A A C C A A G A A T C T C C T T C A A C T T C T T T G T C A C T T T C A C C T A A A A A T A T G T C T G A C A T C A T T C C T
57. NC 051083.1 Peromyscus leucopus	T C G C A G G G T G G A A G A T A T A C G T G	T G A G T G A C T T G A A A C C A A G A A T C T C C T T C A A T T T C T T T G T C A C T T T C A C C C C A A A T G T G T C T G A C A T C A T T C C C
58. NC 044996.1 Papio anubis	C T A C A G G G A G G A T G T G C G A G	T T G C T G A T T T G A A A C C A A G A A T C T C C T T A A T T T C T A T G T C A C T G C A C C T A A A A A T G T G T C T G A C A T C A T T C C T
59. NC 036902.1 Pan troglodytes	C A A C A G G G A G G A T G T G C G A G	T G G C T A A T T T G A A A C C A A G A A T C T C C T T A A T T T C T T T T G T C A C T G C A C C T A A A A A T G T G T C T G A C A T C A T T C C T
60. NC 040278.1 Ovis aries	C C G C A G G G A G A C G T G T G G G	T G A G T G A A A A A A C C A A G A A T C T C C T T C A A G T T C T T T G T C A C G T C A C C C A A C A T G T G T C T G A C A T C A T T C C T
61. NW 004438445.1 Orcinus orca	C C A C A G G G A A G A C G T G T G G	T G A G T G A C T T G A A G C A A G A A T C T C C T T C A A C T T C T T T G T C A C T T T C A C C T A A A A A T A T G T C T G A C A T C A T T C C T
62. NW 003852446.1 Otlemur garnettii	G A G C A C T G T A C T G C A G T G A A A A G	C A G A T G G T T T A - T G G T A C T C C C A T T A T G C A C G G C C A A G A C A C A T T G T A A A T G A A A A - A A C C A A G C A A
63. NW 004524645.1 Octodon degus	C C G C A G G G A G G A T G T A C G A G	T G A G T G C G A G A C A C C G G A A T C T C C T T C A C C T T C T T T G T G A C T G C A C C T A A T A A T A T A T G C T G A C A T T A T T C C T
64. NW 005871097.1 Myotis lucifugus	C C T C A G G G T G G A A C G T G A C G G	T G A A T G A T A T A A A C C A A G A G T C C C T T C A A G T T C A T G T C A C T T C A C C T A A A A A T A T G T C T G T C G T C A T T C C T
65. NW 004569209.1 Mustela putorius furo	C T G C A G G G C A A A G A T G T G A C G	T G A G C A T T T G A A A C C A A G A A T C T C C T T C A A C T T C A T T G T C A C G T C A C C T G A A A A T A T G T C T G A C A T C A T T C C C
66. NC 045635.1 Mustela erminea	C T G C A G G G C A A A G A T G T G A C G	T G A G C A T T T G A A A C C A A G A A T C T C C T T C A A C T T C A T T G T C A C G T C A C C T G A A A A T A T G T C T G A C A T C A T T C C C
67. NW 021703779.1 Monodon monoceros	C C A C A G G G G G A G A C G T G C G G	T G A G T G A T T T G A A A C C A A G A A T C T C C T T C A A C T T C T T T G T C A C T T T C A C C T A A A A A T A T G T C T G A C A T C A T T C C C
68. NW 024429188.1 Mesocricetus auratus	T C G C A G G G T G G A A G A T A T A C G G	T G A G T G A T T T G A A A C C A A G A A T C T C C T T A A T T T C T A T G T C A C T T C A C C C C A A A T G T G T C T G A C A T C A T T C C C
69. NW 012017243.1 Macaca nemestrina	C T A C A G G G A G A G A T G T G C G A G	T T G C T G A T T T G A A A C C A A G A A T C T C C T T A A T T T C T A T G T C A C T G C A C C T A A A A A T G T G T C T G A C A T C A T T C C T
70. NW 022631062.1 Lontra canadensis	C T G C A G G G A C G A A C G T G A C G	T G A G C A A T T T G A A A C C A A G A A T C T C C T T C A A C T T C G T T G T C A C T T C A C C T G G A A A T A T G T C T G A C A T C A T T C C C
71. NW 020838038.1 Lagenorhynchus obliquidens	C C A C A G G G A A G A C G T G T G G	T G A G T G A C T T G A A G C A A G A A T C T C C T T C A A C T T C T T T G T C A C T T T C A C C T A A A A A T A T G T C T G A C A T C A T T C C T
72. NC 053502.1 Ictidomys tridecemlineatus	C C A C A G G A A G A G T A T G T G G	T G A G T G A T G A G A A C C A A G A A T C T C C T T C A A C T T C T T T G T C A C T G C A C C T C A A A A T G T G T C T G A C G T A T T C C C T
73. NW 021604589.1 Grammomys surdaster	C C A C A G G A A G A A C G T A T G T G	T G A G T G A T T T G A G T C C A A G A G T C T C C T T C A A C T T C T T T G T C A C T T T C A C C C A A A A A T G C A T C T G A T G T A T T C C T
74. NC 018741.3 Felis catus	C C G C A G G G A G A A C G T G T G G	T G A G C A A T T T G A A A C C A A G A A T C T C C T T C A A C T T C T T T G T C A C T G C A T C G A A A A T G T G T C T G A C G T A T T C C C T
75. NW 020093379.1 Desmodus rotundus	C C C A C G G G C G G A C G T G T G G	T G A G T G A T T T G A A A C C A A G A G T C T C C T T C A A C T T C T T T G T C A C T T T C A C C T A A T A G T G T C G G A C A T C A T T C C C T
76. NW 007251860.1 Carlotia syrichta	- A T A G G G T G G A A T G T G T G A	T A A G T A C C T C A A A C C A A G G G T C T C C T T C A A C T T C T T T G T C A C T T T C A C C T A A A A A C C T G A A T G A C A T C A T T C C C T
77. NW 023365275.1 Canis lupus dingo	C T G C A G G G A G A A C G T G T G G	T G A G C A T T T G A A A C C A A G A A T C T C C T T C A A C T T C T T T G T C A C T T T C A C C T G G A A A T G T G T C T G A C A T C A T T C C C
78. NC 044547.1 Camelus dromedarius	C C A C A G G G T G A G G A C G T G T G G	T G A G T G A T T T G A A A C C A A G A A T C T C C T T C A C C T T T T G T C A C T T T C A C C T A A A A A T G T G T C T G A C A T C A T T C C T
79. NC 037357.1 Bos taurus	C C A C A G A A A G A C A C G T G T G G	T G A G T G A C A A A A C C A A G A A T C C C T T C A A G T T C T T T G T C A C G T C A C C T A A C A A C G T G T C T G A C A T C A T T C C G
80. NC 032679.1 Bos indicus	C C A C A G A A A G A C A C G T G T G G	T G A G T G A A A A A C C A A G A A T C C C T T C A A G T T C T T T G T C A C G T C A C C T A A C A A C G T G T C T G A C A T C A T T C C G
81. NW 020836475.1 Acinonyx jubatus	C C G C A G G G A G G A T A C A T G T G G	T G A G C A A T T T G A A A C C A A G A A T C T C C T T C A A C T T C T T T G T C A C T G C A T C G A A A A A T G T G T C T G A C G T A T T C C T

Figura 4. Alineamiento de secuencias de nucleótidos para TMPRSS – 2 (elaborado por Esteban Yépez, 2021)



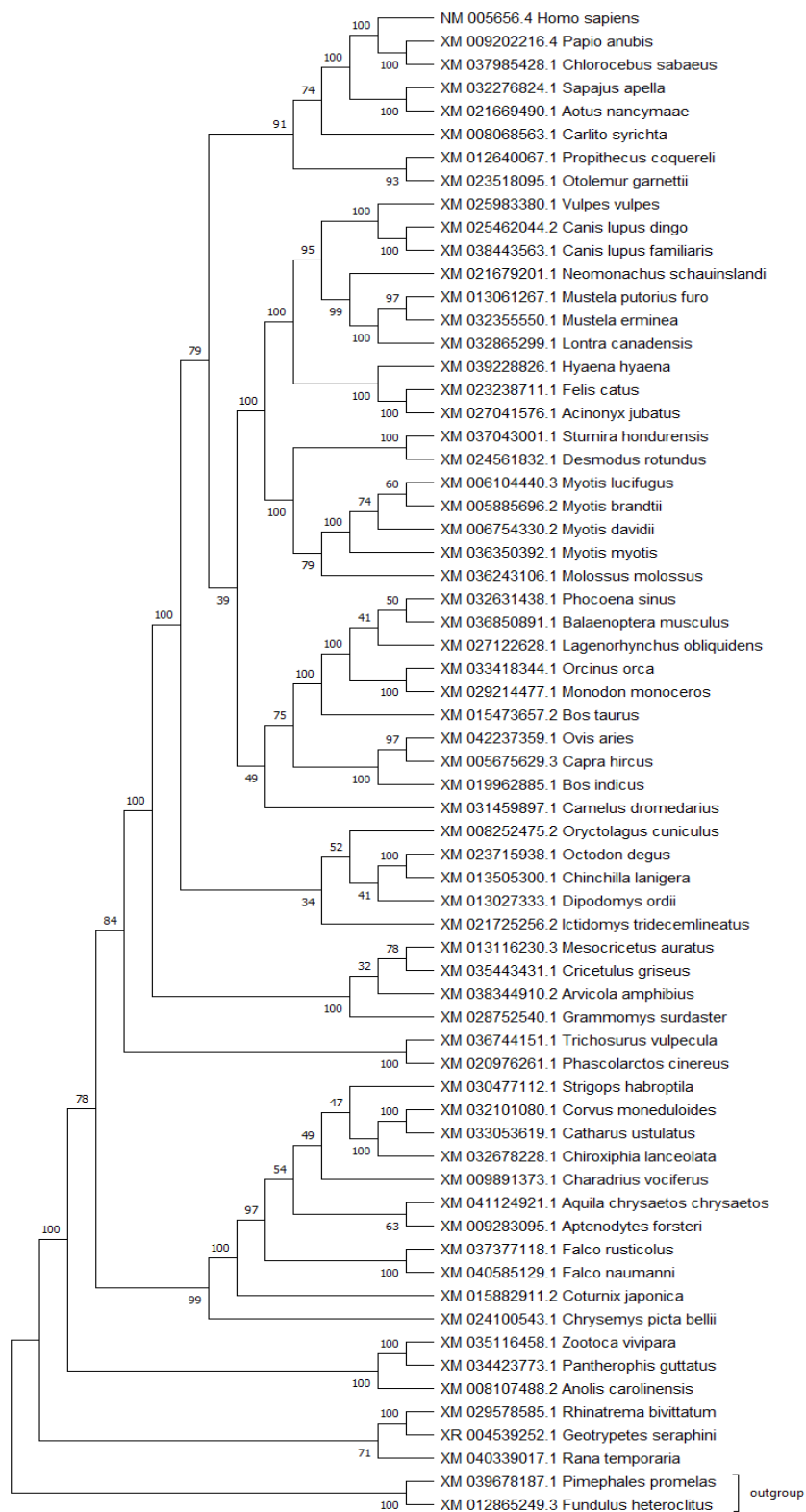
**DIVERGENCIA FILOGENÉTICA MOLECULAR DE LAS PROTEÍNAS ACE – 2
(ENZIMA CONVERTIDORA DE ANGIOTENSINA II) Y TMPRSS – 2 (SERIN – PROTEASA
TRANSMEMBRANA – 2) EN VERTEBRADOS Y SU RELACIÓN
CON EL POTENCIAL DE INFECCIÓN POR SARS – COV – 2**

Figura 5. Árbol filogenético ACE - 2 mediante Parsimonia Máxima. Los valores de % de apoyo de clados de bootstrap de muestran en la base de las ramas



**DIVERGENCIA FILOGENÉTICA MOLECULAR DE LAS PROTEÍNAS ACE – 2
(ENZIMA CONVERTIDORA DE ANGIOTENSINA II) Y TMPRSS – 2 (SERIN – PROTEASA
TRANSMEMBRANA – 2) EN VERTEBRADOS Y SU RELACIÓN
CON EL POTENCIAL DE INFECCIÓN POR SARS – COV – 2**

Figura 6. Árbol filogenético TMPRSS – 2 mediante Parsimonia Máxima. Los valores de % de apoyo de clados de bootstrap de muestran en la base de las ramas



**DIVERGENCIA FILOGENÉTICA MOLECULAR DE LAS PROTEÍNAS ACE – 2
(ENZIMA CONVERTIDORA DE ANGIOTENSINA II) Y TMPRSS – 2 (SERIN – PROTEASA
TRANSMEMBRANA – 2) EN VERTEBRADOS Y SU RELACIÓN
CON EL POTENCIAL DE INFECCIÓN POR SARS – COV – 2**

Debido a que se buscó incluir la mayor representación posible de los principales grupos de vertebrados (Figura 7), se construyeron matrices considerablemente grandes que favorecen ampliamente al grupo de mamíferos (Figura 7) (Tablas 1 y 2), debido a que existe una relevancia mayor en conocer estas relaciones evolutivas dado que sus interacciones con el ser humano son más cercanas en muchos casos que las del resto de vertebrados, cuyas interacciones pueden resultar limitadas o circunstanciales (Kai, y otros, 2021).

Adicionalmente, se buscó recopilar una representación relevante dentro de los mamíferos para familias y/o especies que hayan sido descritas como importantes dentro del escenario de transmisión y propagación de SARS – CoV – 2 la pandemia iniciada el año 2019 (COVID – 19), que son concretamente los órdenes de quirópteros y carnívoros (de estos particularmente la familia de los mustélidos, a la que pertenece el pangolín malasio) (Figura 8) (Tablas 1 y 2) (Adamna & Opayele, 2020) (Fenollar, y otros, 2021), con el fin de describir más detalladamente las particularidades evolutivas que puedan existir entorno a estos grupos con respecto a los humanos y el resto de mamíferos que están en contacto con el mismo; Otros grupos de secuencias de ACE-2 y TMPRSS-s que se tomaron en cercana consideración, fueron aquellos de animales domésticos, bien sean aquellos involucrados a actividades productivas, tanto como aquellos que son considerados mascotas (Tablas 1 y 2) (Adamna & Opayele, 2020) (Fenollar, y otros, 2021) (Moratelli & Calisher, 2015) (Kai, y otros, 2021) (Sharun, y otros, 2021).

Igualmente, se incluyeron un número importante de secuencias de especies de primates (Tablas 1 y 2) que se reportan en la literatura revisada (Almaguer, Cuello, & Almaguer, 2020) (Bourgonie, y otros, 2019) (He, Liu, & Ma, 2013) (Qjy, Zhao, Liao, & Ge, 2020) (Prabajaran,

**DIVERGENCIA FILOGENÉTICA MOLECULAR DE LAS PROTEÍNAS ACE – 2
(ENZIMA CONVERTIDORA DE ANGIOTENSINA II) Y TMPRSS – 2 (SERIN – PROTEASA
TRANSMEMBRANA – 2) EN VERTEBRADOS Y SU RELACIÓN
CON EL POTENCIAL DE INFECCIÓN POR SARS – COV – 2**

Xiao, & Dimitrov, 2004), especialmente en este grupo de individuos cuyas características moleculares parecen provocar una mayor susceptibilidad a la infección y una agresividad mayor en el desarrollo de la patología.

En las **Figuras 9 y 10** se muestran las hipótesis filogenéticas con los clados evolutivos resaltados en colores. En primer lugar, las topologías muestran desde el grupo externo o ancestral hasta el mas interno y derivado una correspondencia con la clasificación taxonómica clásica de vertebrados, lo que indica que las secuencias de ADN de las enzimas ACE-2 y TMPRSS-2 y su funcionalidad están correlacionadas con la evolución de las especies de Clases de vertebrados, es decir, la filogenia del gen se correlaciona con la filogenia de las Clases y especies, lo cual apoya nuestra primera hipótesis y nos permite evaluar la posible susceptibilidad a SARS-Cov-2 de acuerdo a los grupos hermanos asociados a *Homo sapiens*, y otros clados hermanos correlativamente relacionados en el árbol.

De esta forma en el grupo externo se ubican las secuencias de peces y luego de los mas externo a lo interno, anfibios, reptiles, aves y mamiferos, ubicandose en los mas interno de los cladogramas los grupos de Primates incluyendo los humanos.

De acuerdo con este resultado, las especies de primates estrechamente relacionados evolutivamente en sus secuencias de ACE-2 y TMPRSS-2 (Figuras 9 y 10) serían co-susceptibles de infección de acuerdo a la estructura genética y funcionalidad. Así aquellas especies/secuencias más alejadas en clados correlativamente mas externos tendrían una menor susceptibilidad a la infección, siendo los casos mas extremos de baja susceptibilidad en orden decreciente: aves, reptiles, anfibios y peces, cuyos clados están mas alejados en ambas topologías.

**DIVERGENCIA FILOGENÉTICA MOLECULAR DE LAS PROTEÍNAS ACE – 2
(ENZIMA CONVERTIDORA DE ANGIOTENSINA II) Y TMPRSS – 2 (SERIN – PROTEASA
TRANSMEMBRANA – 2) EN VERTEBRADOS Y SU RELACIÓN
CON EL POTENCIAL DE INFECCIÓN POR SARS – COV – 2**

Las secuencias/organismos mas relacionados filogenéticamente están representados son las de primates del viejo mundo, lo cual ha ocurrido con chimpances y gorilas en zoológicos en infección reversa REF.

Luego de primates y en orden de relación filogenética, la topologia de ACE-2 sugiere una mayor suscetibilidad para mamiferos carnivoros (mustelidos, cánidos, felidos), de producción o domésticos (cerdos, bovinos) y murciélagos. En ambas topologias (ACE-2 y TMPRSS2) tanto carnivoros como murcielagos muestran una relación hermana con primates, indicando que ambos grupos podrían ser igualmente un hospedador intermediario de spillover, sin embargo, la única evidencia de secuencias de SARS-Cov-2 precursor del virus de Wuhan han sido detectadas en murciélagos. La posición de la secuencia ACE-2 de cerdo (*Sus scrofa*) sugiere que estos animales podrian ser un modelo experimental adecuado. Por otra parte, lo roedores, organismos utilizados frecuentemente como animales experimentales de laboratorio muestran secuencias de ACE-2 y TMPRSS2 alejadas evolutivamente de las de humanos.

Si observamos los valores de “Bootstrap” correspondientes a las diferentes ramas del árbol nos daremos cuenta que los valores entre 70 y 100% se encuentran en un rango aceptable para ambas enzimas, lo que indica que las relaciones evolutivas observadas son altamente confiables (Farris, 2008) (Kumar, Stecher, Li, Knyaz, & Tamura, 2018) (Saitou & Nei, 1987) (Adamna & Opayele, 2020) (Almaguer, Cuello, & Almaguer, 2020) (Bourgonie, y otros, 2019) (Chen, y otros, 2010) (Cooper, Hooper, Korstanje, Osterhaus, & Timens, 2007) (Kai, y otros, 2021) (Qjy, Zhao, Liao, & Ge, 2020)

**DIVERGENCIA FILOGENÉTICA MOLECULAR DE LAS PROTEÍNAS ACE – 2
(ENZIMA CONVERTIDORA DE ANGIOTENSINA II) Y TMPRSS – 2 (SERIN – PROTEASA
TRANSMEMBRANA – 2) EN VERTEBRADOS Y SU RELACIÓN
CON EL POTENCIAL DE INFECCIÓN POR SARS – COV – 2**

Figura 7. Clasificación tradicional vs Filogénica de los vertebrados (Carr & M., 2021)

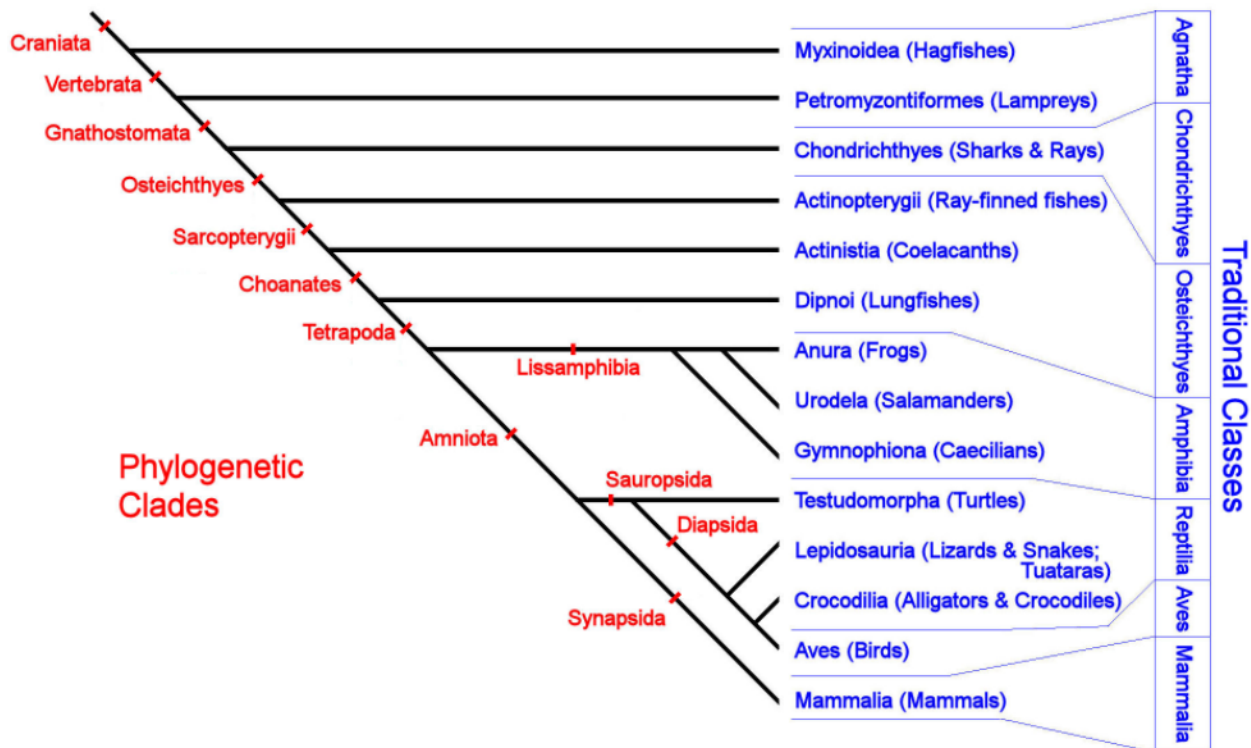
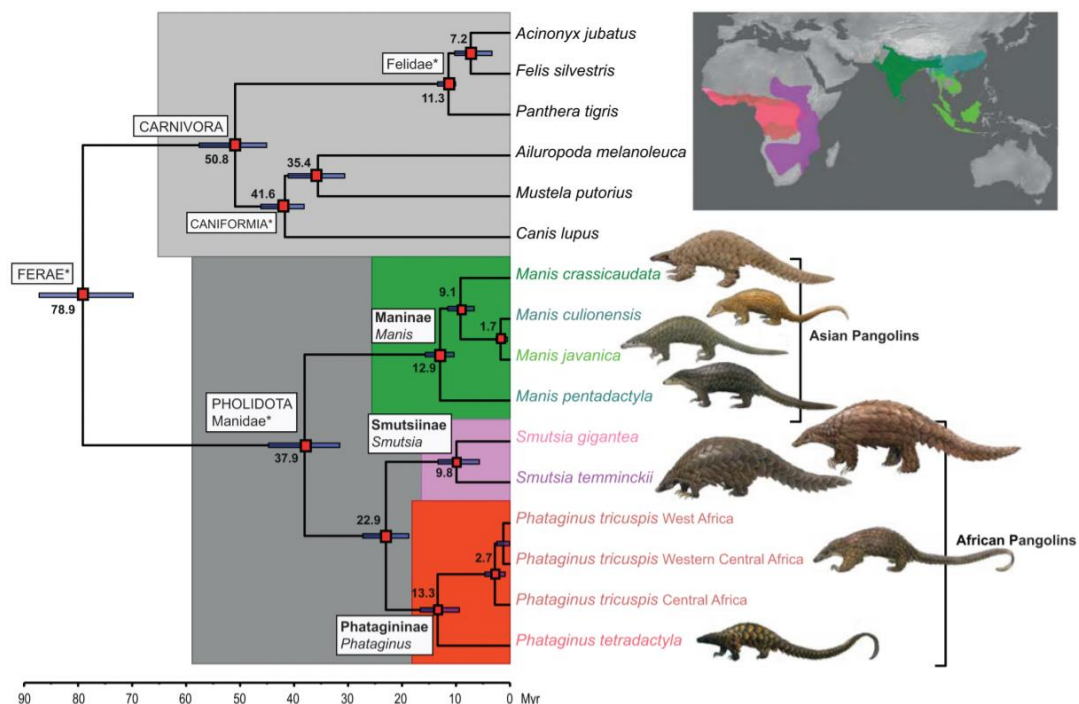
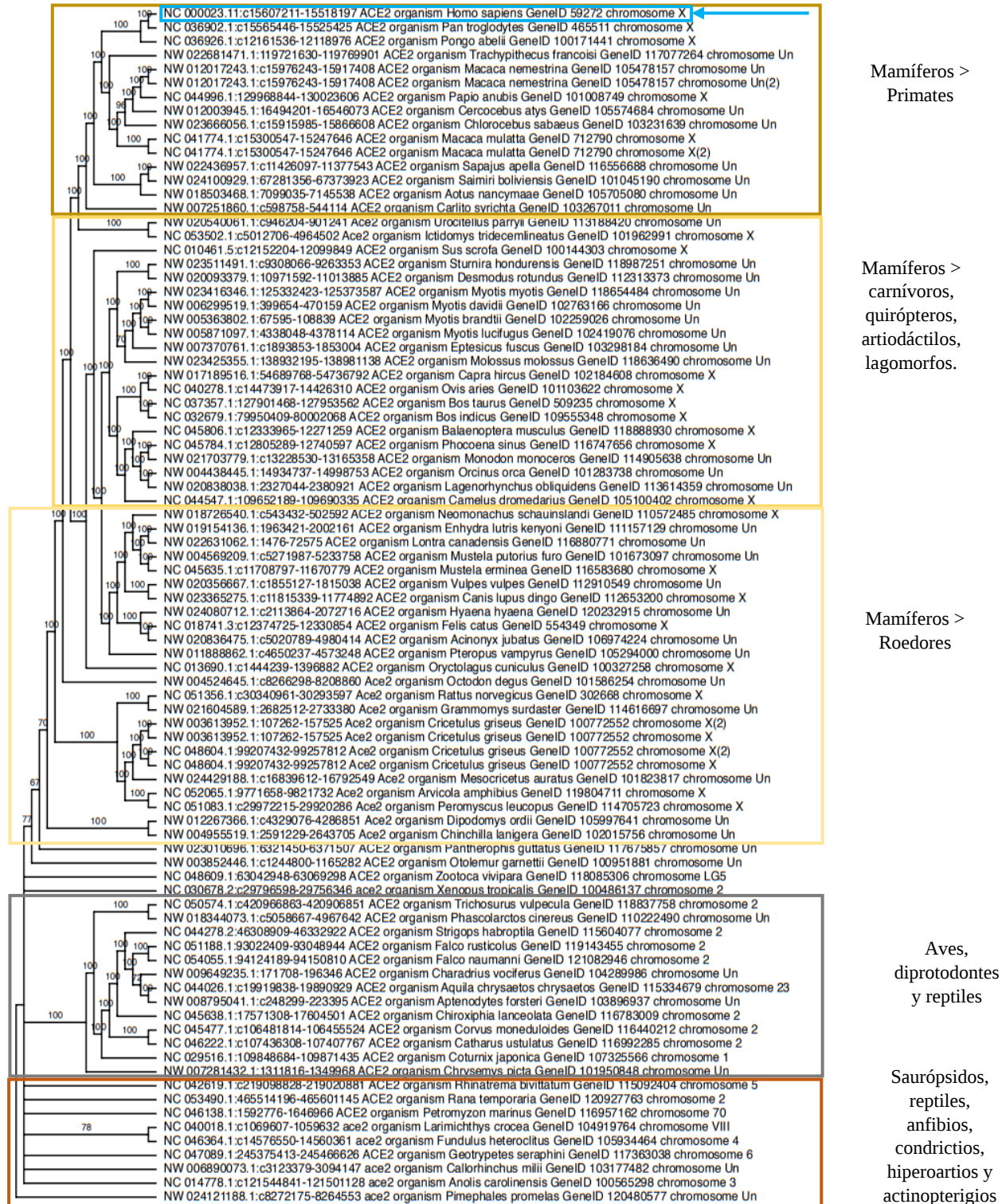


Figura 8. Clasificación de especies de pangolines revisada (Gaubert, y otros, 2017)



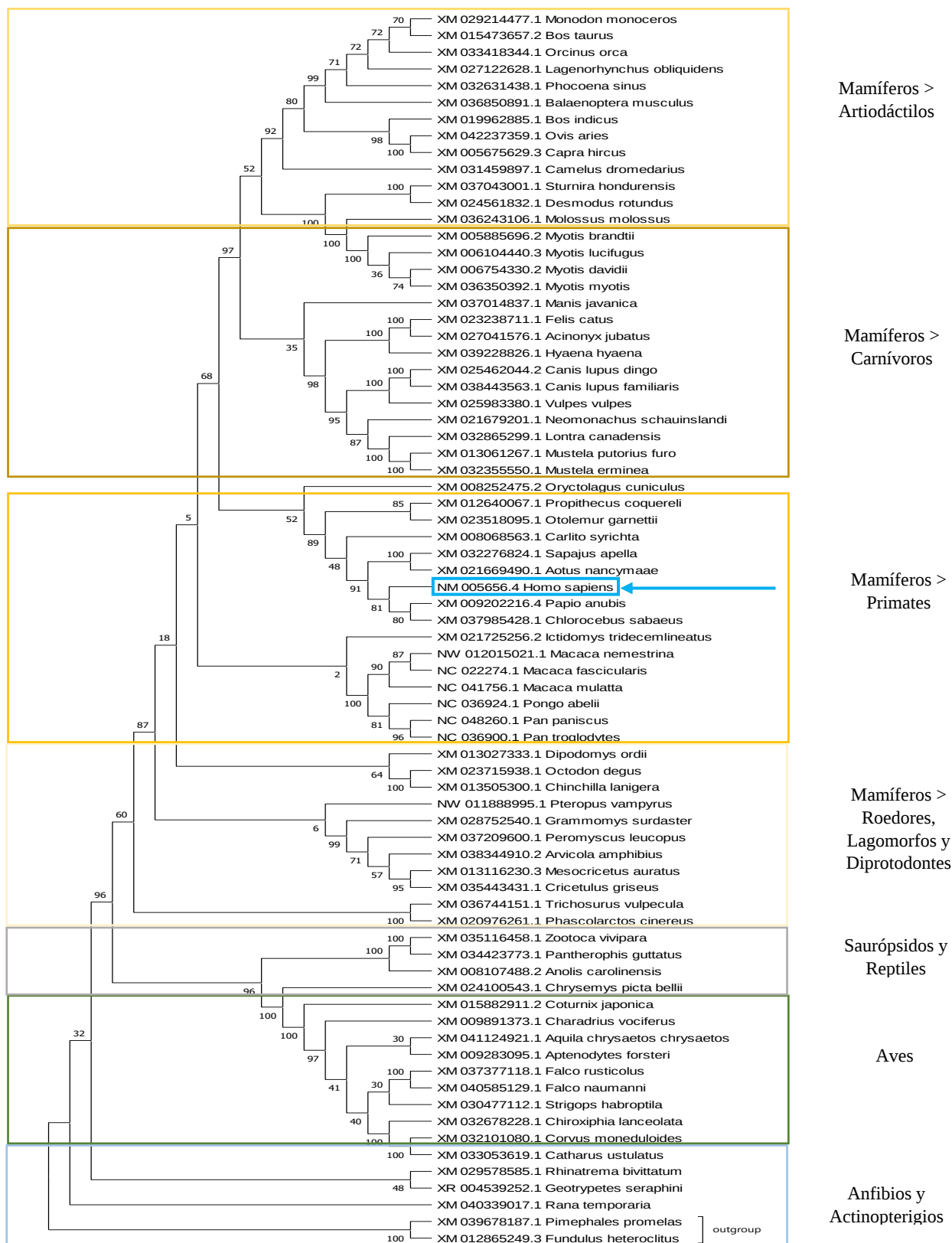
**DIVERGENCIA FILOGENÉTICA MOLECULAR DE LAS PROTEÍNAS ACE – 2
(ENZIMA CONVERTIDORA DE ANGIOTENSINA II) Y TMPRSS – 2 (SERIN – PROTEASA
TRANSMEMBRANA – 2) EN VERTEBRADOS Y SU RELACIÓN
CON EL POTENCIAL DE INFECCIÓN POR SARS – COV – 2**

Figura 9. Árbol filogenético para ACE - 2 señalando en cuadros de colores los clados evolutivos y taxonómicos analizados



**DIVERGENCIA FILOGENÉTICA MOLECULAR DE LAS PROTEÍNAS ACE – 2
(ENZIMA CONVERTIDORA DE ANGIOTENSINA II) Y TMPRSS – 2 (SERIN – PROTEASA
TRANSMEMBRANA – 2) EN VERTEBRADOS Y SU RELACIÓN
CON EL POTENCIAL DE INFECCIÓN POR SARS – COV – 2**

Figura 10. Árbol filogenético para TMPRSS-2 señalando en cuadros de colores los clados evolutivos y taxonómicos analizados



**DIVERGENCIA FILOGENÉTICA MOLECULAR DE LAS PROTEÍNAS ACE – 2
(ENZIMA CONVERTIDORA DE ANGIOTENSINA II) Y TMPRSS – 2 (SERIN – PROTEASA
TRANSMEMBRANA – 2) EN VERTEBRADOS Y SU RELACIÓN
CON EL POTENCIAL DE INFECCIÓN POR SARS – COV – 2**

Mas detalladamente, el orden de los quirópteros (murciélagos) se encuentra como grupo hermano de los carnívoros y de vertebrados domésticos (Figura 9). Por otra parte, la secuencias *Manis javanica* (pangolin), solo disponible para TMPRSS-2 (Figura 10) (Tabla 2), se ubicó relacionada externamente con carnívoros (canidos y mustelidos) pero con bajo apoyo de bootstrap, por lo que su relación puede estar en algunas soluciones parsimoniosas asociadas a quirópteros (murciélagos). Esta topología es coherente con la vía de transmisión que se ha propuesto hacia los seres humanos. Cánidos, félidos, mustélidos y *Manis spp.* forman un clado en TMPRSS-2 apoyando la alta transmisibilidad de SARS-Cov-2 desde humanos a animales domésticos y de cría, facilitado por esta enzima (Figura 10).

Esto podría interpretarse de manera que las relaciones cercanas evolutivamente al humano suponen un riesgo de patología (Figura 9), mientras alejados evolutivamente constituye un incremento en la posibilidad de portar el patógeno asintóticamente y sin desarrollo de patología. Esto explicaría por qué las especies de murciélagos representan un reservorio biológico tan importante de la enfermedad sin aparentemente algún cuadro clínico comprobado que pueda relacionarse con las mismas y, probablemente se debe a que carecen de las particularidades estructurales moleculares que se expresan en las enzimas de primates que facilitan la infección celular y la pérdida de la capacidad de regulación de la respuesta inflamatoria que es correspondiente al cuadro clínico observado en los humanos (Figura 10) (Adamna & Opayele, 2020) (Almaguer, Cuello, & Almaguer, 2020) (Fenollar, y otros, 2021) (Kai, y otros, 2021) (Prince, y otros, 2021) (Moratelli & Calisher, 2015) (Sharun, y otros, 2021).

**DIVERGENCIA FILOGENÉTICA MOLECULAR DE LAS PROTEÍNAS ACE – 2
(ENZIMA CONVERTIDORA DE ANGIOTENSINA II) Y TMPRSS – 2 (SERIN – PROTEASA
TRANSMEMBRANA – 2) EN VERTEBRADOS Y SU RELACIÓN
CON EL POTENCIAL DE INFECCIÓN POR SARS – COV – 2**

Conclusiones

Las características físico – químicas y moleculares de ACE – 2 y TMPRSS2 parecen ser los factores que determinan no solo la posibilidad de infección, sino también la gravedad de la enfermedad COVID - 19.

La topología observada en los árboles filogenéticos muestra una cofilogenia entre la funcionalidad de las proteínas y la escala o clasificación taxonómica evolutiva de las especies, lo que permite establecer relaciones de susceptibilidad de las especies a través de las secuencias de ADN y de aminoácidos de las proteínas.

La topología de los árboles muestra un patrón cercano a la taxonomía y evolución de los organismos, y adicionalmente sugieren una susceptibilidad decreciente desde el punto más interno del árbol (mamíferos-primates) hacia los clados más externos (peces). Los primates son entonces los vertebrados más susceptibles, puesto que sus enzimas son las más similares a aquellas expresadas por los seres humanos, posteriormente los mamíferos carnívoros (canidos, felidos, mustelidos y pangolines) y quirópteros (murciélagos) que poseen las secuencias de estas enzimas más cercanas evolutivamente, que podrían explicar su participación en la transmisión de las enfermedades sin la presencia de cuadros clínicos fatales.

Análisis bioinformáticos prospectivos inmediatos deben enfocarse en identificar mediante estos mismos métodos, las hipótesis basadas en la filogenia de aminoácidos y determinar las mutaciones que determinan sinapomorfias o caracteres que definen los clados como posibles cambios que proporcionan una mayor susceptibilidad a la infección.

**DIVERGENCIA FILOGENÉTICA MOLECULAR DE LAS PROTEÍNAS ACE – 2
(ENZIMA CONVERTIDORA DE ANGIOTENSINA II) Y TMPRSS – 2 (SERIN – PROTEASA
TRANSMEMBRANA – 2) EN VERTEBRADOS Y SU RELACIÓN
CON EL POTENCIAL DE INFECCIÓN POR SARS – COV – 2**

Estas mutaciones correlacionadas con los cambios en la superficie de la proteína Spike del SRAS-Cov-2 podría dtereminar una via evolutiva hacia variantes menos transmisibles, y proponer proteínas receptoras recombinantes de bloqueo de la infección como terapia preventiva.

Bibliografía

- Adamna, J., & Opayele, A. (2020). Mink, SARS - CoV - 2, and the Human - Animal Interface. *Frontiers in Microbiology*, 185 - 202.
- Almaguer, L., Cuello, D., & Almaguer, D. (2020). Rol de los genes ACE2 y TMPRSS2 en la susceptibilidad o gravedad del COVID-19. *Anales de la Academia de Ciencias de Cuba*.
- Arias, P. (2005). Glándula Suprarrenal . En M. Dvorkin, & D. Cardinali, *Best & Taylor Bases Fisiológicas de la Práctica Médica* (págs. 627 - 657). Bogotá: Medica Panamericana.
- Bourgonie, A., Andulle, A., Timens, A., Hillebrands, J.-L., Navis, G., Gordijn, S., & otros, y. (2019). Angiotensin - Converting Enzyme 2 (ACE2), SARS - CoV - 2 and pathophysiology of coronavirus disease 2019 (COVID19). *Journal of Pathology*.
- Carr, & M., S. (2021). Traditional versus Phylogenetic classification of Vertebrata. *Memorial University*.
- Chen, Y.-W., Lee, M.-S., Lucht, A., Chou, F.-P., Huang, W., & Havighurst, T. (2010). TMPRSS2, a Serine Protease Expressed in the Prostate on the Apical Surface of Luminal Epithelial Cells and Released into Semen in Prostatomes, Is Misregulated in Prostate Cancer Cells. *The American Journal of Pathology*, 2986 - 2996.

**DIVERGENCIA FILOGENÉTICA MOLECULAR DE LAS PROTEÍNAS ACE – 2
(ENZIMA CONVERTIDORA DE ANGIOTENSINA II) Y TMPRSS – 2 (SERIN – PROTEASA
TRANSMEMBRANA – 2) EN VERTEBRADOS Y SU RELACIÓN
CON EL POTENCIAL DE INFECCIÓN POR SARS – COV – 2**

- Cooper, M., Hooper, N., Korstanje, R., Osterhaus, A., & Timens, W. (2007). The emerging role of ACE2 in Physiology and disease. *Journal of Pathology*, 1 - 11.
- Deng, Q., ur Rasool, R., Russell, R., Natesan, R., & Asagani, I. (2021). Targeting Androgen Regulation of TMPRSS - 2 and ACE - 2 as a therapeutic strategy to combat COVID - 19. *iScience*.
- Drexler, J., Victor, C., Wegner, T., Tateno, A., Zerbinati, R., & Florian, G.-R. (2011). Amplification of emerging Viruses in a Bat Colony. *Emerging Infectious Diseases*, 448 - 456.
- Elliot, R. (1997). Emerging Viruases: The Bunyaviridae . *The Picower Institute Press*, 572 - 577.
- Farris, J. (2008). Parsimony and explanatory power. *Cladistics*, 825 - 847.
- Felsenstein, J. (1985). Confidence Limits on Phylogenies: An Approach Using The Bootstrap. *Evolution*, 783 - 791.
- Fenollar, F., Mediannikov, O., Maurin, M., Devaux, C., Colson, P., & Levasseur, A. (2021). Mink, SARS - CoV - 2, and the Human - Animal Interface. *Frontiers in Microbiology*.
- Gaubert, P., Antunes, A., Meng, H., Miao, L., Pigné, S., Justy, F., . . . Lou, S.-J. (2017). The Complete Phylogeny of Pangolins: Scaling Up Resources for the Molecular Tracing of the Most Trafficked Mammals on Earth. *American Genetic Association*, 347 - 359.
- Guyton, A., & Hall, J. (2006). Función dominante del riñón en la regulación a largo plazo de la presión arterial y en la hipertensión: el sistema integrado de control de la presión. En A.

**DIVERGENCIA FILOGENÉTICA MOLECULAR DE LAS PROTEÍNAS ACE – 2
(ENZIMA CONVERTIDORA DE ANGIOTENSINA II) Y TMPRSS – 2 (SERIN – PROTEASA
TRANSMEMBRANA – 2) EN VERTEBRADOS Y SU RELACIÓN
CON EL POTENCIAL DE INFECCIÓN POR SARS – COV – 2**

- Guyton, & J. Hall, *Tratado de Fisiología Médica* (págs. 216 - 231). Madrid: Grafos S. A.
- He, H.-L., Liu, D., & Ma, C.-M. (2013). Review on the Angiotensin - I - Converting Enzyme (ACE) Inhibitor Peptides from Marine Proteins. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 738-749.
- Hoffman, M., Kleine - Weber, H., Schroeder, S., Krüeger, N., Herrler, T., & Erichsen, S. (2020). SARS - CoV - 2 Cell Entry Depends on ACE2 and TMPRSS2 and Is Blocked by Clinically Proven Protease Inhibitor. *Cell*.
- Imai, Y., Kuna, K., Ohto-Nakanishi, T., & Penniger, J. (2012). Angiotensin-Converting Enzyme 2 (ACE2) in Disease Pathogenesis. *Circulation Journal*, 504 - 510.
- Judson, S., & Munster, V. (2019). Nosocomial Transmission of Emerging Viruses via Aerosol - Generating Medical procedures. *Viruses*.
- Kai, H., Kai, M., Niyama, H., Okina, N., Sasaki, M., & Maeda, T. (2021). Overexpression of angiotensin-converting enzyme 2 by renin-angiotensin system inhibitors. Truth or myth? A systematic review of animal studies. *Hypertension Research*.
- Kim, T., Heinlein, C., Hackman, R., & Nelson, P. (2006). Phenotypic Analysis of Mice Lacking the TMPRSS2-Encoded Protease. *Molecular and Cellular Biology*, 965 - 975.
- Ko, C., Hsu, T.-W., Wu, S.-R., Lan, S.-W., Hsiao, T.-F., & Lin, H.-Y. (2020). Inhibition of TMPRSS2 by HAI-2 reduces prostate cancer cell invasion and metastasis. *Oncogene*.

**DIVERGENCIA FILOGENÉTICA MOLECULAR DE LAS PROTEÍNAS ACE – 2
(ENZIMA CONVERTIDORA DE ANGIOTENSINA II) Y TMPRSS – 2 (SERIN – PROTEASA
TRANSMEMBRANA – 2) EN VERTEBRADOS Y SU RELACIÓN
CON EL POTENCIAL DE INFECCIÓN POR SARS – COV – 2**

Kumar, S., Stecher, G., Christina, K., & Kiochiro, T. (2018). *Citing MEGA in Publications*.

Obtenido de MEGAX:

https://www.megasoftware.net/web_help_10/Citing_MEGA_In_Publications.htm

Kumar, S., Stecher, G., Li, M., Knyaz, C., & Tamura, K. (2018). MEGA X: Molecular Evolutionary Genetics Analysis across computing platforms. *Oxford University Press*.

La Rosa, G., Fartini, M., Libera, S., Jaconelli, M., & Muscillo, M. (2012). Emerging and potentially emerging viruses in water environments. *Ann Ist Super Santa*, 397 - 406.

Lei, Y., Zhang, J., Schiavon, C., He, M., & Chen, L. (2021). SARS - CoV - 2 Spike Protein Impairs Endothelial Function via Downregulation of ACE 2. *Circulation Research*, 1323 - 1326.

Lima-Camara, T. (2016). Emerging Arboviruses and Public Health challenges in Brazil. *Revista de Saúde Pública*.

M, G., & Morales, L. (2014). Emerging alphaviruses in the Americas: Chikungunya and Manyaro. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 677 - 683.

Martínez-Hernández, F., Isaak-Delgado, A., Alfonso-Toledo, J., Muñoz-Garcia, C., Villalobos, G., & Aréchiga-Ceballos, N. (2020). Assessing the SARS - CoV - 2 threat to wildlife: Potential risk to a board range of mammals. *Perspectives in ecology and conservation*, 223 - 234.

McCormick, K., Jacobs, J., & Mellor, J. (2021). The emerging plasticity of SARS - CoV - 2: the evolution of SARS - CoV - 2 poses challenges for vaccines and immunotherapies. *Sicence*, 1306 - 1308.

**DIVERGENCIA FILOGENÉTICA MOLECULAR DE LAS PROTEÍNAS ACE – 2
(ENZIMA CONVERTIDORA DE ANGIOTENSINA II) Y TMPRSS – 2 (SERIN – PROTEASA
TRANSMEMBRANA – 2) EN VERTEBRADOS Y SU RELACIÓN
CON EL POTENCIAL DE INFECCIÓN POR SARS – COV – 2**

- Mollica, V., Rizzo, A., & Massari, F. (2020). The pivotal role of TMPRSS2 in coronavirus disease 2019 and prostate cancer. *Future Oncology*.
- Moratelli, V., & Calisher, C. (2015). Bats and zoonotic viruses: can we confidently link bats with emerging deadly viruses? . *Mem Inst Oswaldo Cruz*, 1 - 22.
- Ni, W., Yang, X., Yang, D., Bao, J., Xiao, Y., & Hou, C. (2020). Role of angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2) in COVID - 19. *Critical Care*.
- Prabakaran, P., Xiao, X., & Dimitrov, D. (2004). A model of ACE2 Structure and function as a SARS - CoV receptor. *Science Direct*, 235 - 241.
- Prince, T., Smith, S., Radford, A., Solomon, T., Hughes, G., & Patterson, E. (2021). SARS - CoV - 2 Infections in Animals: Reservoirs for Reverse Zoonosis and Models for Study. . *Viruses*.
- Qjy, Y., Zhao, Y.-B., Liao, C.-H., & Ge, X.-Y. (2020). Predicting the angiotensin converting enzyme 2 (ACE2) utilizing capability as the receptor of SARS - CoV - 2 . *Microbes and Infection*, 221 - 225.
- Ribas, M., Oliveira, Z., Salgueirosa, F., Fernandez, P., de Matos, O., & Bassan, J. (2017). Association of ACTN3 R577X and ACE1/D polymorphisms in brazilians wrestlers. *Sociedade Brasileira de Medicina do Exercício e do Esporte*, 469 - 472.
- Rojas, M., Monsalve, D., Pacheco, Y., Acosta-Ampudia, Y., Ramirez-Santana, C., & Ansari, A. (2019). Ebola virus disease: An emerging and re - emerging viral threat. *Journal of Autoimmunity*.

**DIVERGENCIA FILOGENÉTICA MOLECULAR DE LAS PROTEÍNAS ACE – 2
(ENZIMA CONVERTIDORA DE ANGIOTENSINA II) Y TMPRSS – 2 (SERIN – PROTEASA
TRANSMEMBRANA – 2) EN VERTEBRADOS Y SU RELACIÓN
CON EL POTENCIAL DE INFECCIÓN POR SARS – COV – 2**

- Saitou, N., & Nei, M. (1987). The Neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Molecular Biology Evolution*, 406 - 425.
- Sharma, V., Kaushik, S., Kumar, R., Yadav, J., & Kaushik, S. (2021). Emerging Trends of Nipah virus: A review. *Rev. Med. Virol.*
- Sharun, K., Dhama, K., Pawde, A., Gortázar, C., Tiwari, R., & Bonilla-Aldana, K. (2021). SARS - CoV - 2 in animals: potential for unknown reservoir hosts and public health implications. *Veterinary Quarterly*, 181 -201.
- Swofford, D. (2017). *DOCUMENTATION*. Obtenido de PAUP*(*Phylogenetic Analysis Using PAUP): <https://paup.phylosolutions.com/documentation/>
- Turner, A. (2015). ACE2 Cell Biology, Regulation and Physiological Functions. *The Protective Arm of the Renin-Angiotensin System (RAS)* , 185 - 189.
- WHO. (31 de Mayo de 2021). *Coronavirus Disease (COVID-19) Weekly Epidemiological Update and Weekly Operational Update*. Obtenido de World Health Organization: <https://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019/situation-reports>