

VIRUS ONCOGENOS HUMANOS. NUEVOS APORTES

Jorge V. Pavan, Mariela V. Coranti, Santos Sileoni *

* Instituto de Virología "Dr. José Vanella", Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de Córdoba. Ciudad Universitaria, Estafeta postal 32, 5000, Córdoba.

El desarrollo tumoral es considerado como un proceso de microevolución, caracterizado por cambios que secuencialmente emancipan a un clon de células somáticas de los mecanismos que regulan su crecimiento. El daño genético tiene como consecuencia la alteración de los mecanismos que regulan los puntos críticos del ciclo celular. Estos cambios genéticos pueden ser de dos tipos:

(1) **dominantes:** determinados por la alteración de *genes esenciales celulares que estimulan la proliferación celular* denominados protooncogenes, y en donde la célula adquiere una nueva función.

(2) **recesivos:** determinados por la pérdida de *genes que inhiben la proliferación celular* denominados genes oncosupresores o antioncogenes, cuyas alteraciones provocan la pérdida de una función de control celular.

El primer estadio del proceso carcinogenético, la iniciación del tumor, se refiere a la exposición de las células normales a carcinógenos químicos, físicos o infecciosos que causan un daño genético en la célula susceptible, resultando en una activación de protooncogenes o inactivación de genes oncosupresores. En la actualidad se acepta que los virus contribuyen probablemente al desarrollo de un 20% de los cánceres humanos (6).

La hipótesis que agentes infecciosos estuvieran implicados en la etiología de procesos neoplásicos se inicia en 1894 con Variot (30), quien demostró la transmisión de verrugas vulgares inoculando un macerado de las mismas. Ellerman y Bang en 1908 (7), transmiten las

leucemias aviarias a partir de extractos de tejidos leucémicos. La demostración por parte de Peyton Rous en 1911 (22), de un agente filtrante, no celular, que podía causar sarcomas en pollos, inició un gran interés en los virus como probables agentes etiológicos del cáncer. El interés inicial se desvaneció con los años por la falta de evidencias de un cáncer humano asociado a la presencia de virus.

La asociación del virus de la Hepatitis B con el hepatocarcinoma y el descubrimiento del primer Retrovirus humano (12), iniciaron el resurgimiento de los virus como patógenos del cáncer humano, marcando el comienzo de una nueva época.

Características del cáncer humano asociado a virus

Los virus tumorales representan un grupo heterogéneo de agentes infecciosos. Estos pertenecen a diversas familias y están implicados ya sea en tumores en sus huéspedes naturales, como así también, de tumores en modelos experimentales.

El cáncer humano asociado a virus posee las siguientes características:

1- El tiempo de incubación entre la infección viral y el desarrollo de la neoplasia es prolongado.

2- Sólo un pequeño número de los sujetos infectados desarrolla la enfermedad neoplásica. (1 en 100-100.000)

3- Los cofactores ambientales y genéticos adquieren importancia, como un proceso de microevolución y de cambios secuenciales que

emancipan paulatinamente un clon de células de los mecanismos que controlan su crecimiento.

Las patologías asociadas a los virus oncogénicos humanos se resumen en la Tabla I.

Mecanismos de la transformación celular inducida por virus a RNA

Desde comienzos de siglo los Retrovirus son reconocidos como agentes infecciosos oncogénicos. Estos participan en procesos tumorigénicos en varias especies animales (aves, ratones, gatos, caballos, monos, hombre). En la actualidad cuatro retrovirus humanos han sido aislados y caracterizados: el virus de la leucemia humana de células T tipo I (HTLV I), el virus de la leucemia humana de células T tipo II (HTLV II) y los virus de la inmunodeficiencia humana tipo 1 y tipo 2 (HIV 1 y HIV 2) (12, 13).

Los mecanismos de la transformación celular por virus tumorales a RNA, comprenden directa o indirectamente varios oncogenes que tienen un origen celular (proto-oncogenes) y que no juegan ningún papel en el ciclo de vida del virus (ver tabla II). Los oncogenes en los virus tumorales a RNA, derivan de la célula misma. Las versiones celulares de estos genes, se denominan *protooncogenes* o *c-oncogenes*, distinguiéndose de los *oncogenes virales* o *v-oncogenes*. Los protooncogenes expresados en la célula apropiada bajo el normal control celular no son oncogénicos y realizan importantes funciones en el ciclo celular.

El ciclo replicativo de los Retrovirus el DNA viral se integra en el genoma de la célula huésped como un provirus. Esta característica le confiere al retrovirus: (I) la capacidad para adquirir y transmitir material genético celular y; (II) la capacidad de activar por su inserción protooncogenes celulares.

Los mecanismos mediante los cuales los virus a RNA transforman una célula, comprenden vías directas e indirectas. En el *mecanismo directo* la célula progenitora infectada por el virus da origen a la célula tumoral. *En el indirecto*, la célula blanco de la infección viral no es la que luego se transforma; pero de algún modo la célula infectada es la responsable del desarrollo tumoral. La infección por HTLV I, por

ejemplo, está asociada a la leucemia de células B, a pesar que estas células no estarían infectadas por el virus. Una posible explicación a este fenómeno es la liberación de factores de crecimiento celular o la disminución de la vigilancia inmunológica causados por las células infectadas por el HTLV I.

Los mecanismos directos de tumorigénesis que se proponen para los retrovirus son los siguientes:

1- Retrovirus portadores de un oncogen.

En algunos retrovirus una parte de su genoma ha sido reemplazada por secuencias pertenecientes a un oncogen celular (27).

Las características de estos retrovirus son las siguientes:

(a) Son virus defectivos y requieren de un virus "helper" para poder replicarse, pues han perdido una parte de su genoma.

(b) Son virus transformantes agudos, es decir el periodo de latencia del tumor es corto.

(c) Tienen capacidad para transformar células in vitro, con una elevada eficiencia (100%).

Ejemplos: El virus del sarcoma de Rous, el virus del sarcoma simiano.

2- Retrovirus que activan con su integración oncogenes celulares

La mayoría de los retrovirus poseen su genoma completo y se integran al genoma celular, de un modo selectivo, cerca de un gen específico celular, el que es activado por las secuencias reguladoras virales (activación en cis).

Las características de estos retrovirus son:

(a) Son virus con su maquinaria reproductiva completa.

(b) Son virus transformantes lentos, es decir el periodo de latencia del tumor es prolongado.

(c) No tienen capacidad para transformar células in vitro.

Ejemplos: el virus de la leucosis aviaria, que causa leucemia de células B en pollos, se integra adyacente al protooncogen c-myc, activándolo.

3- Retrovirus que interfieren en el control transcripcional de genes celulares:

Con el descubrimiento de los retrovirus humanos se reveló un nuevo mecanismo de oncogénesis viral. Los genes de algunos retrovirus están comprometidos en forma directa en la oncogénesis, interfiriendo en el control transcripcional de genes celulares, desregulando su transcripción a distancia (activación en "trans").

Las características de estos retrovirus son las siguientes:

- (a) Son virus completos
- (b) El periodo de latencia del tumor es prolongado.
- (c) La eficiencia de la formación tumoral es baja (>1%).
- (d) Los virus no tienen capacidad para transformar células *in vitro*.
- (e) La integración del virus es al azar, no se ha observado ningún sitio específico de integración en el genoma de la célula huésped.
- (f) Poseen genes que transactivan la expresión de genes celulares claves.

Ejemplos: HTLV I y II contienen genes (tax) que transactivan el gen celular de la interleuquina 2 y el de su receptor (13).

Más recientemente ha sido demostrado que la expresión de determinados oncogenes (c-myc) o genes oncosupresores mutados (mutantes de la p53) pueden a su vez, también transactivar la secuencia reguladora del HIV (26). Se instaure de este modo un juego complejo y peligroso en donde secuencias virales transactivan secuencias celulares, y éstas a su vez hacen lo mismo con las virales.

4- Retrovirus que transforman por mimética molecular y mutagénesis insercional.

El virus de la leucemia murina de Friend posee un mecanismo de transformación no bien claro que comprende la interacción entre la envoltura viral y la célula (33). Esta singular situación es causada por la expresión alterada de una proteína de la envoltura viral que estimularía la división celular, probablemente mimetizando molecularmente señales mitogénicas naturales. Por otra parte el provirus

se integraría en sitios preferenciales dentro del genoma celular. La integración afectaría la expresión del gen oncosupresor p53 (23).

Mecanismos de la transformación celular inducida por virus DNA:

Los desoxiribovirus constituyen un grupo viral heterogéneo, conformado por virus que pertenecen a familias diversas: Poxvirus, Papovavirus, Adenovirus, Herpesvirus y Hepadnavirus. Estos agentes infecciosos inducen tumores sólidos benignos o malignos en los vertebrados. Algunos están implicados en la oncogénesis humana como cofactores en asociación con otros oncogenes o carcinógenos.

Tienen la capacidad de transformar en forma parcial o total células normales cultivadas *in vitro*, transfiriéndoles sus características neoplásicas. Algunos de ellos participan en la etiología de manifestaciones tumorales en su huésped natural (Poxvirus, Papilomavirus, Herpesvirus y Hepadnavirus), mientras otros son oncógenos solamente en condiciones experimentales y en animales diferentes a su huésped natural (Poliomavirus y Adenovirus). Muchos de ellos son utilizados casi exclusivamente en modelos experimentales de transformación *in vitro* para el estudio de los mecanismos biológicos y moleculares de la conversión neoplásica.

El genoma de los virus oncógenos a DNA está típicamente compuesto por genes de dos categorías: una de ellas son genes que codifican para las proteínas estructurales que forman la partícula viral dentro de la célula huésped y la otra categoría comprende genes que codifican para proteínas que regulan la expresión del genoma viral y del genoma celular (ver la tabla III). Los oncogenes de los virus tumorales a DNA, son genes virales genuinos, el virus aporta un material genético extraño a la célula. Los genes transformantes en este caso, son esenciales para la replicación viral. Como verdaderos genes virales, no tienen homólogos celulares.

Los virus a DNA se relacionan con el huésped de dos modos diferentes, según este último permita o no un ciclo viral replicativo completo. En la primera opción, la *infección* es

productiva y el resultado final es la *lisis celular* y la presencia de *virus libre*. Cuando el huésped no permite la replicación del virión, la infección es *no productiva: el virus se integra y la célula se transforma*.

Las proteínas transformantes de los virus tumorales a DNA son multifuncionales, y su actividad oncogénica depende en parte de su capacidad de interactuar con las proteínas y el genoma de la célula huésped.

Los mecanismos postulados en la tumorigénesis inducida por virus a DNA son los siguientes:

a- Activación de protooncogenes:

Las proteínas transformantes virales pueden activar o aumentar la expresión de ciertos proto-oncogenes celulares. Es el caso de la oncoproteína T mediana de Poliomavirus, la cual activaría el protooncogen celular: src. La oncoproteína T de Poliomavirus se une a la pp60 src, la fosfoproteína codificada por el oncogen, que interviene en los procesos de transducción de señales a nivel de la membrana celular (4). Esta interacción conduce a la estimulación de la actividad de la proteína pp60 src y a la alteración de los mecanismos normales de su regulación. En el carcinoma genital el genoma de Papilomavirus Humanos se integraría preferencialmente adyacente al gen myc, activándolo (5).

b- Inactivación de genes oncosupresores:

Diversas oncoproteínas transformantes de los virus a DNA forman un complejo con las proteínas celulares que regulan negativamente la proliferación celular (proteínas de los genes oncosupresores).

El genoma de Poliomavirus, Adenovirus y Papilomavirus, codifican para oncoproteínas nucleares (antígeno T, E1A y E1B, E6 y E7 respectivamente) que inactivarían la función reguladora de la p53 y de la p105Rb (2, 16). Recientemente ha sido demostrada la unión entre el antígeno nuclear del virus de Epstein Barr y las proteínas p53 y p105Rb (28), y la asociación entre el antígeno x del virus de la Hepatitis B y la p53 (9). Estas uniones o asociaciones explicarían un probable mecanismo de inactivación funcional del gen oncosupresor.

c- Interferencia en la transcripción de genes celulares:

La presencia de las oncoproteínas virales puede modificar la expresión de los genes celulares. El antígeno t pequeño de SV40 puede transactivar los promotores de la RNA polimerasa I y II (15).

La infección por el poliomavirus del ratón conduce a una estimulación en la transcripción de c-myc y c-fos (34). Resultados similares se han obtenido con el producto del gen x del virus de la Hepatitis B (1).

CONCLUSIONES:

Diversos puntos claves emergen de la interacción huésped-virus-oncogénesis; ellos son:

a- Familias completamente diferentes de virus utilizan mecanismos similares de transformación celular.

b- Por contrapartida, un mismo agente viral puede iniciar los eventos tumorigénicos por diferentes vías.

c- La tumorigénesis es un evento que se va desarrollando en múltiples etapas (23), que acumulan cambios genéticos progresivos.

Estas etapas han sido caracterizadas en el modelo de tumorigénesis colo-rectal, propuesto por Vogelstein y col. (8). Más recientemente H.zur Hausen ha descrito un esquema similar en la patogénesis del cáncer anogenital asociado a Papilomavirus Humanos (35).

d- La inmunosupresión juega un papel importante en el desarrollo de neoplasias asociadas a virus oncógenos, especialmente en la infección por el virus de la Inmunodeficiencia Humana, el virus Papiloma Humano y el virus de Epstein Barr.

Perspectivas:

Las células transformadas en modo estable pueden bajo ciertas circunstancias, restaurar el comportamiento normal (19, 29).

La reversión del fenotipo transformado puede ocurrir cuando células neoplásicas reciben por técnicas de fusión microcelular un cromosoma humano normal (25).

La introducción del cromosoma 6 humano en una línea celular murina transformada por el genoma de Poliomavirus BK, suprime el fenotipo

transformado inducido por el virus (14, 18, 21). Resultados similares se demostraron con el cromosoma 11 humano (17). Estos experimentos permitieron individualizar en los cromosomas 6 y 11 humanos, la presencia de genes con capacidad de suprimir la oncogenicidad en un modelo experimental de transformación viral; y que están del mismo modo implicados en el control de la expresión tumorigénica en las células humanas (19).

El enfoque terapéutico actual está destinado a modificar los genes humanos y virales con el objetivo de restituir el comportamiento celular normal (10). Esta corrección del defecto génico se encuentra en sus etapas iniciales y es denominada: terapia génica (32). Es necesario considerar si los cambios sufridos por la célula responden a (I) una ganancia o a (II) la pérdida de una función.

(I) Si la célula ha adquirido una función, la terapia debería inhibir de un modo específico la expresión de determinadas proteínas virales. La transformación celular depende de la continua expresión de oncoproteínas virales. La interferencia en la expresión génica puede ser lograda de diferentes modos. Uno de ellos es bloquear la transcripción del gen selectivamente, sin inhibir aquellos esenciales para la vida de la célula, mediante oligonucleótidos que reconozcan secuencias del DNA, inhibiendo la transcripción (antígenos). Otros pueden bloquear la síntesis proteica en el paso siguiente, luego que el RNAm es sintetizado. Se trata de un método en el cual secuencias oligonucleotídicas colocadas en sentido contrario reconocen, se unen y bloquean RNAm específicos inhibiendo la traducción proteica (24, 29, 31). Varias empresas farmacéuticas han iniciado proyectos de este tipo para interferir la expresión de los oncogenes de Papilomavirus Humanos. Otros métodos se basan en utilizar enzimas que destruyen específicamente RNAm (riboenzimas) (3).

(II) Si la célula ha perdido su función, inactivación de genes oncosupresores, la terapia debería introducir la información genética faltante (11). La introducción de genes específicos mediante vectores virales, permitiría restaurar la función.

Sin embargo, en la mayoría de las neoplasias

los cambios genéticos son múltiples y progresivos, lo que dificulta el enfoque terapéutico necesario y estimula la búsqueda de nuevos modelos de terapia génica. Para bloquear la expresión génica es necesario conocer del RNAm viral, y determinar que no sea compartida con otros RNA celulares, aún cuando estos últimos no son todos conocidos.

El descubrimiento del primer retrovirus humano, el conocimiento de los mecanismos moleculares de la transformación celular, la demostración experimental de la reversibilidad del fenotipo celular transformado y el inicio de la terapia génica, impulsan este nuevo momento en la historia de los virus oncogénicos humanos.

TABLA I

Virus Oncógenos Humanos	Tumores asociados
1. RNA virus	
1.1 Retrovirus	
Virus de la Inmunodeficiencia Humana tipo 1	Sarcoma de Kaposi Linfoma no Hodgkin
Virus de la Inmunodeficiencia Humana tipo 2	Sarcoma de Kaposi Linfoma no Hodgkin
Virus de la Leucemia Humana de Células T tipo 1	Leucemia de células T del adulto
Virus de la Leucemia Humana de Células T tipo 2	Leucemia de células peludas Leucemia Linfocítica Crónica
2. DNA Virus	
2.1 Hepadnavirus	
Virus de la Hepatitis B	Carcinoma hepatocelular
2.2 Papovavirus	
Virus Papiloma Humano Virus Polioma Humano	Carcinoma anogenital Oncogenicidad no demostrada en su huésped natural.
2.3 Adenovirus	
	Oncogenicidad no demostrada en su huésped natural
2.4 Herpesvirus	
Virus Epstein Barr	Linfoma de Burkitt Carcinoma nasofaríngeo Linfomas en inmunodeprimidos
2.6 Poxvirus	
Virus del Molusco Contagioso	Tumores benignos

TABLA II

Mecanismos de transformación	Oncogen	Retrovirus	Homólogo Celular
1- Síntesis de Factores de Crecimiento	<i>s/s</i>	V. del Sarcoma simiano	PDGF
2- Síntesis de Receptores para factores de crecim	<i>erb B</i> <i>fms</i>	V. de la Eritroblastosis Aviaria V. de la Leucemia felina	Receptor EGF Receptor CSF-1
3- Fosforilación de Proteínas			
3.1 Asociadas a la Membrana Celular	* <i>src</i> <i>abl</i>	V. del Sarcoma de Rous V. de la Leucemia Murina de Abelson	Desconocido Desconocido
3.2 Citoplasmáticas	<i>mos</i>	V. de la Leucemia Murina de Moloney	Factor de diferenciación de cél. germin.
4- Activación de la Adenilciclase celular	# <i>H-ras</i> <i>K-ras</i>	V. del sarcoma Murino de Harvey V. del sarcoma Murino de Kirsten	Desconocido Desconocido
5- Proteínas Nucleares	<i>myc</i> <i>myb</i>	V. del Mielocitoma Aviario V. de la Mieloblastosis Aviaria	Desconocido Factor Transcripcional

Se ha demostrado que los oncogenes virales han sido conservados de especie a especie durante el curso de la evolución:

**src*: tiene su homólogo en pollos, peces, mamíferos y *Drosophila*.

#*H-ras*: tiene su homólogo en pájaros, mamíferos, *Drosophila* y levaduras.

TABLA III: Expresión de los genes transformantes de los virus a DNA

Virus Oncógenos	Proteínas transformantes
Papovavirus	
Poliomavirus	Antígeno T grande Antígeno T mediano Antígeno t pequeño
Papilomavirus	E6 E7
Adenovirus	E1A E1B
Herpesvirus	
Virus Epstein Barr	Antígeno nuclear
Hepadnavirus	
Virus de la Hepatitis B	Proteína x
Poxvirus	Proteína similar al Factor de Crecimiento epidérmico.