

# Virus oncogénicos

**María Cristina Navas N.** Bact. MSc. PhD.

Facultad de Medicina, Grupo Gastrohepatología,  
U de Antioquia.

## Introducción

El cáncer es uno de los principales problemas de salud pública. La Organización Mundial de la Salud (O.M.S.) estimó para el año 2000 una prevalencia de 22.4 millones de casos, una incidencia de 10.1 millones de casos y por lo menos 6 millones de muertes asociadas a esta enfermedad.

El cáncer es el resultado de la acumulación de alteraciones genéticas que modifican la expresión y función de proteínas que juegan un papel crítico en el control del ciclo celular y la diferenciación. Este fenómeno se conoce como oncogénesis y se caracteriza por el crecimiento celular incontrolado.

La oncogénesis puede ser desencadenada por agentes carcinógenos químicos o físicos, o por la infección con ciertos microorganismos. Según la Agencia Internacional de Investigación en Cáncer (IARC), los principales carcinógenos físicos y químicos para humanos son tabaco, luz ultravioleta, asbesto y aflatoxinas. Sin embargo, la causa más frecuente de cáncer en humanos corresponde a las infecciones por virus, bacterias (*Helicobacter pylori*) y parásitos (*Schistosoma haematobium*, *Opisthorchis viverrini* y *Clonorchis sinensis*). La asociación entre infección y cáncer es especialmente importante en países en vías de desarrollo, en donde el 25% de los tumores malignos son causados por *Helicobacter pylori*, virus del papiloma humano, virus de la hepatitis B y virus de la hepatitis C. En 1995, de los 9 millones de casos de neoplasias que se diagnosticaron a nivel mundial, 1.6 millones se asociaron a infecciones virales.



## Historia

La primera evidencia de la capacidad oncogénica de un agente infeccioso fue presentada por los investigadores Vilhelm Ellerman y Olaf Bang en 1.908. El modelo de estudio consistió en gallinas inoculadas con un macerado, filtrado previamente en un filtro de Chamberland (filtro de porcelana, tamaño poro 100-500nm) de células de sangre periférica provenientes de animales con leucemia aviar; aproximadamente el 50% de las gallinas inoculadas desarrollaron la leucemia. Sin embargo, este hallazgo solo fue considerado válido varias décadas después, teniendo en cuenta que a principios del siglo XX, la leucemia no era clasificada como cáncer (solo los tumores sólidos se consideraban cáncer).

En 1.911, el Doctor Peyton Rous presentó a la comunidad científica los resultados de sus investigaciones en el modelo del sarcoma de Rous en gallinas. El utilizó una estrategia experimental muy similar a la de Ellerman y Bang, pero con más éxito. El Dr. Rous contó con la ventaja de trabajar con un tumor sólido, que se presentaba en el 100% de los animales inoculados con el macerado del tejido tumoral. Este trabajo mereció el premio Nóbel en 1.966. Posteriormente, los agentes infecciosos asociados al desarrollo de estos tipos de cáncer en gallinas fueron identificados como Virus de la Leucemia Aviar (VLA) y Virus del Sarcoma de Rous (VSR).

Aunque se lograron algunos descubrimientos en la primera mitad del siglo XX, gracias al desarrollo de los cultivos celulares in vitro y a la microscopía electrónica, la segunda mitad del siglo aportó importantes evidencias de la capacidad oncogénica de los virus. Posteriormente, con el advenimiento de la biología molecular en los años 70, se logró culminar un periodo de investigaciones científicas de casi un siglo, en el que se obtuvieron evidencias epidemiológicas y moleculares contundentes de la capacidad oncogénica de los virus y su importancia en salud pública.

En la tabla 1 se enumeran las principales investigaciones de virus oncogénicos y los respectivos autores, incluyendo tres premios Nóbel de Fisiología y Medicina: Peyton Rous en 1.966, Howard Temin y David Baltimore en 1.976 y J Michael Bishop y Harold Varmus en 1.989.

## Virus Oncogénicos - Generalidades

Los virus oncogénicos para el humano pertenecen a cinco familias diferentes y constituyen un grupo heterogéneo de virus ADN y ARN. Actualmente se reconocen siete virus oncogénicos: virus linfotrópico humano-1 (HTLV-1), virus de la inmunodeficiencia humana-1 (VIH-1), virus de Epstein Barr (VEB), virus herpes humano-8 (VHH-8), virus del papiloma humano (VPH), virus de la hepatitis B (VHB) y virus de la hepatitis C (VHC) (Tabla 2).

**Tabla 1. Principales descubrimientos en virología tumoral**

Fecha	Investigador	Descubrimiento
1908	V. Ellerman y O. Bang	Transmisión de leucemia aviar (VLA)
1911	P. Rous	Inducción de sarcoma en aves (VSR)
1932	R. Shope	Primer virus ADN tumoral (VPC)
1936	Bittner	Transmisión de cáncer mamario en ratones (MMTV)
1951	L. Gross	Primer virus ARN asociado a leucemia murina (MuLV)
1962	D. Burkitt	Observación de partículas virales en cultivo celular derivado de un tumor (VEB)
1964	Harvey	Primer virus ARN asociado al sarcoma en ratones (MuSV)
1970	Mason Pfizer	Primer virus ARN asociado al carcinoma en primates (MPMV)
1970	H. Temin y D. Baltimore	Detección de la transcriptasa reversa (ADN polimerasa ARN dependiente) en VSR y VLR
1970	P. Vogt y P. Duesberg	Primer oncogen viral (VSR)

VLA: Virus de la Leucosis Aviar, VSR: Virus del Sarcoma de Rous, VPC: Virus del Papiloma en conejos, MMTV: Mouse mammary tumour virus, MuLV: Virus de la leucemia murina, VEB: Virus de Epstein-Barr, MuSV: Virus del Sarcoma en ratones, MPMV: Virus de mono Mason-Pfizer, VLR: Virus de la Leucemia de Rauscher

**Tabla 2. Generalidades Virus Oncogénicos**

Grupo Taxonómico	Virus	Tumor
<b>Virus ARN</b>		
Retroviridae	Virus de la leucemia Aviar	Leucemia Aviar
	Virus del Sarcoma de Rous	Sarcoma Aviar
	HTLV-1	Leucemia de células T del adulto
	Virus de la Inmunodeficiencia Humana	*Hasta 1000 riesgo de Sarcoma de Kaposi y otros
Flaviviridae	Virus de la hepatitis C	Carcinoma hepatocelular
<b>Virus ADN</b>		
Herpesviridae	Virus de Epstein Barr	Linfoma de Burkitt Carcinoma nasofaringeo
	Virus Herpes Humano-8	Sarcoma de Kaposi
Papillomaviridae	Virus del Papiloma Humano	Carcinoma anogenital
Hepadnaviridae	Virus de la Hepatitis B	Carcinoma hepatocelular
Adenoviridae	Adenovirus	**Formación de tumores en modelo animal
Polyomaviridae	Virus Simiano 40	**Formación de tumores en modelo animal

\* Riesgo incrementado de desarrollar Sarcoma de Kaposi, linfoma no-Hodgkin, Linfoma Hodgkin, cáncer de cuello uterino y cáncer de testículo. \*\* No se ha demostrado su potencial oncogénico en el huésped natural, solamente en animales de laboratorio.

La IARC clasifica al HTLV-1, al VIH-1, al VEB, al VPH, al VHB y al VHC, como tipo 1, carcinógeno para el humano, mientras que el VHH-8 es clasificado como tipo 2, probable carcinógeno para el humano.

Los siguientes son los criterios de causalidad para vincular a un agente infeccioso al desarrollo de una neoplasia:

- Evidencia epidemiológica de la infección viral como factor de riesgo para el desarrollo del cáncer
- Persistencia del genoma viral en el tejido tumoral (integrado al genoma celular, en forma episómica o presente en el citoplasma)
- Inducción de la proliferación celular, in vitro, luego de transfección del genoma viral parcial o completo
- Demostración del fenotipo maligno en ratones inmunosuprimidos (nude) de células transformadas in vitro, por transfección de genes virales.

## Transformación celular

Como se mencionó anteriormente, los virus oncogénicos se caracterizan por su capacidad de inducción de proliferación celular, además de inducir alteraciones en el ciclo, en los requerimientos nutricionales, e incluso en la morfología celular. El conjunto de estas modificaciones se como transformación celular.

Una célula transformada puede perder, por ejemplo, su dependencia de factores de crecimiento que son indispensables para el cultivo de células normales de mamífero, tales como el factor de crecimiento epidermal (FCE) y el factor de crecimiento derivado de plaquetas. Normalmente, en condiciones de deficiencia de nutrientes, una célula normal interrumpe la división y el crecimiento, y entra en un estado de quiescencia. Ciertos virus pueden codificar factores de crecimiento que reemplazan los factores celulares, o pueden alterar la actividad de los receptores de la célula hospedera, y de esta manera logran que la célula transformada mantenga su actividad de crecimiento.

Una célula transformada se caracteriza además por un crecimiento, in vitro, desordenado y a muy alta densidad, puesto que pierde la inhibición de crecimiento por contacto con las células vecinas, propia de la célula normal (topoinhibición).

Una tercera característica de la célula transformada es el crecimiento independiente de anclaje, que consiste en la pérdida del requerimiento de adhesión a superficies sólidas, como el vidrio y el plástico, para la división celular. Esta propiedad de las células transformadas se puede demostrar, in vitro, por la formación de colonias celulares en medios semisólidos en los cuales la célula normal es incapaz de crecer. En la tabla 3 se mencionan algunas características de la célula transformada.

Una célula transformada puede ser tumoral, aunque no siempre. La proliferación invasiva de un trasplante de células transformadas en un animal inmunosuprimido (nude mice) demuestra el fenotipo maligno de estas células y aporta la evidencia del cuarto criterio de causalidad mencionado anteriormente.

## Estrategias virales de transformación celular

Los mecanismos virales responsables de la transformación celular indispensables en los procesos neoplásicos asociados a la infección viral, se pueden clasificar en tres estrategias, a saber:

### I. Genes / secuencias virales similares a genes celulares

- a. Oncogen viral
- b. Genes virales que codifican proteínas homólogas a proteínas celulares

### II. Activación insercional

### III. Oncoproteínas virales con capacidad de regular el ciclo celular

- a. Activación permanente de la cascada de transducción de señal
- b. Alteración de circuitos que regulan la progresión del ciclo celular

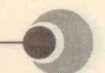
La primera estrategia es utilizada por VSR, VEB y VHH-8, la segunda estrategia por VLA, mientras que la tercera estrategia es utilizada por la mayoría de virus implicados en el desarrollo de tumores malignos en humanos (VPH, VHB, VHC, HTLV-1, VEB, VHH-8) (Tabla 4).

### I. Secuencias virales similares a secuencias celulares

#### a. *Oncogen viral: virus del sarcoma de Rous*

La inoculación del VSR en aves induce la formación de tumores sólidos en un periodo muy corto de tiempo (1-2 semanas) en el 100% de los animales, por esto se conocen como virus de poder oncogénico rápido. *in vitro*, el VSR induce en forma muy eficiente la transformación celular con producción de partículas virales.

El primer oncogén fue descubierto en el VSR, designado como *src* derivado de la palabra sarcoma. Este hallazgo se logró mediante ensayos con el genoma viral completo y una copia que carecía de una secuencia correspondiente al 20% del genoma del VSR; este ensayo permitió diseñar una sonda con la secuencia implicada en la transformación celular. De forma inesperada la sonda presentó una alta homología con una secuencia de



**Tabla 3. Característica de la célula transformada**

Propiedad	Modificación
Crecimiento	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Inmortalización</li> <li>• Disminución en los requerimientos de factores de crecimiento</li> <li>• Crecimiento independiente de anclaje</li> <li>• Pérdida de la inhibición del crecimiento por contacto</li> </ul>
Citoesqueleto	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Redistribución de microfilamentos</li> </ul>
Superficie celular	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Incremento en la movilidad de proteínas transmembranales</li> <li>• Incremento en la síntesis de proteasas de membrana</li> <li>• Marcada aglutinación en presencia de lectinas</li> <li>• Disminución de la adhesión a sustratos sólidos</li> </ul>
Matriz extracelular	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Disminución de fibronectinas</li> </ul>

**Tabla 4. Estrategias virales de transformación celular**

Virus ARN	Estrategia	Oncogen/Oncoproteína
HTLV-1	Regulación ciclo celular: Activación transducción señal	Tax: Regulación transcripcional IL-2 y rIL-2
VIH	¿Inmunosupresión?	?
VHC	Regulación ciclo celular: Alteración progresión ciclo celular	Core: regulación promotor p53 Core, NS5A: interacción proteína-proteína p53, activación STAT-3
VSR	Secuencias virales similares a secuencias celulares	Oncogen v-src
VLA	Activación insercional	Activación c-onc myc
Virus ADN	Estrategia	Mecanismo
VEB	- Secuencias virales similares a secuencias celulares - Regulación ciclo celular	LMP-1: activación constitutiva TRAF-1 y 3 EBNA-5: interacción proteínas p53 y pRb
VHH-8	- Secuencias virales similares a secuencias celulares - Regulación ciclo celular	v-ciclina: promueve ciclo celular, v-bcl-2: anti apoptotico LANA: modula transcripción p53 y pRb
VHB	Regulación del ciclo celular: Alteración progresión ciclo celular	HBx: regulación transcripcional c-myc e IL-8, interacción proteína p53, bloqueo reparación ADN HBsAg: toxicidad
VPH	Regulación del ciclo celular: Alteración progresión del ciclo celular	E6: inducción degradación proteína p53 E7: interacción proteína pRb

un proto-oncogen celular, que codifica una tirosina quinasa asociada a membrana. El mecanismo de regulación de esta quinasa consiste en la autofosforilación del aminoácido (aa) tirosina en la posición 527, ubicado en el dominio c-terminal, inhibiendo

la función de esta proteína celular. En células infectadas con el VSR, el oncogen viral codifica una proteína truncada, sin dominio c-terminal que corresponde al dominio supresor, lo que conduce a la activación constitutiva de src y por ende, a la alteración en la regulación del crecimiento celular.

El origen de los oncogenes virales corresponde posiblemente a "robo" de secuencias celulares durante la replicación viral. La fase de integración del provirus en el genoma celular, es una etapa indispensable en el ciclo de replicación de los retrovirus; este proceso de integración cerca a un proto-oncogen permitió la adquisición y modificación de la secuencia celular, para dar origen a los oncogenes virales; estos hacen parte del genoma de diversos retrovirus animales, como virus del sarcoma del simio y virus del sarcoma felino McDonough, entre otros.

La determinación de la secuencia completa del oncogen src, permitió la caracterización de 60 oncogenes virales (v-onc) y proto-oncogenes celulares (c-onc). Estudios posteriores lograron establecer que los v-onc, presentes en el genoma de algunos retrovirus, representan homólogos de proto-oncogenes celulares altamente conservados a lo largo de la evolución.

Los proto-oncogenes celulares codifican proteínas implicadas en cascadas de transducción de señal, como factores de crecimiento, receptores de factores de crecimiento, quinasas y factores de transcripción. Los proto-oncogenes pueden convertirse en oncogenes por mutaciones en su promotor o en la secuencia que codifica, alterando el nivel de expresión de la proteína respectiva o provocando la expresión de una proteína alterada; cambios similares también han sido descritos en los v-onc.

Hasta el momento no ha sido descrito ningún virus oncogénico para el humano que utilice esta estrategia de transformación celular.

#### ***b. Genes virales que codifican proteínas homólogas de proteínas celulares***

Los herpesvirus están asociados con el desarrollo de tumores en gallinas (virus de la enfermedad de Marek) y primates (virus herpes saimiri), entre otros. En el humano, el VEB y el VHH-8 están asociados al desarrollo de linfoma de Burkitt, carcinoma nasofaríngeo y Sarcoma de Kaposi.

#### **Virus de Epstein Barr**

El VEB se caracteriza por su tropismo de células linfoides y por su capacidad para inmortalizar linfocitos B (LB). Este virus esta asociado con infección asintomática en niños y mononucleosis infecciosa en adolescentes; el 90% de los adultos presentan infección latente asintomática por el VEB. En un bajo porcentaje de casos, la reactivación de una



infección latente por VEB, varias décadas después de la infección inicial, está asociada con el desarrollo de neoplasias como linfoma de Burkitt, carcinoma nasofaríngeo y linfoma de Hodgkin. El VEB es el agente del 1.1% de los casos de cáncer a nivel mundial, lo que corresponde a 99.000 casos.

El linfoma de Burkitt es una neoplasia de células B, de muy mal pronóstico, con alta prevalencia en África occidental. El virus fue aislado por el Dr. Epstein a partir de una línea linfoblastoide derivada de un paciente con este linfoma. El genoma viral ha sido detectado en el 95% de los tumores de linfoma tipo endémico; también ha sido descrita una alteración genética en la mayoría de tumores, que corresponde a una traslocación entre el cromosoma 8 y el cromosoma 14, que provoca la reubicación del proto-oncogen *c-myc* y su sobreexpresión constitutiva.

El potencial oncogénico del VEB depende de una etapa específica del ciclo de replicación viral. El VEB puede realizar un ciclo de replicación productiva, y por tanto con partículas virales de novo, que conduce a la muerte celular; y un ciclo de infección latente, en el cual el genoma viral persiste en forma episomal en el núcleo celular, en ausencia de partículas virales de novo y en ausencia de lisis celular.

Estudios de las proteínas virales en tejidos tumorales y en LB transformados in vitro, indican que el poder oncogénico del VEB esta asociado en particular a la expresión de dos proteínas virales expresadas en la fase de latencia Epstein Barr Nuclear Antigen-1 (EBNA-1), necesaria para mantener el genoma viral en forma episomal y para su replicación, y Latent Membrane Protein-1 (LMP-1), proteína integral de membrana. Otras proteínas virales como EBNA-2, 3A, 3C, 5 estarían también implicadas en el proceso de immortalización.

LMP-1, es una proteína multifuncional homóloga de una proteína celular que causa la immortalización de los LB y eventualmente la transformación que desencadenará el proceso oncogénico. LMP-1 activa en forma constitutiva receptores de factor de crecimiento de linfocitos B, tales como TRAF (Factor asociado al receptor del factor de necrosis tumoral)-1 y 3, que intervienen en la regulación de la proliferación de Linfocitos B. Aunque los tumores asociados a EBV son un proceso multifactorial, se le ha dado especial importancia a LMP-1 en el proceso oncogénico, puesto que ratones transgénicos para esta proteína desarrollan linfomas.

La expresión de LMP parece además modificar la expresión de diversos genes celulares que codifican marcadores de activación, adhesinas, factores de transcripción como NF- $\kappa$  B y proteínas anti-apoptóticas como Bcl-2. La regulación de la expresión de estas proteínas celulares contribuiría a la inducción de la proliferación y de la immortalización de los LB.



Aunque el principal mecanismo de transformación celular corresponde a una estrategia de "Genes virales que codifican proteínas homólogas a proteínas celulares", la proteína EBNA-5 tendría la capacidad de interactuar con las proteínas celulares, p53 y pRB, que regulan la progresión en el ciclo celular. Esta estrategia adicional corresponde a la estrategia "Oncoproteínas virales con capacidad de regular el ciclo celular", que será explicada en detalle mas adelante.

Se considera que el potencial oncogénico del VEB es solo uno de los factores que interviene en el desarrollo del tumor. Otros factores como inmunosupresión, factores genéticos (HLA/ inadecuada presentación de Ag virales), medioambientales (nitrosaminas en el carcinoma nasofaríngeo) y epidemiológicos (Infección por Plasmodium falciparum en el linfoma de Burkitt) harían parte del proceso oncogénico.

En el caso del carcinoma nasofaríngeo, aunque es un tumor poco frecuente en la mayoría de regiones, es prevalente en China. Esta neoplasia estaría asociada a la capacidad del VEB de infectar células epiteliales de la cavidad bucal; se considera que el tráfico en nódulos linfáticos de LB infectados facilitaría la infección de las células epiteliales. Similar a lo descrito en el caso de LB, la presencia de numerosas copias de DNA viral en estado episomal y la expresión de LMP-1 ha sido demostrada en células tumorales.

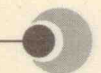
Se ha sugerido que existen factores genéticos y nutricionales que predisponen a esta neoplasia, puesto que población de descendencia china que emigra a otras regiones del mundo conserva la susceptibilidad de desarrollar este tumor.

### **Virus herpes humano-8**

Con respecto al VHH-8, en 1994 fue demostrada la presencia del genoma viral en el 74% de las biopsias de piel provenientes de pacientes con Sarcoma de Kaposi. El VHH-8 es el agente del 0.6% de los casos de cáncer a nivel mundial, lo que corresponde a 54.000 casos.

La infección primaria por VHH-8 causa un cuadro similar a la mononucleosis infecciosa producida por el EBV, y al igual que este herpesvirus el VHH-8 infecta linfocitos B; el VHH-8 puede ser detectado en células de sangre periférica en pacientes con infección latente.

Esta neoplasia de origen mesenquimal, que compromete piel y vísceras era poco frecuente, pero con el advenimiento de la epidemia de SIDA, se ha convertido en una neoplasia muy frecuente en pacientes con infección por el VIH. En particular se ha descrito una muy alta prevalencia en población homosexual VIH+. La inmunosupresión mediada por este retrovirus parece jugar un papel importante en el desarrollo de



la neoplasia, pues en condiciones normales células transformadas por el VHH-8 tienen un potencial tumorigénico limitado y generalmente son eliminadas por el sistema inmune.

En el genoma del VHH-8 han sido identificadas varias secuencias relacionadas con secuencias celulares que podrían estar relacionadas con el proceso oncogénico; estas secuencias incluyen genes que codifican proteínas homólogas de proteínas celulares como citoquinas (viroquina v-IL6), quimoquinas (v-Mipl- $\alpha$ , v-Mipl- $\beta$ ), ciclinas (v-ciclina), receptores acoplados a proteínas G (v-Gpccr) y proteínas que regulan la apoptosis (v-bcl-2). Estas proteínas han sido detectadas en el tejido tumoral.

Además, codifica una proteína, LANA (latency-associated nuclear antigen)-1 que modula la transcripción de las proteínas p53 y pRb.

*in vitro* se ha demostrado la capacidad de transformación del VHH-8, en una línea de origen humano de células de la microvasculatura de la dermis; la infección viral latente en esta línea coincidió con la aparición de propiedades como pérdida de la inhibición de contacto y crecimiento independiente de anclaje, modificaciones propias de la transformación celular, como se había expuesto anteriormente.

La transformación es mediada probablemente por las diferentes proteínas homólogas de proteínas celulares (v-IL6, v-Mipl- $\alpha$ , v-Mipl- $\beta$ , v-ciclina, v-Gpccr, v-bcl-2), teniendo en cuenta que estas proteínas virales regulan positivamente el ciclo celular, activan en forma constitutiva factores de crecimiento y además bloquean la apoptosis celular. Adicionalmente la capacidad de la proteína LANA-1 de regular los genes p53 y pRb jugaría un papel directo en el proceso oncogénico, considerando que p53 es un factor de transcripción que regula la expresión de proteínas que participan en la detención del ciclo celular y la inducción de la apoptosis.

Como en el caso del VEB, el VHH-8 utilizaría dos mecanismos de transformación celular: el principal "Genes virales que codifican proteínas homólogas a proteínas celulares" y adicionalmente "Oncoproteínas virales con capacidad de regular el ciclo celular".

## II. Activación insercional

El virus de la leucemia aviar (VLA) está asociado con el desarrollo de leucemia en pollos y a diferencia del VSR, la neoplasia presenta una incidencia intermedia o baja y se desarrolla varios meses después de la inoculación.

En el contexto de una infección por un retrovirus oncogénico, la transformación celular puede ser el resultado de la activación de un c-onc. Esta activación ocurre de manera "accidental", pues es la consecuencia de la integración al azar del provirus en una región próxima al gen celular en cuestión; en consecuencia se regula positivamente

la expresión del c-onc bajo el control del promotor viral (ubicado en la región Long Terminal Repeat (LTR) del provirus) o su expresión en una fase inapropiada del ciclo celular, alterando el control del mismo y favoreciendo la inestabilidad celular.

En el caso de VLA, la integración del provirus cerca al c-onc myc produce su activación. La presencia del provirus en el genoma celular es detectada tanto en células tumorales como en células no tumorales; sin embargo el patrón de integración en las células tumorales corresponde a un patrón único, puesto que es el resultado de la expansión de una célula transformada, en la cual se integro el provirus cerca al c-onc myc.

Además del VLA, también se han descrito retrovirus en ratones como el Virus de la Leucemia Murina, que también utilizan la activación insercional como estrategia de transformación viral. Hasta el momento no se han descrito retrovirus humanos que utilicen la estrategia en mención.

### **III. Oncoproteínas virales con capacidad de regular el ciclo celular**

#### **a. Activación permanente de la cascada de transducción de señal**

##### **Virus de la leucemia T del humano tipo-1 (HTLV-1)**

El HTLV-1, aislado en 1980, ha sido asociado con la leucemia/linfoma de las células T tipo I del adulto (LTA) y con una neuromielopatía crónica, denominada paraparesia espástica tropical.

La infección por HTLV-1, prevalente en Japón y en el Caribe, generalmente es asintomática. Aproximadamente del 1 al 5% de los individuos infectados desarrollan la LTA, 2 o 3 décadas después del contagio, que se caracteriza por la transformación de linfocitos T CD4+ presentes en sangre periférica y en infiltrados de piel y vísceras. El HTLV-1 es el agente del 0.1% de los casos de cáncer a nivel mundial, lo que corresponde a 2.700 casos.

El mecanismo de transformación celular del HTLV-1 no corresponde a activación insercional ni a la presencia de un v-onc en el genoma viral, como fue descrito anteriormente para otros retrovirus. Diversos estudios señalan la proteína viral Tax (p40) como principal responsable de la capacidad oncogénica del HTLV-1.

Este retrovirus tiene la capacidad de inmortalizar cultivos primarios de linfocitos, generando clones de LT CD4+ que proliferan en ausencia de interleuquina-2 (IL-2); esta citoquina es requerida para la linfoproliferación de células normales.

La habilidad de la proteína Tax de activar transcripcionalmente genes celulares, en particular los genes que codifican la IL-2 y el receptor respectivo (RIL-2), podría explicar



la inmortalización de LT y su independencia del estímulo de IL-2. LT inmortalizados podrían acumular cambios genéticos que conllevan a la transformación celular y por ende al desarrollo de la LTA.

De otro lado, la transformación de fibroblastos de rata dependiente de Tax en cooperación con el c-onc ras y la inducción de tumores en ratones transgénicos para esta proteína viral, aportan evidencias importantes de las propiedades de Tax como oncoproteína.

Recientemente se aportó un elemento adicional al mecanismo oncogénico del HTLV-1, puesto que se comprobó que Tax puede bloquear los mecanismos de reparación del ADN celular, facilitando la acumulación de mutaciones.

### **b. Alteración de circuitos que regulan la progresión del ciclo celular**

La estrategia de transformación celular de virus como VPH, VHB, VHC, Adenovirus y Virus Simiano 40 (SV40) esta basada en oncoproteínas virales que interactúan con el producto de dos genes supresores de tumores conocidos como p53 y pRb.

El gen p53 está localizado en el brazo corto del cromosoma 17 humano; codifica la fosfoproteína p53 descubierta en 1979 por la interacción con el antígeno T mayor del poliomavirus SV40. p53 es un factor de transcripción, compuesto por aproximadamente 393 aminoácidos; en el extremo amino-terminal de la proteína p53 se encuentra el dominio de activación de transcripción de diferentes genes entre ellos:

- MDM2, el cual regula negativamente la actividad transcripcional de p53,
- ciclina G, en complejo con la quinasa Cdc2 permite el paso de G1 a S en el ciclo celular
- Bax y IGF-BP3: proteínas directamente relacionadas con la regulación de la apoptosis.
- p21, inhibidor universal de quinasas dependiente de ciclinas.

La región central corresponde al dominio de unión al ADN (aas 102-292). La región carboxi-terminal tiene 3 funciones biológicamente importantes: i) señal de localización nuclear, ii) dominio de oligomerización, esencial para la formación del tetrámero que representa la forma activa de la proteína y iii) reconocimiento de ADN dañado (54,55). Cuando la célula sufre un daño en el ADN, p53 tiene la capacidad de regular negativamente el ciclo celular en la transición de la fase G1 a S, interrumpiendo la progresión del ciclo hasta que el daño haya sido reparado o desencadenando la apoptosis.

La detección del ciclo celular dependiente de la actividad de la proteína p53 es mediada por la regulación positiva transcripcional del gen p21, que codifica la proteína

p21waf1/cip1/Sdi1. p21 permite el bloqueo temporal del ciclo celular en fase G1 o fase G2, en espera de la reparación del ADN genómico; otra forma por la cual p21 puede regular el ciclo celular es mediante la interacción con la proteína accesoria de la replicación del ADN, el antígeno de proliferación celular (PCNA), bloqueando el paso de elongación en la replicación del DNA. En ausencia de estos mecanismos de bloqueo del ciclo celular, las células que presentan un genoma inestable pueden continuar su ciclo, lo que puede conllevar a la acumulación de mutaciones.

La activación transcripcional del gen p21 es mediada por la interacción de p53 con dos secuencias localizadas en el promotor de p21, en respuesta a la pérdida de integridad del DNA. Sin embargo, también han sido identificadas otras vías de activación de p21 independiente de p53, como el Factor Transformante de Tumores  $\beta$  (TGF- $\beta$ ) y el butirato de sodio; este último incrementa la acetilación de las histonas lo que permite modular la transcripción de distintos genes entre ellos p21.

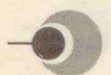
El gen de susceptibilidad al retinoblastoma o pRb codifica una fosfoproteína que controla el ciclo celular regulando la transición de la célula de la fase G1 a la fase S del ciclo. En células en reposo (G0/G1) o en fase S, pRb no está fosforilada, mientras que al final de la fase G1 es fosforilada por actividad de los complejos ciclina/cdk. La forma no fosforilada permite la unión a proteínas como el factor de transcripción E2F, interacción que lo inactiva. Cuando pRb se encuentra fosforilada, E2F se acumula libremente activando la transcripción de genes necesarios en el proceso de duplicación del ADN.

### **Virus del papiloma humano (VPH)**

El VPH presenta un marcado tropismo por epitelios y mucosas y está asociado al desarrollo de tumores benignos como verrugas (vulgar, plantar, plana), condilomas y papilomas. Algunas de estos tumores inducidos por ciertos tipos de VPH presentan un alto riesgo de progresión a cáncer.

El VPH es el agente etiológico del 6.1% de los casos de cáncer a nivel mundial, lo que corresponde a 550.000 casos. La asociación etiológica entre el VPH y el cáncer cervical ha sido ampliamente demostrada en diversos estudios de epidemiología molecular, los cuales han aportado evidencia de la presencia del genoma del VPH en casi el 100% de los tumores analizados. Además, el genoma viral ha sido detectado en líneas celulares como HeLa, SiHa, Caski provenientes de cáncer cervical.

En la mayoría de países en vías de desarrollo, el cáncer cervical es la neoplasia más frecuente en población femenina y una de las principales causas de mortalidad asociada a cáncer.



Los VPH tipo 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 58, 59, 67, 68 y 70 están asociados a un alto riesgo de desarrollo de neoplasia intraepitelial cervical que puede evolucionar a cáncer invasor. Los VPH 16 y VPH 18 son las más frecuentemente asociados con carcinoma invasor, en especial VPH 16 presente hasta en un 60% de los casos, mientras que el VPH 18 se asocia con el desarrollo de tumores de rápida evolución.

Se han identificado 3 oncoproteínas E5, E6 y E7 codificadas en el genoma de VPH. La proteína E5 estimula el crecimiento inicial de la célula infectada, alterando la traducción de señal del receptor del FCE. Las oncoproteínas E6 y E7 codificadas por VPH de alto riesgo a diferencia de las codificadas por VPH de bajo riesgo, son capaces de inmortalizar queratinocitos humanos.

Se ha descrito con detalle la interacción de la oncoproteína E7 con la proteína pRb y otras proteínas relacionadas, p107 y p130. La interacción entre E7 y la isoforma hipofosforilada de pRb causa la disociación del complejo pRb/E2F. La acumulación del factor E2F libre permite la transcripción de genes que condifican proteínas implicadas en la progresión de ciclo celular de la fase G1 a la fase S, como se mencionó anteriormente.

En el caso de la oncoproteína E6 se ha demostrado su capacidad de unión a la proteína p53 y la inducción de su degradación vía proteosoma. En consecuencia, las funciones de p53 en la regulación de la progresión del ciclo celular, apoptosis y reparación del DNA son bloqueadas.

Aunque tanto en el genoma de tipos de VPH asociados a lesiones benignas, como VPH6, 11, 13, o asociados al desarrollo de lesiones de alto riesgo y malignas, como VPH16, 18, están presentes los marcos abiertos de lectura de E6 y E7, las proteínas de VPH de bajo riesgo no se unen a p53 o con baja afinidad a pRb.

Como se había mencionado anteriormente, la interacción e inactivación de p53 y pRb también se considera el mecanismo oncogénico de otros virus; específicamente la proteínas E1b-55K y E1a codificadas por el Adenovirus interactúan con p53 y pRb, respectivamente. En el caso de SV40, el Ag T mayor forma un complejo con p53.

### **Virus de la hepatitis B**

El VHB y el VHC están asociados al desarrollo del 4.3% de los casos de cáncer a nivel mundial, lo que corresponde a 390.000 casos.

La infección por VHB puede presentarse como una infección persistente crónica, que puede evolucionar a cirrosis y carcinoma hepatocelular (CHC).

Estudios epidemiológicos han demostrado que un individuo con infección persistente por VHB tiene un riesgo 100 veces mayor de desarrollar un CHC comparado con el

riesgo de una persona sin esta infección. Estos hallazgos han sido corroborados con la detección del genoma viral en células tumorales, ya sea en forma episómica o integrado al genoma celular.

El papel del VHB en el desarrollo del CHC es probablemente el resultado de varios mecanismos directos e indirectos.

Los mecanismos directos incluyen:

- i) La integración del genoma viral al genoma celular, alterando posiblemente la regulación de la expresión de ciertos genes; aunque no se ha demostrado la integración cerca de protooncogenes.

La integración del genoma, aunque no es necesaria para la replicación del VHB, se ha demostrado en 85% de tumores analizados.

En algunos estudios se ha descrito la integración del genoma del VHB en secuencias celulares altamente conservadas, conocidas como LRT; aunque no son regiones codificantes, podrían regular la expresión de diferentes genes celulares. Además se han descritos alteraciones genéticas en el genoma celular en regiones cercanas a la secuencia de integración

- ii) Actividad transactivadora de la proteína X del VHB (HBx) que podría modificar la expresión de ciertos oncogenes celulares como *c-myc*, y genes como *IL-8*. Análisis de tejidos tumorales han señalado mutaciones en la secuencia que codifica HBx, lo que puede sugerir que la síntesis de una proteína trunca X puede tener un mayor potencial oncogénico.

- iii) Posible interferencia de la proteína X con la proteína p53 y con proteínas celulares, como XP-B y XP-D, implicadas en los mecanismos de reparación de ADN.

Y los mecanismos indirectos:

- iv) Desregulación de la regeneración tisular reactiva a la destrucción masiva de hepatocitos (por apoptosis, necrosis o ambas). Durante la regeneración del tejido hepático por destrucción continua de hepatocitos infectados gracias a la respuesta inmune celular, específicamente por acción de linfocitos T citotóxicos (LTC), se genera una marcada proliferación celular, en condiciones de estrés oxidativo, lo que puede favorecer la aparición de mutaciones; además la injuria hepática producida por la expresión de citoquinas TNF- $\alpha$  e INF $\gamma$  mediada por células Th1 podría favorecer la acumulación de alteraciones genéticas.

- v) Citotoxicidad por sobre-expresión del HBsAg y acumulación en el retículo endoplásmico.



## Virus de la hepatitis C

El VHC es el agente etiológico de la mayoría de hepatitis no A-no B de transmisión parenteral. En el 70-85% de los casos, los individuos infectados desarrollan una infección persistente, lo que señala el VHC como la principal causa de enfermedad hepática crónica. Cerca del 20 al 30% de los casos de infección persistente progresan a una cirrosis en la primera o segunda década de infección. Anualmente del 1% al 4% de los casos de cirrosis evolucionan a carcinoma hepatocelular (HCC), aproximadamente 20 años después de la infección aguda por VHC.

La primera evidencia de la infección por VHC como factor de riesgo del CHC, corresponde a estudios epidemiológicos en individuos con esta neoplasia en los que se demostró la presencia de Acs anti-VHC, especialmente en poblaciones de Japón, España e Italia. La segunda evidencia corresponde a la demostración de la presencia del genoma del VHC en tejido tumoral.

El mecanismo oncogénico del VHC difiere del mecanismo del VHB, puesto que el VHC es un virus ARN y por tanto no puede integrarse al genoma celular. El VHC corresponde al único virus ARN, sin intermediarios replicativos de ADN, asociado al desarrollo de una neoplasia en humanos.

Además del estrés oxidativo, inherente al proceso inflamatorio de una hepatitis crónica que favorece la aparición de mutaciones en el ADN, y de la alteración en la regeneración del tejido hepático, han sido descritos varios mecanismos mediados por tres proteínas del VHC: Core, NS3 y NS5A.

Diversos estudios han aportado evidencias de la capacidad de transformación celular de la proteína Core del VHC; además se ha demostrado la habilidad de Core de regular la región promotora del gen p53 y de la interacción proteína-proteína Core-p53, modificando la capacidad de unión de p53 al ADN. Adicionalmente, el desarrollo de ratones transgénicos para la proteína Core del VHC, permitió demostrar el desarrollo de esteatosis hepática y posterior desarrollo de tumores malignos de hígado en estos animales.

Recientemente se demostró la capacidad de la proteína Core de activar STAT-3, lo que se traduce en una fosforilación de esta proteína celular y por tanto en activación de la misma, produciendo la transformación de la línea celular NIH-3T3. La activación constitutiva de STAT-3 también ha sido descrita en biopsias provenientes de pacientes con infección por VHC. Además de Core, la proteína viral NS5A parece estar también implicada en la activación de STAT-3, causando su traslocación a núcleo y por ende la modulación de los genes regulados por este factor.



NS5A también presenta una actividad que se podría considerar complementaria al potencial de Core; a saber, se ha demostrado la interacción de NS5A y la proteína p53 y su co-localización en la región perinuclear, impidiendo su actividad como factor de transcripción de genes como p21, inhibidor universal de quinasas dependientes de ciclina.

La proteína NS3 también ha sido implicada en el potencial oncogénico del VHC, en particular por su capacidad de transformar la línea celular NIH-3T3.

### **Potencial oncogénico del VIH**

Del 30 al 40% de los pacientes con infección por VIH desarrollan tumores malignos, lo que sugiere una probable capacidad oncogénica. Se ha demostrado que la infección por VIH aumenta 1000 veces el riesgo de Sarcoma de Kaposi y de otros tumores como linfoma no-Hodgkin, Linfoma Hodgkin, cáncer de cuello uterino y cáncer de testículo. La inmunosupresión es un cofactor importante en el proceso oncogénico, puesto que el tratamiento antiviral para VIH produce la remisión o la no progresión de las lesiones de sarcoma de Kaposi.

Esta alta frecuencia de cáncer asociada a la infección por VIH podría estar relacionada con la capacidad viral inmunosupresora y no directamente con transformación celular inducida por el VIH.

## **Bibliografía**

- World Cancer report. International Agency for Research on Cancer. OMS. 2003.
- Viral Transformation and oncogenesis. Principles of Virology. Flint. pag. 553-592.
- Nevins Joseph R. Cell Transformation by viruses. Chapter 10, Fields Virology. 3a Edición. Pag. 245-283.
- Viral Oncogenesis. Chapters 10, 11. In Viral Pathogenesis and Immunity. Nathanson N. Lippincott Williams & Wilkins.