

ASPECTOS BIOQUIMICOS DE LOS VIRUS ONCOGENICOS

Jesús Rubén Garcilaso Pérez.
Escuela de Química
Universidad de Sonora.

Entre las muchas teorías que existen para explicar la carcinogénesis, el virólogo Temin de la universidad de Wisconsin enuncia tres como las principales:

- a) Teoría viral. La carcinogénesis es debida a partícu las virales con capacidad oncogénica, - que se transmiten a través de las célu-- las germinales o desde fuera como virus exógenos.
- b) Teoría mutacional. Las neoplasias son consecuencia de cambios mutacionales en los genes de los cromosomas celulares.
- c) Teoría embriónica. La carcinogénesis es debida a ac tivación o represión de ciertos genes en los cromosomas de células diferencia das.

No creemos que exista una línea perfecta de demarcación entre las tres teorías, que incluso pueden estar muy relaciona-- das entre sí. Aquí nos referimos solo a la primera teoría o -- sea a la viral.

La transformación celular se define como las alteracio-- nes celulares inducidas en animales susceptibles por los virus oncogénicos. Estos virus capaces de inducir tumores o neopla-- sias se han dividido en dos grandes grupos de acuerdo al tipo ácido nucléico que tengan: virus de DNA y virus de RNA.

Virus de RNA: Oncornavirus o Leucovirus.

- Partículas B.- Causan tumores mamarios en ratones.
- Partículas C.- Causan sarcomas y leucemias en animales.

Virus de DNA: a) Herpes Epstein-Barr, asociado con el linfoma de Burkitt.

Herpes simple tipo 2, asociado con carcinoma cervical en la mujer.

- b) Papovavirus, Polioma de ratón.- Induce sarcomas en hamsters.
- c) Virus SV-40 simiano.- Oncogénico en hamsters y ratones.

Conviene precisar un poco las características que distinguen a las células neoplásicas de las células normales.

1.- Velocidad de multiplicación celular muy aumentada y no inhibida por contacto entre las células afectadas

Las células transformadas crecen en multicapas, formando grupos de células que son "focos de infección". Es decir tanto el sistema de regulación de la división celular como el crecimiento e inhibición por contacto, se encuentran alterados en las células malignas.

2.- Alteraciones en la composición de la membrana celular.

Esto afecta a la estructura de la bicapa lipídica-protéica y las cargas de superficie, con lo que se pierde la afinidad celular y las células en vez de adherirse tienden a alejarse unas de otras.

3.- Composición antigénica alterada.

Presencia de antígenos específicos de células malignas en la superficie celular, que no se encuentran en las células normales.

4.- Capacidad de inducir formación de tumores.

Al ser inoculados en animales susceptibles.

Cabe mencionar que la transformación celular neoplásica "in vitro" no sucede tan fácilmente, sino que depende de alguno o todos de los siguientes factores.

1.- Multiplicidad de infección.- Relación número de virus/número de células. Es necesario tener un alto número de virus para obtener un número razonable de células transformadas.

2.- Propiedades genéticas del virus.- No todos los virus oncogénicos transforman a las células con la misma facilidad sino que hay grados de capacidad oncogénica dependiendo del tipo de información genética del virus.

3.- Estado fisiológico de la célula.- Células en fase exponencial de crecimiento son más fácilmente transformadas que en fase estacionaria.

4.- Propiedades genéticas de la célula.- Fibroblastos de la piel de pacientes con enfermedades asociadas con anomalías cromosomales se transforman por el virus SV-40 con una frecuencia 10 a 50 veces mayor que células del mismo tipo de individuos normales.

También es necesario recordar que la inducción de tumores "in vivo" depende además de lo antes mencionado para la transformación "in vitro", de la respuesta inmune del individuo, de sus niveles hormonales, de su nutrición y de toda la serie de interacciones que tenga con el medio exterior.

Hasta ahora no se ha confirmado el hecho de que ciertos virus causen cáncer en humanos. No hay evidencia de que partículas virales aisladas de tumores animales puedan infectar a humanos, sin embargo, recientemente se han detectado genes en células malignas humanas cuya secuencia de nucleótidos es muy semejante a la contenida en el ácido nucléico de ciertos virus oncogénicos.

A continuación se describirán la estructura y replicación, así como algunas de las características de las macromoléculas constituyentes del virus.

VIRUS ONCOGENICOS DE RNA: LEUCOVIRUS U ONCORNAVIRUS

— Estructura. El leucovirus esta constituido por una envoltura externa compuesta de lípidos y proteínas, estas últimas forman las protuberancias en la superficie del virus y una corteza o membrana central que envuelve a la nucleocápsula, dentro de la cual estan el ácido nucleico y las proteínas internas del virus.

— Simetría. La nucleocápsula parece poseer simetría helicoidal, sin embargo al microscópio electrónico se observa el virus como estructura redonda.

— Acido Nucleico. RNA de cadena sencilla, sedimentación de 70 S y peso molecular de 10^7 Daltons.

— Enzimas. "Transcriptasa inversa", RNA-DNA Polimerasa, específica de estas partículas.

— Asociación Endosimbiótica. Esto permite la simultánea replicación viral y multiplicación celular, o sea la replicación de virus oncogénicos de RNA no causa la muerte de la célula huésped. La replicación de oncornavirus puede ocurrir tanto en células infectadas no transformadas como en transformadas.

— Comportamiento Diferencial. Infectando células cultivadas "in vitro" hay comportamiento diferente de los virus que inducen leucemias y los que inducen sarcomas. Virus inductores de sarcomas transforman a la célula pero no se replican en ella, parece que parte del genoma viral no se expresa y no hay síntesis de la proteína de la envoltura externa, solo se replican con la ayuda de un virus "ayudante" o virus de leucemia.

Los virus que inducen leucemia, se replican en las células pero no las transforman; así la infección con los dos virus transformará a la célula y producirá partí

culas virales de sarcomas y de leucemias.

— Ciclo Replicativo. Se divide en cuatro fases.

- a) Adsorción del virus a la membrana de la célula huésped, por medio de fuerzas electrostáticas.
- b) Penetración:
 - i) por fusión de la envoltura del virus con la membrana celular.
 - ii) penetración directa a través de la membrana.
 - iii) interacción del virus con sitios receptores.
- c) Degradación. Remoción de envoltura externa y cápsula para que el ácido nucléico quede libre, por enzimas preexistentes o en la célula huésped o en el virus.
- d) Biosíntesis. del ácido nucléico viral en el núcleo de la célula huésped.

El RNA 70 S del oncornavirus está formado por dos o -- tres subunidades 35 S que contienen cada una cerca de su extremo 5' una pequeña pieza de RNA o "primer " unido por puentes de hidrógeno. Este "primer " se ha caracterizado como la molécula de RNAt de triptófano. Es ahí donde la RNA-DNA polimerasa viral se une y sintetiza cadenas de nucleótidos de DNA que luego son puestas en el orden correcto y forman un DNA de cadena sencilla asociado al RNA viral. Este híbrido RNA-DNA es la plantilla para que la misma enzima sintetice el DNA de cadena doble degradando el RNA del híbrido. Finalmente el DNA de cadena doble viral se incorpora al genoma de la célula huésped como --- "provirus". Se supone que en esta incorporación intervienen enzimáticas ligasas y endonucleasas del sistema reparador del DNA celular. Integrado el provirus puede ahora dirigir la síntesis de nuevos viriones y la transformación de la célula huésped.

A.- Síntesis de nuevos viriones. El provirus se transcribe en dos tipos de RNA: 35 S y 20 S. El RNA 35 S une moléculas "primer " y constituye nuevas subunidades de RNA viral 35 S que unidas entre sí, formarán las moléculas del RNA 70 S de los nuevos viriones. Por otro lado, se unen los RNA 35 S y 20 S para formar un RNAm que viaja al citoplasma de la célula y unido a ribosomas dirige la síntesis de proteínas virales estructurales. Las proteínas virales de la envoltura se transportan e in-

corporan a la membrana celular, mientras que las proteínas de la estructura interna del virus se unen entre sí en el citoplasma de la célula y junto con el nuevo ácido nucleico 70 S constituyen la nucleocápsula que una vez formada se transporta a la periferia. La maduración se completa cuando las nucleocápsulas se recubren con una porción de la membrana celular que contiene antígenos virales o proteínas de la envoltura del virus.

La replicación se inhibe por Actinomicina D que bloquea la transcripción o síntesis de RNA a partir de DNA. También se inhibe bloqueando la síntesis de DNA, sin impedir la síntesis protéica, de donde el virus debe contener asociada a su estructura su propia transcriptasa inversa.

B.- Transformación de la célula huésped. A partir del provirus, se sintetizan moléculas de RNA 26 S y 33 S. Estas moléculas funcionan como RNAM que dirige la síntesis de proteínas transformantes virales, que son las directamente responsables de los cambios que se llevan a cabo en la transformación de células normales a neoplásicas. Estas proteínas de origen viral no son esenciales para la replicación ni son componentes estructurales del virus, pero se han asociado a antígenos virales específicos encontrados en células de tumores.

Hay que hacer notar que el provirus es replicado junto con el resto de los cromosomas celulares durante la multiplicación de la célula huésped.

Transcriptasa inversa. Green y colaboradores aislaron una proteína de peso molecular 65,000 a partir del virus que causa mieloblastosis en aves y encontraron tres actividades diferentes en esta proteína:

- a) Formación de DNA de cadena sencilla a partir de la plantilla de RNA viral.
- b) Degradación de la cadena de RNA que forma parte del híbrido RNA-DNA.
- c) Formación del DNA doble a partir de la plantilla del DNA del híbrido RNA-DNA.

La actividad de la enzima requiere de las siguientes condiciones:

1. El virus debe ser despojado de su envoltura externa por algún medio.
2. Presencia de cationes divalentes y
3. Presencia de los cuatro deoxiribonucleótidos.

La actividad se inhibe por ribonucleasa, de donde se concluye que la enzima utiliza RNA como sustrato. Por hibridación molecular se comprueba que el producto DNA es complementario del RNA viral.

La capacidad de replicación viral y la de transformación celular parecen ser eventos independientes. La replicación viral requiere de la síntesis de todos y cada uno de los genes que constituyen el genoma del virus. Por el contrario, la transformación celular requiere de la sola expresión del gene viral específico que teóricamente codifica para la síntesis de proteínas transformantes.

VIRUS ONCOGENICOS DE DNA

Se han aislado virus de DNA a partir de células normales humanas que transforman células animales de varias especies, causando tumores en animales de experimentación y que están implicados en por lo menos dos tipos de cáncer en el hombre.

La infección de células con virus de DNA dá lugar a una de dos situaciones: infección productiva o infección abortiva. En el primer caso se da la replicación del virus y la muerte de la célula huésped a la que se le llama célula permisiva. En el segundo caso el virus no se replica pero la célula huésped se transforma de normal en neoplásica, y se le llama no permisiva. Generalmente, las células de las especies normalmente infectadas por el virus son permisivas mientras que las células de especies extrañas al virus son no permisivas.

Células que han sido transformadas por virus oncogénicos de DNA contienen moléculas específicas de origen viral, copias del genoma viral, integradas al DNA de la célula, contienen además del RNAm de origen viral, antígenos de tumor asociados a la membrana nuclear y antígenos de trasplante de tumor asociados con la superficie de la célula. Parece que ambos antígenos son proteínas codificadas por el virus.

Replicación y transformación son eventos mutuamente exclusivos en relación a los virus de DNA. La infección productiva generalmente resulta en la muerte de la célula huésped.

Replicación de virus de DNA, tomando como modelo el proceso en los adenovirus.

- Adhesión del virus a la superficie de la célula huésped.

- Introducción del virus.

- Destrucción de los componentes externos de la partícula viral.

- Transporte del DNA viral al núcleo de la célula huésped.

- Replicación del DNA viral, para lo cual:

- a. La Transcriptasa celular sintetiza un RNAm primario a partir de una fracción del DNA viral.
- b. El RNAm primario se traduce en los ribosomas del citoplasma celular produciendo una DNA polimerasa.
- c. La DNA polimerasa replica al DNA del virus que servirá como plantilla en la síntesis de un RNAm secundario que dirigirá la construcción de proteínas estructurales de los nuevos viriones, y constituirá el ácido nucléico de los mismos nuevos viriones. El proceso de incorporación del ácido nucléico dentro de la nucleocápsula para formar nuevas partículas virales se conoce como maduración.

Transformación Celular por Virus de DNA. Se da cuando hay infección en células no permisivas. El ácido nucléico viral se incorpora al DNA de la célula huésped. Entonces la información viral se transcribe en moléculas de RNAm a partir de las cuales se sintetizan proteínas virales llamadas antígenos de tumor.

Se ha demostrado que el DNA de células transformadas por ciertos adenovirus contiene múltiples copias del genoma viral, ya que el DNA de células neoplásicas se hibridiza con el RNA viral complementario.

Parece seguro que las proteínas virales o antígenos de tumor (antígenos T) son sintetizadas a partir del gene A contenido en el segmento de DNA transcrito en las primeras etapas de infección, ya que la inducción de mutaciones en dicho gene A -- bloquea la síntesis del antígeno T. Este antígeno se ha detectado en el núcleo de células malignas por técnicas de inmunofluorescencia. Es de un peso molecular de 94,000 y parece ser el único producto del gene A.

Durante la transformación neoplásica se llevan a cabo dos tipos de eventos, cambios funcionales y mutaciones. Los cambios funcionales tal vez se deban a la unión de las proteínas transformantes con el DNA de la célula y consecuentemente la alteración en la transcripción del DNA celular. Las mutaciones celulares pueden ser importantes para obtener el estado transformado completo de las células afectadas.

Transformación Viral Espontánea. Todaro y Huebner proponen la teoría del "oncogene", que supone la existencia de un provirus o virogene presente en todas las células normales de animales vertebrados, y que contiene la información genética endógena para la formación de leucovirus o oncornavirus. El oncogene es directamente responsable de la transformación celular pues contiene la información genética para la síntesis de proteínas transformantes. En células normales este oncogene está reprimido por proteínas represoras, sintetizadas a partir de genes reguladores en otros cromosomas. Si de alguna manera se perturba el sistema represor, se estimula la expresión del gene viral. La represión puede ser parcial o total o sea, se puede suprimir la expresión de todo el provirus o solo parte de él. En este último caso si dentro de las funciones no reprimidas se encuentra el oncogene, la célula tendrá el potencial de producir tumores aún cuando no produzca partículas virales completas.

La activación del oncogene puede ser inducida por diferentes factores, como: rayos X, compuestos carcinogénicos, análogos de timidina y posiblemente virus exógenos.

Apoyan la teoría del oncogene las siguientes evidencias experimentales.

1.- Inducción de partículas C de oncornavirus a partir de células normales de embrión de ratón por medio de agentes físicos y químicos.

2.- El DNA de células normales de diferentes especies animales contiene múltiples copias de un genoma viral y se infiere que también las células normales humanas.

3.- Leucovirus inducido a partir de células normales de ratón cultivadas "in vitro", tienen propiedades leucogénicas en ratones de experimentación.

4.- Partículas B de oncornavirus responsables de la formación de tumores mamarios en ratones, en los que el virus es endógeno.

Teoría del provirus. El cáncer es causado por la infección de un virus exógeno (DNA o RNA) cuyo genoma integrado al DNA celular dá lugar a la transformación neoplásica cuando se expresa dicho genoma viral.

Apoyan la teoría los siguientes experimentos.

- 1.- El RNA tomado de células malignas humanas contiene secuencias de nucleótidos análogas a las de una parte del DNA producto de la transcriptasa inversa de los oncornavirus de ratón.
- 2.- Se ha extraído transcriptasa inversa a partir de células leucémicas humanas, pero no de leucocitos normales.
- 3.- El DNA sintetizado por partículas virales obtenidas de células leucémicas contiene secuencias de nucleótidos análogas a las del DNA de células leucémicas humanas pero no a las del DNA de leucocitos normales.

Teoría Mixta: Green propone la no exclusividad de las teorías, y afirma que tal vez la expresión de la información del oncogene esté involucrada en algunos cánceres, la infección por virus exógenos en otros y tal vez ambos tipos de información en otros.

Bibliografía.

1. Green, M. (1975), Hospital Practice, Sept.
2. Green, M. (1970), Ann. Rev. Biochem, 24, 701.
3. Green, M. (1972), Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.
69, 1036.
4. Dulbecco, Renato. (1976), Science, 192, 437.
5. Vigier, P. (1970), Prog. Med. Virol. 12, 240.
6. Temin, H. (1972), Proc. Nat. Acad. U.S. 69, 1015.
7. Temin, H. (1971), Ann. Rev. Microb. 25, 610.
8. Todaro, G. and Huebner, R. (1972), Proc. Nat. Acad.
Sci. U.S. 69, 1009.