

VIRUS I CÀNCER: MÉS QUE UNA HIPÒTESI I MENYS QUE UNA SOLUCIÓ

R. GUERRERO

Departament de Microbiologia, Facultat de Ciències
i Institut de Biologia Fonamental.
Universitat Autònoma de Barcelona.

EN HOMENATGE A
FRANCESC I MARIA LLUÏSA
DURAN-REYNALS

Els mecanismes de proliferació i alteracions bioquímiques de les neoplàsies humanes són cada cop més clarament definides, després de molts anys de recerca, tant bàsica com clínica. Si bé hom ha proposat diferents agents externs contaminants ambientals (col·lectivament denominats carcinògens químics) com a agents etiològics primaris en alguns tumors humans, els mecanismes de transmissió i d'aparició inicial de la malaltia en l'home resten molt pobrament coneguts, i per tant resulta molt necessària una extensa investigació amb enfocaments i tècniques multidisciplinàries.

Entre les altres diferents causes que han estat atribuïdes al càncer, els virus han demostrat ser agents oncògens directes en moltes malalties animals, tant en estudis amb hostes naturals com en situacions experimentals de laboratori.

Un dels científics que més clarament i ferma va propugnar la teoria vírica del càncer fou Francesc Duran-Reynals, qui el 1953 escriví: "La teoria vírica del càncer reposa sobre dues bases: 1) els virus compleixen els requisits que demanaria una hipotètica causa de la malaltia; i 2) se sap amb certesa que alguns càncers són induïts per virus i, en conseqüència, resulta de lògica elemental el fet de recórrer a aquests agents quan s'intenta trobar la causa dels restants tumors d'etiologia desconeguda."

L'atribució d'una potencialitat oncògena als virus és quasi tan antiga com el seu reconeixement com a agents etiològics de malalties animals. Ja el 1907 Ciuffo aconseguí la transmissió de berrugues humanes per inoculació de filtrats lliures de cèl·lules, i el 1908 V. Ellerman i O. Bang demostraren que la leucèmia dels pollets podia ésser transmesa injectant filtrats lliures de bacteris d'animals malalts a animals sans. Tres anys més tard, el 1911, Francis Peyton Rous demostrà una transferència similar en el sarcoma dels pollets i proposà que aquest tipus de càncer era causat per un virus. No obstant això, l'existència de tumors induïts per virus en els pollets va ésser contemplada durant molts anys com una curiositat de cert interès biològic però de poques conseqüències pràctiques. A la dècada dels trenta, aquestes idees foren sacsejades pel descobriment de la inducció vírica en els tumors berrugosos dels teixits epidèrmics del conill (per Shope, el

1932) i en l'adenocarcinoma renal de la granota (per Lucké, el 1934). Poc després era descobert (per Bittner, el 1936) un virus causant de carcinomes mamaris al ratolí, el qual era transmès de mares a fills per la llet. Finalment, la prova definitiva la va aportar L. Gross quan el 1951 demostrà que la leucèmia limfàtica del ratolí també era causada per un virus. Posteriorment, Gross observà que les mateixes preparacions contenien un segon virus (el qual hom denomina ara virus del polioma) que induïa diferents tipus de tumors en ratolins. Com a conseqüència de la confirmació inqüestionable que molts tumors malignes animals eren produïts per virus i del reconeixement de la importància de la demostració original (i mercès també a la seva longevitat), li fou concedit a Rous el premi Nobel de Medicina de 1966, cinquanta-cinc anys després del seu descobriment (Taula 1).

TAULA 1. — PRIMERS VIRUS TUMORÍGENS
ANIMALS IDENTIFICATS

Descobriment	Designació del virus i hoste principal
1908	Leucèmia aviar (ARN)
1911	Sarcoma aviar, Rous (ARN)
1917	Virus de les berrugues humanes (ADN)
1920	Papiloma boví (ADN)
1932	Papiloma oral del gos (ADN)
1932	Fibroma del conill (ADN)
1933	Papiloma del conill (ADN)
1933	Linfoma aviar (ADN)
1936	Papiloma oral del conill (ADN)
1936	Carcinoma mamari del ratolí (ARN)
1951	Papiloma cutani equí (ADN)
1951	Leucèmia del ratolí, Gross (ARN)
1953	Fibroma de l'esquirol (ADN)
1955	Fibroma del cérvol (ADN)
1956	Leucèmia del ratolí, Friend (ARN)
1957	Polioma del ratolí (ADN)
1959	Virus de simis 40 (ADN)
1962	Adenovirus humà (ADN)

Tots els virus dels sarcomes del pollet i de la leucèmia murina han demostrat contenir ARN com a material genètic. Descobriments posteriors mostraren que diferents virus que contenien ADN també causaven càncers en ratolins i altres rosegadors. Exemples d'aquests virus són el del polioma murí, descobert per Gross l'any 1957, i el virus de simis 40 (SV40), aïllat el 1959 a partir de

cultius de ronyó de mones, aparentment normals, en el curs de manipulacions experimentals destinades a la producció de vacins contra el virus de la poliomielitis humana.

Posteriorment s'ha demostrat que diferents adenovirus humans (que en la nostra espècie no presenten efectes oncògens) poden induir tumors malignes en hámsters, ratolins i rates. A més, en els últims quinze anys s'han descobert altres virus oncògens en animals. De tota manera, encara no ha estat aïllat un virus endogen humà que sigui inequívocament oncògen per a la nostra espècie.

El nombre de virus humans oncògens potencials és molt més petit que el nombre de virus que poden induir tumors en animals experimentals.

El virus de l'herpes simple tipus 2 ha estat relacionat amb diferents carcinomes humans des de fa anys. Els estudis sero-epidemiològics en dones amb carcinoma cervical han desencadenat molts estudis demogràfics i de salut pública, però encara manquen dades bioquímiques suficients que demostrin la presència del genoma del virus de l'herpes 2 en aquests tumors. Dades més convincentes han estat presentades associant el virus d'Epstein-Barr (EB) amb tumors humans, com ara el limfoma de Burkitt i el carcinoma nasofaringi. Tant el virus EB sencer com els seus antígens han estat identificats en aquests tumors, i en els pacients s'ha demostrat la presència d'anticossos específics. El virus EB és probablement el principal candidat per a ser reconegut com a virus d'origen humà que està implicat causalment en una neoplàsia humana.

Actualment es coneixen molts virus capaços de causar bé leucèmies bé tumors sòlids en nombroses espècies d'animals salvatges, domèstics o de laboratori. La demostració de l'àmplia distribució dels virus oncògens en la natura ha fet fonedís l'escepticisme inicial en relació a la importància dels virus en l'etiologia del càncer i ha potenciat la recerca dels possibles virus oncògens humans.

La classificació dels virus es fa ara com ara basant-se primàriament en les propietats del virió i no en els seus efectes envers l'hoste. La divisió més general és, per tant, en virus ADN (que contenen àcid desoxiribonucleic com a material genètic) i virus ARN (amb àcid ribonucleic). L'objectiu del present treball és el d'examinar les propietats dels principals virus oncògens de cadascuna de les dues classes, comparar-los entre ells i amb els membres no oncògens i establir llurs relacions amb les cèl·lules hostes. D'aquests tipus de comparances hom pot esperar respostes a qüestions sobre si els virus oncògens són bàsicament diferents dels altres virus, sobre si tots els virus oncògens tenen propietats semblants i, en particular, sobre si el mecanisme de l'oncogènesi és el mateix en tots els virus tumors. L'estudi adient de la distribució dels virus oncògens entre els diferents grups de virus pot revelar si demostren altres propietats comunes, a més de la capacitat d'induir l'aparició de tumors.

ONCOGÈNESI I TRANSFORMACIÓ CEL·LULAR

La majoria dels virus oncògens poden induir uns canvis notables en cultius de cèl·lules, canvis col·lectivament anomenats "transformació cel·lular". Encara que el càncer és una malaltia definible solament en l'organisme sencer, la transformació és un anàleg de l'estat de malignitat dels teixits i òrgans, i aporta un model *in vitro* en el qual es basa molt del treball experimental realitzat amb els virus oncògens. La transformació permet la quantificació de molts virus tu-

morals, així com estableix la base per a comparar la fisiologia de les cèl·lules normals i tumorals.

D'una altra banda, l'ADN extret de diferents virus oncògens i de cèl·lules ja transformades poden transformar cèl·lules en cultiu. Experiments d'aquest tipus han estat realitzats amb ADN purificat del virus SV40, poliomavirus, adenovirus i herpesvirus, i de cèl·lules transformades prèviament pel virus del sarcoma de Rous (RSV). Aquest últim ADN cel·lular conté ADN del provirus de RSV, encara que cal no oblidar que el virió de RSV conté ARN. Diferents observacions han suggerit que ADN vírics injectats directament en animals poden induir l'aparició de tumors. Tots aquests experiments demostren directament que el material genètic dels virus oncògens i/o la seva expressió són responsables de la transformació cel·lular.

Quatre qüestions centrals poden plantejar-se en relació amb la capacitat transformadora dels virus oncògens: 1) com els virus poden inicialment "transformar" les cèl·lules, 2) quines característiques distingeixen aquestes cèl·lules transformades de les cèl·lules normals, 3) com mantenen els virus l'estat transformat de les cèl·lules i 4) com poden les cèl·lules transformades produir de nou virions després de moltes generacions de no mostrar cap cicle lític.

Encara que les cèl·lules en cultiu poden ser transformades també per substàncies químiques i per radiacions ionitzants, els principals estudis s'han fet sobre cèl·lules transformades per virus.

Les línies cel·lulars són mantingudes en cultiu per la renovació periòdica del medi i del sèrum. Les poblacions de cèl·lules no transformades es divideixen activament mentre no són molt abundants, però a mesura que augmenta la densitat i el nombre de contactes intercel·lulars la velocitat de creixement del cultiu disminueix. Les cèl·lules de moltes línies aturen la divisió quan formen una monocapa confluent. Si aquestes cèl·lules no transformades són infectades amb virus oncògens, o el seu ADN, els transformadors no responen més als controls interns que regulen la multiplicació de les cèl·lules no transformades en el cultiu. Com a resultat, els transformadors continuen dividint-se en condicions que reduïrien notablement la velocitat de multiplicació de les cèl·lules no transformades.

Les diferències entre les cèl·lules transformades i no transformades poden ésser classificades en cinc grups interrelacionats, referents a: 1) canvis en morfologia, 2) canvis en les característiques de creixement, 3) canvis en la superfície cel·lular, 4) canvis en l'activitat bioquímica i 5) canvis en la població intracel·lular de macromolècules resultants de la presència del genoma víric. A més, algunes línies cel·lulars transformades poden exhibir altres canvis, com són alteracions en el cariotip, interferència vírica, etcètera. La taula 2 indica, a tall d'exemple, les alteracions produïdes en un tipus de cultiu cel·lular (fibroblasts) transformat per virus del políoma o pel SV40, tot reduint els canvis observats a les seves conseqüències més aparents i classificant aquestes alteracions dins de cadascun dels cinc grans grups suara esmentats.

En poblacions mixtes, les cèl·lules transformades poden separar-se amb facilitat de les normals si hom manipula les condicions del cultiu de manera que solament les cèl·lules que presentin una o més de les propietats indicades a la taula 2 puguin sobreviure i multiplicar-se. Els transformadors seleccionats per diferents mètodes no són igualment tumorígens en ésser trasplantats a animals susceptibles, sinó que la capacitat d'induir tumors està correlacionada directament amb la capacitat d'arribar a densitats de saturació més altes, en el cultiu

TAULA 2. — PROPIETATS DELS CULTIUS DE FIBROBLASTS TRANSFORMATS PER VIRUS DEL POLIOMA O SV40

Grup de característiques	Alteració en relació als cultius originals
1. Morfologia	Canvi de morfologia (p.e. de fibroblàstica a epitelial). Pèrdua de l'orientació en monocapes. Formació de focus de proliferació.
2. Creixement	Densitat de saturació incrementada, o indefinida. Pèrdua d'inhibició del moviment després del contacte. Pèrdua d'inhibició del creixement dependent de la densitat. Reducció del requeriment de sèrum. Creixement en agar tou o metilcel·lulosa. Creixement sobre monocapes de cèl·lules normals. Oncogenicitat en animals.
3. Superfície	Aglutinació incrementada per les lectines vegetals. Unions intercel·lulars alterades. Nous antígens de superfície. Propietats de tinció alterades. Velocitat de transport de nutrients incrementada.
4. Metabolisme i bioquímica	Presència d'antígens fetals. Canvis en la composició de glucoproteïnes i glucolípid. Activitat proteàsica incrementada. Respiració incrementada. Augment en la síntesi d'àcid hialurònic. Reducció de la concentració d'AMP cíclic.
5. Macromolècules especificades per virus	Persistència del genoma víric, complet o parcial. ADN víric integrat. Antígens especificats per virus (antigen T, antígens de superfície). ARN específic del virus (ARN missatger). Producció de virus (en cèl·lules transportades per retrovirus). Interferència vírica.

original de cèl·lules transformades. És evident que cadascuna de les alteracions indicades a la taula 2 no poden ésser determinades pels diferents productes gènics codificats pel genoma del virus, atès que tant el virus del polioma com el SV40 contenen molt poca quantitat d'informació genètica. En conseqüència, la majoria dels canvis observats en les cèl·lules transformades han d'ésser causats per respostes, o bé pleiotròpiques o bé indirectes, de la cèl·lula al genoma víric.

TAULA 3. — EFECTES DELS VIRUS ONCOGENICS EN ELS HOSTES NATURALS I DE LABORATORI
(ANIMALS EXPERIMENTALS I LÍNIES CEL·LULARS)

Tipus de virus	Grup	Malaltia maligna natural		Malaltia maligna en l'animal experimental		Transformació de línies cel·lulars		
		Hoste	Tumor	Hoste	Tumor	Producció de virions	Procedència	Producció de virions
ADN								
<i>Papovavirus:</i>								
Polioma	Virus de simís 40	—	—	Ratolí nadó	Diferents	—	Rosegadors	—
Virus de simís 40		—	—	Ratolí nadó	Sarcoma	—	Rosegadors, Home	—
Papiloma del conill	Conill	Conill	Papiloma → carcinoma	Conill	Papiloma → carcinoma	—	—	—
<i>Adenovirus:</i>	—	—	—	Ratolí nadó	Sarcoma	—	Rosegadors	—
<i>Herpetovirus:</i>								
Virus de Marek	Pollet	Pollet	Limfomatosi	Pollet	Limfoma	—	—	—
Virus de Lucké	Granota	Granota	Adenocarcinoma	Cap-gros	Adenocarcinoma	—	—	—
Virus d'Epstein-Barr	Home (?)	Home (?)	Limfoma Carcinoma nasofaríngi	—	—	—	Home	—
Herpes simple 2	Home (?)	Home (?)	Carcinoma cervical	—	—	—	Home	—
ARN								
<i>Retrovirus:</i>								
de l'Aviram	Pollet	Pollet	Leucosi Sarcoma	Pollet	Leucosi Sarcoma	+	Pollet	+
				Pollet	Pollet	+	Pollet	+
				Rosegadors	Rosegadors	+	Rosegadors	+
				Mones	Mones	+	Home	+
Murí	Ratolí	Ratolí	Leucèmia Sarcoma	Rosegadors	Leucèmia Sarcoma	+	Ratolí	+
Felí	Gat	Gat	Leucèmia Sarcoma	Rosegadors	Leucèmia Sarcoma	+	Rosegadors	+
				Gos	Leucèmia Sarcoma	+	Gat	+
				Conill	Sarcoma	+	Home	+
Virus del tumor mamari	Ratolí	Ratolí	Carcinoma mamari	Ratolí	Carcinoma	+	—	—

VIRUS TUMORALS AMB ADN

Els virus animals amb genomes d'àcid desoxiribonucleic han estat classificats en cinc grups, en ordre de complexitat creixent, i s'han trobat exemples de virus oncògens en els grups dels papovavirus, adenovirus i herpesvirus (Taula 3).

Papovavirus

Dins dels papovavirus, s'ha dedicat especial atenció experimental als virus del polioma i al SV40. Les raons són evidents: d'una banda, les petites dimensions dels seus genomes permeten utilitzar-los com a sondes biològiques per a estudiar la maquinària genètica de les cèl·lules eucariòtiques, molt més complicada. Per l'altra, la capacitat transformant d'aquests virus permet utilitzar-los per a estudiar els mecanismes pels quals una cèl·lula normal és convertida en una cèl·lula maligna, amb algunes de les propietats esmentades a la taula 2.

Fins al present, els estudis sobre el virus del polioma i el SV40 han aportat moltes més dades sobre la biologia molecular d'aquests dos virus que sobre el seu paper en la desregulació cel·lular (la seva possible oncogenicitat). Sembla raonable pensar que el càncer és una malaltia iniciada al nivell d'una o poques cèl·lules primordials, i que els virus poden actuar directament alterant la regulació del genoma eucariòtic.

La qüestió sobre l'existència de papovavirus oncògens en l'home és encara incontestable. Durant la passada dècada diferents virus amb morfologies similars al papiloma i al SV40 han estat aïllats de fonts humanes. Un virus aïllat el 1972 de pacients amb leucoencefalopatia multifocal progressiva (PML) sembla que està relacionat antigènicaament amb el SV40. Pot ésser cultivat en línies primàries de cèl·lules de mones, així com en cèl·lules humanes de cervell fetal. El seu ADN té un 30 per cent d'homologia amb el del SV40. Altres papovavirus han estat trobats en l'orina de pacients en procés d'immunosupressió després d'un trasplantament de ronyó. La raó de la seva presència és encara desconeguda, però indica un cop més la relació existent entre la proliferació vírica i l'estat immunològic de l'hoste.

Adenovirus

Els adenovirus són més grans i complexos que els papovavirus, però també repliquen el seu ADN i completen l'arquitectura de la partícula vírica en el nucli de les cèl·lules permissives.

L'any 1962 Trentin demostrà que l'adenovirus humà tipus 12 produeix sarcomes quan s'inocula a hàsters acabats de néixer. Treballs posteriors han demostrat que altres adenovirus d'origen animal i humà són també oncògens, encara que la capacitat dels diferents adenovirus per a produir tumors varia considerablement. D'acord amb el període de latència i la dosi mínima infectiva, els tipus humans 12, 18 i 31 presenten el potencial oncogènic més elevat. Aquests són regularment oncògens per a un ampli nombre d'espècies de rosegadors na-

dons, si bé no ho són per als adults. Això no obstant, els intensius estudis fets amb tècniques immunològiques i d'hibridació molecular no han trobat encara proves directes de l'oncogenicitat d'aquests virus en l'home.

Adenovirus no infectius poden ésser aïllats de tumors induïts en hámsters per adenovirus oncògens, però no s'obtenen de cèl·lules transformades, àdhuc després que aquestes hagin estat sotmeses a diferents tractaments físics i químics (incloent-hi la fusió cel·lular) dels quals podria esperar-se la inducció de la multiplicació del genoma víric integrat. Encara que només un petit percentatge de l'ADN de les cèl·lules malignes complementa específicament amb l'ADN extret de l'adenovirus, l'ADN víric sembla ésser transcrit preferentment, ja que més del 5 % de l'ARN missatger recuperat dels poliribosomes de les cèl·lules transformades és específic dels virus. Experiments d'hibridació competitiva han demostrat que aquest ARN missatger víric és transcrit *in vivo* a partir exclusivament d'una curta seqüència dels gens vírics primerencs. En aquest sentit, dades recents indiquen que l'ADN adenovíric integrat en el cromosoma de la cèl·lula hoste està incomplet.

Herpetovirus

Un tipus de càncer que representa aproximadament la meitat de tots els processos malignes infantils en l'Àfrica de l'Est, és el limfoma de Burkitt, denominat així en honor de Dennis Burkitt, qui va ser el primer en adonar-se de la anormalment elevada incidència de tumors i suggerí que la seva peculiar distribució geogràfica podia ésser deguda al resultat de la infecció amb un virus oncògenic transmès per un insecte. Aquest tumor és també conegut a Nova Guinea, i casos d'aquest limfoma s'han trobat actualment, si bé amb una baixa freqüència, en totes les regions del món en les quals s'ha portat a terme una recerca adequada. Aquests descobriments, conjuntament amb les proves virològiques que discutirem després, portaren Burkitt a postular que el limfoma podria ésser causat per un virus estès per tot el món, en combinació amb un factor ambiental que està restringit geogràficament i que pot estar associat amb algun vector.

En 1964, Epstein i els seus col·laboradors aïllaren un herpetovirus (ara anomenat virus d'Epstein-Barr) d'un cultiu de cèl·lules tumorals. En els cromosomes de totes les línies de cèl·lules tumorals amb el virus EB es troben moltes còpies del genoma víric integrades en l'ADN del cromosoma cel·lular. Algunes d'aquestes cèl·lules produeixen virus actius d'una forma espontània, d'altres poden ésser activades a produir partícules víriques amb un tractament químic (per exemple amb 5'-bromodesoxiuridina). Una altra sorpresa es produí quan Henle demostrà que el virus EB és l'agent etiològic de la mononucleosi infecciosa.

El problema central continua essent si el virus EB és l'agent etiològic del limfoma de Burkitt. En qualsevol cas no hi ha dubte que (a) el virus EB produeix la mononucleosi infecciosa, que en alguns aspectes recorda les etapes inicials del limfoma, (b) el virus EB origina la transformació de limfòcits *in vitro* (c) tots els casos de limfoma de Burkitt presenten proves serològiques d'infecció amb el virus EB, i (d) antígens del virus EB poden detectar-se en tots els tumors de Burkitt, a més del fet que es poden recuperar després d'haver cultivat les cèl·lules d'aquests tumors *in vitro*. Cap d'aquestes dades circumstancials no són proves definitives d'una possible associació etiològica, però sens dubte aquest

problema restarà solucionat quan es coneguin els resultats d'un ampli estudi epidemiològic que sobre aquest tema està portant a terme l'Organització Mundial de la Salut.

Associacions serològiques s'han trobat també entre els virus EB i el càncer nasofaringi, molt freqüent en la població de Xina, així com entre aquest virus i la malaltia de Hodgkin, independentment. Regularment es detecta ADN del virus d'Epstein-Barr en biòpsies de carcinoma nasofaringi.

El virus de l'herpes simple del tipus 2 presenta una estreta associació amb el carcinoma cervical. Mostres cervicals de dones amb carcinoma presenten cèl·lules que tenen antígens específics del virus; igualment es pot detectar ADN del virus en aquestes cèl·lules malignes. A més, s'ha trobat que els virus de l'herpes simple inactivats amb radiació ultraviolada poden transformar cultius cel·lulars.

VIRUS ONCÒGENS AMB ARN

Els virus oncògens ARN es diferencien en molts aspectes dels ADN que hem discutit. Una de les diferències més importants és la capacitat de les cèl·lules transformades per virus ARN per a continuar produint partícules víriques infeccioses (vegeu la taula 3).

No obstant això, la relació entre la capacitat d'induir tumors i la de produir partícules víriques (virions) és bastant complexa. En diferents sarcomes induïts per virus la producció de virions varia d'un tumor a l'altre, i en alguns no es pot detectar cap tipus de virió. D'una altra banda, la detecció de virions reconeguts com a oncògens en un animal no indica que aquest estigui patint una malaltia neoplàstica.

Tots els virus oncògens ARN es classifiquen dins del grup dels retrovirus (denominats també leucovirus i oncornavirus, encara que dels tres el primer nom sembla més adequat). Hom discuteix a continuació les principals característiques oncògenes dels retrovirus més coneguts.

Virus de la leucosi de l'aviram i de sarcoma de Rous

En el curs d'experiments sobre la transformació de cèl·lules de pollet pel virus del sarcoma de Rous (RSV), es van observar irregularitats determinades per la presència d'un altre virus del mateix grup, el de la leucosi de l'aviram (ALV). Aquest últim modifica la capacitat transformadora del RSV, bé interferint-la, bé potenciant-la, en qualitat de virus "ajudant". El primer cas és demostrat pel fet que les cèl·lules prèviament infectades per l'ALV (però aparentment normals) són resistent a la infecció pel RSV (i per tant, no transformables). El segon efecte s'observa quan les cèl·lules transformades pel RSV, però que no poden produir virions, en ésser infectades posteriorment pel l'ALV passen a produir tots dos tipus de partícules víriques. Per tant, l'ALV aporta algun factor que permet al RSV completar la seva maduració.

Encara que de bon principi hom pensava que el RSV tenia un marge d'hoste molt estret, actualment es poden produir tumors amb aquest virus en diferents espècies d'ocells, i àdhuc de mamífers. Però els tumors i les cèl·lules transforma-

des de mamífers induïts pel RSV no alliberen partícules infeccioses encara que hi intervingui un virus ajudant.

La presència del genoma víric pot ésser demostrada, però, cultivant les cèl·lules transformades de mamífer juntament amb fibroblasts de pollet, o inoculant aquests animals amb cèl·lules transformades o tumorals. En tots dos casos, les cèl·lules de pollet són transformades i alliberen partícules infeccioses del RSV.

Al principi de la dècada dels 70 va produir-se un gran interès a aconseguir la síntesi *in vitro* del "provirus" ADN del RSV (és a dir, la còpia d'ADN portada a terme per la transcriptasa inversa a partir de l'ARN original del virus, la qual còpia és necessària per a la integració del genoma víric en el cromosoma eucariòtic). Encara que la transcriptasa inversa és un enzim present en diferents tipus de virus, molts d'ells sense cap relació amb l'oncogènesi, i també en moltes cèl·lules animals, la possibilitat d'utilitzar el transcrit d'ADN dels retrovirus permet imaginar una nova etapa de la recerca sobre el càncer en la qual les tècniques virològiques puguin ser substituïdes per la manipulació de molècules sintètiques.

Virus murins de la leucèmia, del sarcoma i del tumor mamari

Entre els dos primers tipus de virus existeix un estret paral·lisme. La relació va ésser reforçada pel descobriment per Harvey d'un equivalent en els ratolins del RSV. El virus del sarcoma murí produeix tumors sòlids en ratolins nadons i transforma cèl·lules embrionàries del mateix animal. També produeix tumors en hàmsters i rates. En canvi, es distingeix del RSV perquè és un virus

TAULA 4. — INTERACCIÓ ENTRE ELS VIRUS ONCOGÈNICS
I LES CÈL·LULES HOSTE

<i>Virus oncogènics DNA</i>	<i>Virus oncogènics RNA</i>
1. Infecció productiva amb lisi cel·lular, <i>o bé</i> , infecció abortiva que pot conduir a la transformació cel·lular, amb producció vírica petita o absent.	Transformació cel·lular amb producció de virus, <i>o bé</i> , infecció abortiva i transformació amb absència de producció vírica.
2. Transformació poc eficient (10^6 - 10^7 partícules/transformador).	Transformació eficient (10^2 - 10^3 partícules/transformador).
3. Transformació de línies cel·lulars. Causa poc important de tumors malignes naturals.	Patògens naturals importants en animals.

defectiu, ja que encara que per si sol resulta sarcomagen, únicament pot produir partícules infeccioses si es troba present un virus ajudant, el de la leucèmia murina. Aquest últim virus "rescata" el genoma defectiu del virus del sarcoma i codifica la coberta d'ambdós tipus de partícules víriques.

L'estudi dels virus oncògens murins s'ha vist complicat pel descobriment que en els cromosomes de moltes cèl·lules normals de ratolins pot trobar-se una còpia ADN del genoma víric (el qual conté ARN). Per tant, aquest ADN del provirus pot ésser considerat un grup de gens cel·lulars normals que és transmès verticalment de mares a fills en les successives generacions. En les línies de ratolins de "capacitat leucèmica baixa", els virions es produeixen molt rarament, però en les de "capacitat leucèmica alta" apareixen virus i es manifesta la leucèmia en algun període de la vida de l'animal. D'una altra banda, els cultius cel·lulars d'embrions que no han tingut contacte amb el virus poden ésser induïts

TAULA 5. — TIPUS D'INTERACCIÓ ENTRE LA CÈL·LULA HOSTE I ELS VIRUS TUMORIGÈNICS EN CULTIUS

Interacció	Tipus
I. NO PRODUCTIVA (virus ADN i ARN)	1. Abortiva (genoma víric perdut). 2. Defectiva (genoma víric incomplet). 3. No permissiva (factors cel·lulars absents). 4. Inactiva (genoma víric no transcrit)
II. PRODUCTIVA	1. Lítica (virus ADN). 2. No lítica (virus ARN).
III. TRANSFORMADOR	Interaccions molt variades dependent del virus transformador i de la cèl·lula hoste. Grups de virus ADN: papovavirus i herpesvirus. Virus ARN: retrovirus.

a produir virions oncògens per tractament amb carcinògens o mutàgens. Aquest fenomen sembla molt estès en altres retrovirus, ja que també en cèl·lules normals de pollet pot identificar-se ADN del provirus.

Finalment, el virus del tumor mamari murí s'assembla als virus leucèmics de diferents animals. Ja el 1935 hom demostrà que el virus podia ésser transmès de mares a fills per la llet. Com que no disposem d'un sistema de cultiu cel·lular adequat, no s'ha pogut estudiar la possible transformació. No obstant això, existeixen proves que les cèl·lules normals de ratolí contenen en el seu genoma al-

menys una còpia d'ADN del genoma víric, la qual cosa explicaria la transmissió genètica del virus. El fet que diferents carcinògens, hormones i estats immunitàtics puguin desreprimir els provirus integrats aporta no solament una justificació de l'aparició de virus en cèl·lules no infectades, sinó també una solució integradora de les diferents teories genètiques, immunològiques i víriques que intenten explicar l'origen i el desenvolupament del càncer (Taules 4 i 5).

VIRUS I CÀNCERS HUMANS

Fins al present no hi cap prova irrefutable que algun tipus de càncer humà sigui induït per un virus, encara que dos tumors benignes, les berrugues (papovavirus) i el "molluscum contagiosum" (*poxvirus*), són clarament malalties víriques, i que el virus d'Epstein-Barr n'és un candidat molt probable. Des del punt de vista de la unitat biològica, seria molt sorprenent que l'espècie humana no tingués cap virus oncogen, quan en moltes altres espècies animals la relació entre virus i alguns tipus de càncer ha quedat plenament demostrada.

Una posició extrema seria la de considerar que tots els càncers humans són produïts per virus, i que els agents carcinògens solament actuen com a desrepressors d'un oncogen víric. L'altra, que el càncer és únicament originat per alteracions del material genètic propi, bé de manera espontània, bé per l'acció d'agents físico-químics inductors. El càncer no és una malaltia única, i per tant pot no tenir una causa única. De tota manera, no ha resultat fàcil fins ara, i no ho serà en el futur, establir una relació causal clara entre virus i càncer en l'espècie humana. El fet d'aïllar un virus d'un tumor humà no incrimina el virus com a agent etiològic. El problema és que els vertebrats són portadors de tants virus no aparents que alguns d'aquests poden multiplicar-se i fer-se notoris en cultius cel·lulars o en cèl·lules tumorals.

En 1882, Robert Koch formulà un conjunt de postulats que havien d'ésser justificats abans de poder acceptar un determinat microorganisme com a causant d'una malaltia determinada. Koch proposà que l'agent hauria de poder 1) ser trobat en tots els casos de la malaltia, 2) ser aïllat de l'hoste i desenvolupat en cultiu pur, 3) reproduir la malaltia en inocular-lo en animals sans, i 4) ser recuperat de nou de l'hoste infectat experimentalment. Però, encara que per als microorganismes cel·lulars els postulats de Koch són perfectament aplicables (a excepció del segon, en el cas d'alguns bacteris estrictament paràsits), pel que fa als virus aquests requeriments són difícils o impossibles d'aconseguir.

En el temps en què Koch formulà el seu sistema no es coneixia la naturalesa vírica de moltes malalties. Però ja en aquest segle es va fer evident la necessitat d'establir uns criteris paral·lels als de Koch, però aplicats al cas dels virus, atès que aquests no poden desenvolupar-se en cultius axènics. El 1937, Rivers proposà uns postulats aplicables tant als virus animals com vegetals, segons els quals 1) l'agent víric hauria de ser demostrat en els fluids de l'hoste en el temps de la infecció, o bé estar present en les cèl·lules que presenten lesions específiques, 2) els filtrats obtinguts de l'organisme afectat haurien de produir la malaltia específica en organismes sans, o bé aportar evidència de la infecció en forma d'anticossos específics (és important demostrar que tots els filtrats estan lliures de bacteris, siguin o no cultivables) i 3) els filtrats similars dels organismes infectats experi-

mentalment haurien d'ésser també capaços de transmetre la malaltia específica a altres hostes.

Però, més de quaranta anys després de la formulació de Rivers, els seus postulats, que han estat utilitzats amb èxit en molts exemples de malalties víriques animals, no poden aplicar-se a elucidar el possible origen víric dels càncers humans. El primer postulat requereix la demostració de l'agent etiològic en els organismes infectats, però de la major part de les cèl·lules tumorals no poden aïllar-se partícules víriques infeccioses. Solament després de manipulacions complicades (per exemple, cultivant-les de vegades amb altres tipus de cèl·lules) poden detectar-se partícules infeccioses. Però això no elimina la possibilitat que el virus sigui un contaminant, i per tant no estigui implicat en l'origen del tumor.

D'una altra banda, el segon postulat requereix la inducció de l'estat patològic en un hoste sa, però aquests tipus d'experiments no són normalment duts a terme amb subjectes humans, i, en cas de ser-ho, no aporten informació definitiva. S'han fet experiments en aquest sentit en pacients afectats d'una malaltia maligna avançada, però, atès que se sap que la resposta immunològica d'aquests pacients pot resultar seriosament minvada, és molt dubtosa l'aplicació de les conclusions obtingudes als subjectes normals.

L'estratègia per a la demostració de l'etiologia vírica del càncer inclou ara per ara l'estudi epidemiològic, en conjunció amb els immunològics (com el realitzat per De Thé i col·laboradors en el cas del virus d'Epstein-Barr i el limfoma de Burkitt), l'estudi de les cèl·lules tumorals (per a detectar la presència d'ADN o ARN vírics, o d'antígens associats als virus), i l'estudi de l'oncogenicitat potencial del virus tant en cultius com en animals, especialment en primats no humans.

Confiem que si alguns virus oncògens humans són aïllats i obtinguts en quantitats suficients, les formes de càncer associades podran ser combatudes eficientment, bé mitjançant el desenvolupament de vacunes efectives o bé pel descobriment de sistemes d'intervenció en les rutes primàries de la infecció.

No és pas un fet desconegut que des de fa temps s'estan dedicant més esforços, tant materials com humans, en la lluita contra el càncer que no en qualsevol altra malaltia. Però no hi ha dubte que encara és necessari més esforç. L'enfocament del problema es fa des de diferents perspectives: quirúrgica, terapèutica (tractament amb radiacions i drogues diverses), genètico-vírica. Hom espera que la investigació en aquest últim aspecte arribarà a donar la clau de la malaltia descobrint la seva causa principal i, potser, alguns dels mecanismes de regulació i desregulació cel·lular que la provoquen. En investigació clínica, intentar de conèixer les causes d'una malaltia no pot convertir-se en una simple aventura intel·lectual per a satisfacció personal dels propis investigadors o per a accedir a algun premi de prestigi reconegut, sinó que ha d'ésser el camí més científic i clar per a descobrir els mecanismes naturals del fenomen i per a aplicar amb un mínim de garantia les solucions més adequades.

BIBLIOGRAFIA

1. CAIRNS, J.: 1978. Cancer: Science and society. W.H. Freeman.
2. COLD SPRING HARBOR SYMPOSIUM ON QUANTITATIVE BIOLOGY: 1980. Viral oncogenesis. Cold Spring Harbor Laboratory.
3. FRAENKEL-CONRAT, H.; WAGNER, R.R.: 1977. Comprehensive virology, vol. 10. Plenum Press.
4. HIATT, H.H.; WATSON, J.D.; WINSTEN, J.D. (eds.): 1977. Origins of human cancer. Vol. B. Cold Spring Harbor Laboratory.
5. KOPROWSKI, H. (ed.): 1977. Neoplastic transformation. Mechanisms and consequences. Dahlem Konferenzen.
6. MELNICK, J.L.; OCHOA, S.; ORÓ, J. (eds.): 1973. Viral replication and cancer. Labor.
7. TOOZE, J. (ed.): 1973. The molecular biology of tumor viruses. Cold Spring Harbor Laboratory.
8. TOOZE, J. (ed.): 1980. DNA tumor viruses. Cold Spring Harbor Laboratory.
9. STANLEY, W.M.; CASALS, J.; ORÓ, J.; SEGURA, R. (eds.): 1971. Virus y cáncer. Homenaje a F. Durán-Reynals. Sociedad Española de Bioquímica.