



# Universidad de Buenos Aires, Facultad de Medicina

Departamento de Microbiología, Parasitología  
e Inmunología - Cátedra 1  
Microbiología I

## **Teórico 24**

**Modelos de oncogénesis viral:  
virus Epstein-Barr, herpes humano 8 y  
virus T-linfotrópico humano.**

# VIRUS Y CÁNCER

Virus	Taxonomy	Genome	Human cancer
HPV	<i>Papillomaviridae</i>	dsDNA	Cervical cancer, Anal cancer, Penis cancer, Head and neck carcinoma
EBV	<i>Herpesviridae</i>	dsDNA	Burkitt's lymphoma, Hodgkin's lymphoma, Posttransplantation lymphoma, Nasopharyngeal carcinoma
KSHV (HHV-8)	<i>Herpesviridae</i>	dsDNA	Kaposi's sarcoma, Pleural effusion lymphoma, Multicentric Castleman's disease
HBV	<i>Hepadnaviridae</i>	dsDNA	Hepatocellular carcinoma
HCV	<i>Flaviviridae</i>	ssRNA	Hepatocellular carcinoma
HTLV-1	<i>Retroviridae</i>	ssRNA-dsDNA	Adult T-cell leukemia
MCV	<i>Polyomaviridae</i>	dsDNA	Merkel cell carcinoma
SV40	<i>Polyomaviridae</i>	dsDNA	Mesothelioma and colon tumors
JCV	<i>Polyomaviridae</i>	dsDNA	Brain and colon tumors
BKV	<i>Polyomaviridae</i>	dsDNA	Prostate and brain tumors
Adenovirus	<i>Adenoviridae</i>	dsDNA	Several serotypes can transform human and rodent cells and cause malignant tumors upon injection into rodents

**Entre el 15 y el 20% de los cánceres en humanos a nivel mundial tienen etiología viral**

# Mecanismos de oncogénesis viral

Virus: “necesarios pero no suficientes”

- Alteración del ciclo celular
- Inhibición / activación de vías de señalización
- Modulación de la respuesta inmune

Mimetismo molecular (viroquinas, v-receptores, v-ciclinas, etc.)

## Factores asociados:

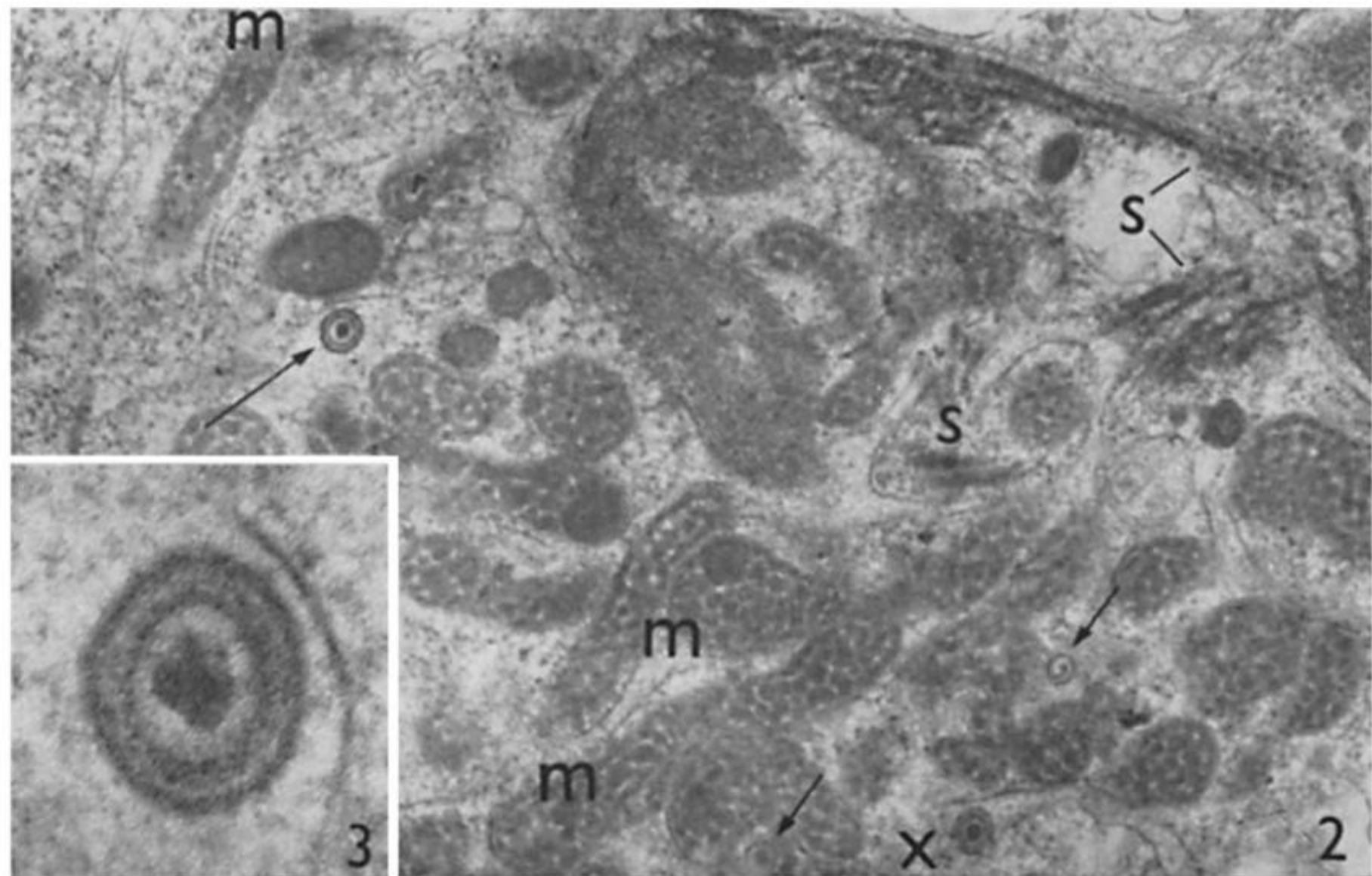
- Ambientales y genéticos
- Inmunodeficiencias primarias o adquiridas
- Trasplantes
- Coinfecciones



**Denis Parsons Burkitt  
(1911-1993)**



**¿Teoría infecciosa?**



MORPHOLOGICAL AND BIOLOGICAL STUDIES ON A VIRUS  
IN CULTURED LYMPHOBLASTS FROM BURKITT'S  
LYMPHOMA

By M. A. EPSTEIN, M.D., G. HENLE, M.D., B. G. ACHONG, M.B., B.Ch., AND  
Y. M. BARR

*(From the Bland-Sutton Institute of Pathology, The Middlesex Hospital Medical School,  
London, and the Children's Hospital of Philadelphia and School of Medicine,  
University of Pennsylvania, Philadelphia)*

PLATES 56 TO 59

(Received for publication, December 15, 1964)

Burkitt's malignant lymphoma of children in Africa (1, 2) is of special significance because the environmental factors which govern its distribution (3, 4) suggest that causation might depend on an arthropod vector spreading an aetiological agent (2-5). Inoculation experiments with monkeys have recently provided further indications that Burkitt's tumour might contain such a transmissible agent (6), whilst certain viruses have been found in association with a number of patients. Thus, herpes simplex has been isolated from a small proportion of biopsy specimens (7, 8) and a reovirus has been grown from biopsy material in a single instance (9). In addition, in six other cases

## Familia *Herpesviridae*: infección productiva y latente

Sub-familia	Virus	Células blanco de la replicación productiva	Células blanco de la latencia
$\alpha$	HSV-1	Epitelial, queratinocito	Neurona
	HSV-2	Epitelial, queraticonocito	Neurona
	VZV	Epitelial, queratinocito, linfocito T, monocito, endotelial, Langerhans	Neurona
$\beta$	HCMV	Macrófago, dendrítica, endotelial, músculo liso, epitelial, fibroblasto	Célula pluripotencial hematopoyética ( <i>Stem cell</i> ) CD34+, macrófago
	HHV-6	Linfocito T CD4+	Célula pluripotencial hematopoyética ( <i>Stem cell</i> ) CD34+, macrófago
	HHV-7	Linfocito T CD4+	Linfocito T CD4+
	EBV	Linfocitos B, epitelial	Linfocito B
$\gamma$	HHV-8	Linfocitos	Linfocitos B

# EBV

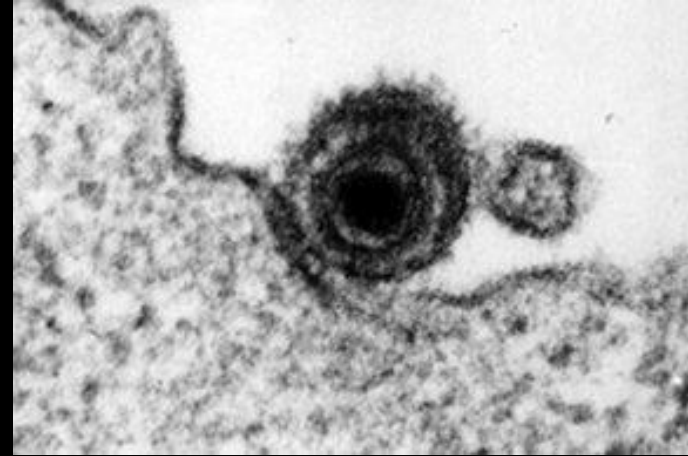
## Transmisión





# EBV

Amplia distribución mundial.  
Prevalencia > al 90% en población adulta.



La transmisión es principalmente por secreciones orofaríngeas .  
Transfusiones y trasplante de órganos son menos frecuente.

Primoinfección :

En niños suele ser asintomática.

En adolescentes y jóvenes puede ser sintomática (Mononucleosis infecciosa).

**Su latencia es un proceso que permite la expresión de diversos factores virales asociados a la transformación celular sin producción viral.**

**Table 1. EBV positivity discriminated by age groups**

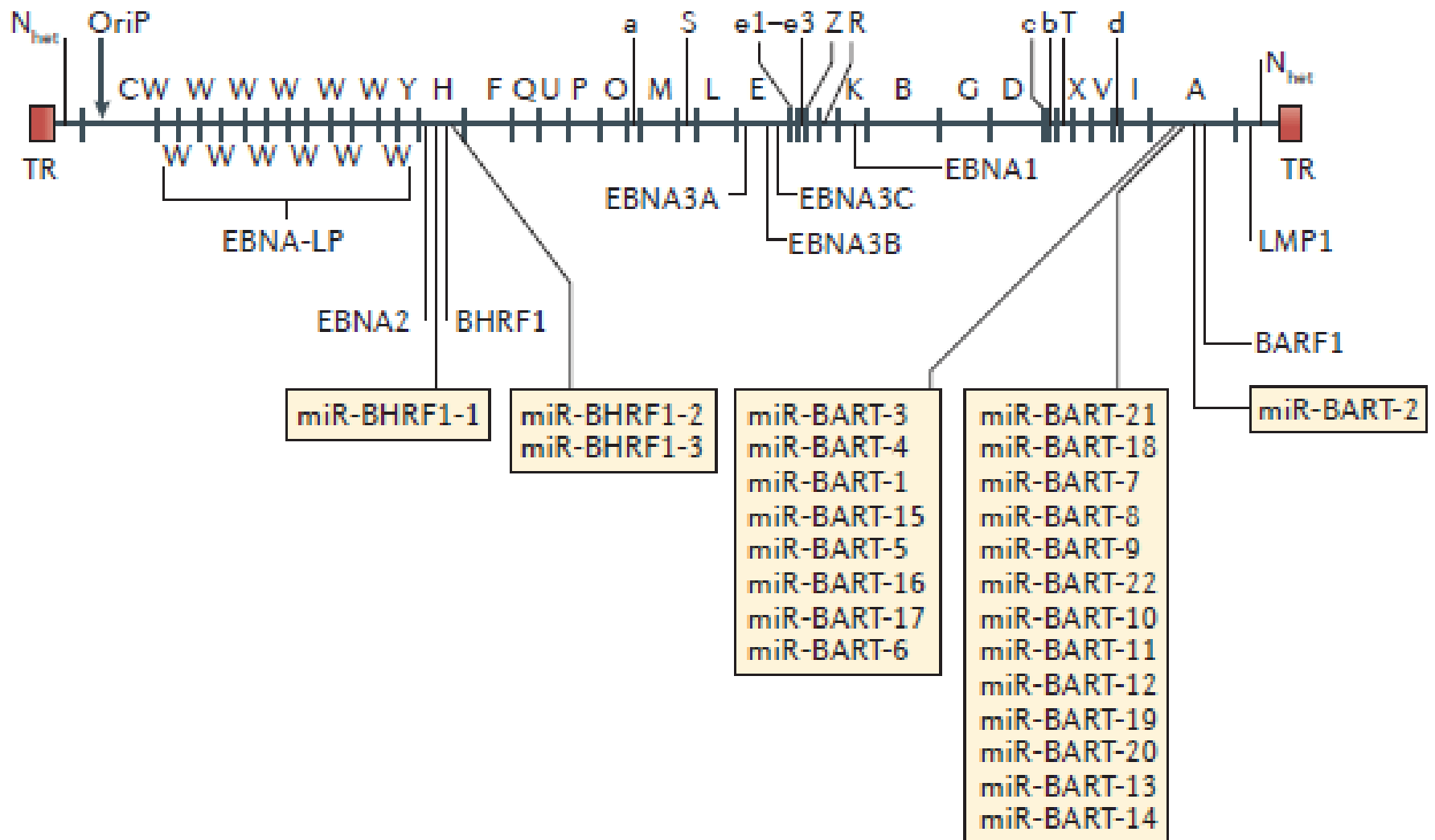
Age	EBV-positive n/total (%) <sup>1</sup>
1–6 months	0/12 (0)
7–12 months	5/19 (26)
13–24 months	15/20 (75)
25–36 months	16/18 (89)
4–6 years	36/43 (84)
7–10 years	23/28 (82)
11–15 years	23/24 (96)
Total	118/164 (72)

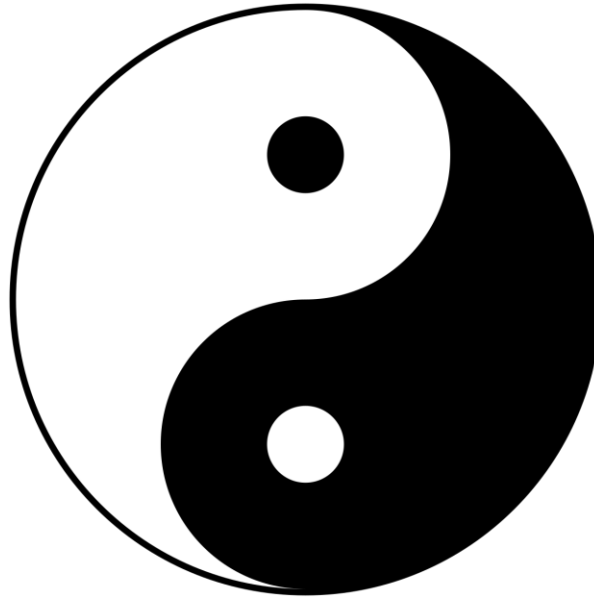
Paola A. Chabay and Maria V. Preciado

Molecular Biology Laboratory, Pathology Division, Ricardo Gutiérrez Children's Hospital, Gallo 1330, Buenos Aires, Argentina



**b** Position of latent gene products on a linear genome





## REPLICACIÓN

ADNdc lineal 172 kb

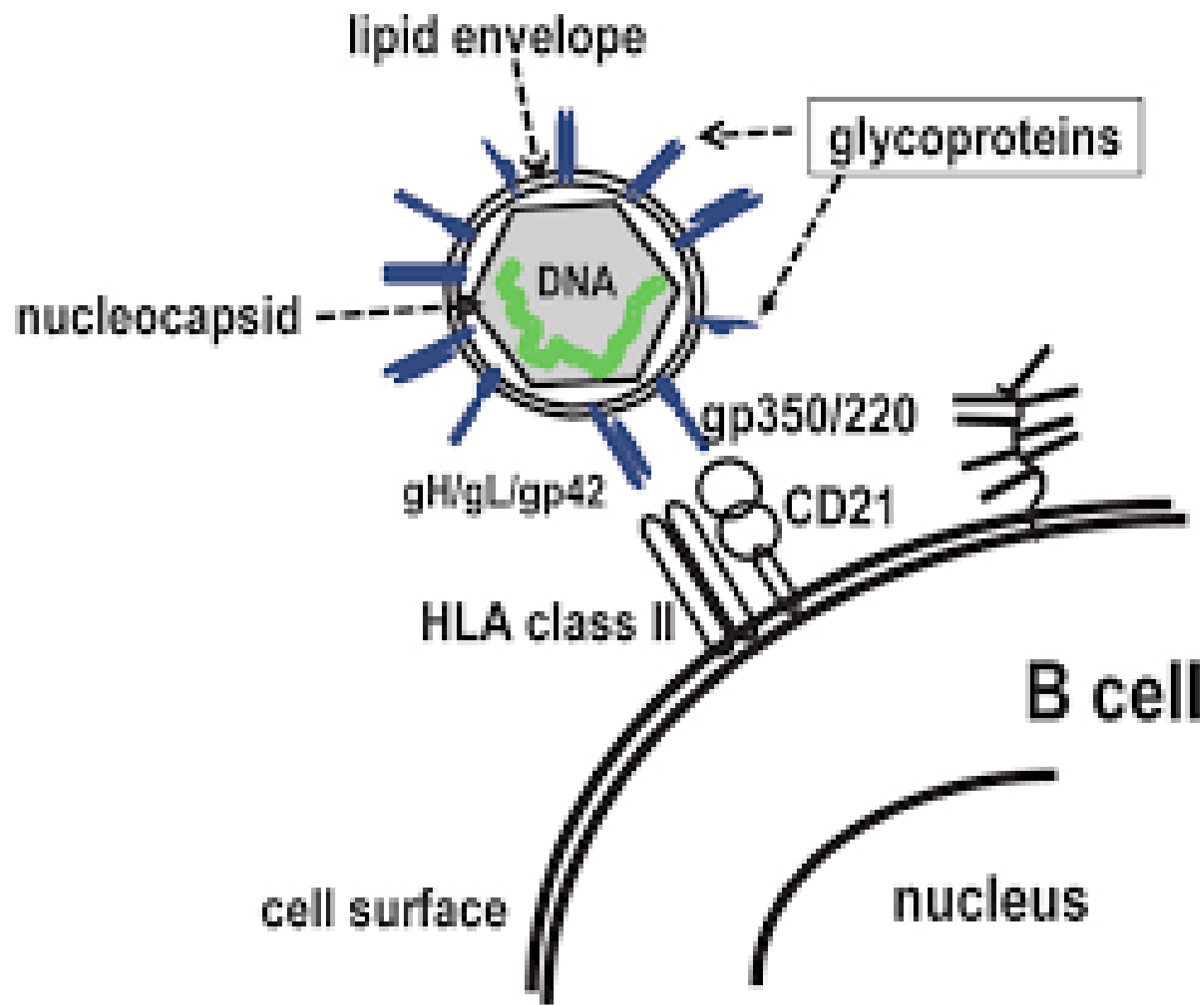
Codifica >80 ORF

## LATENCIA

ADNdc circularizado y episomal

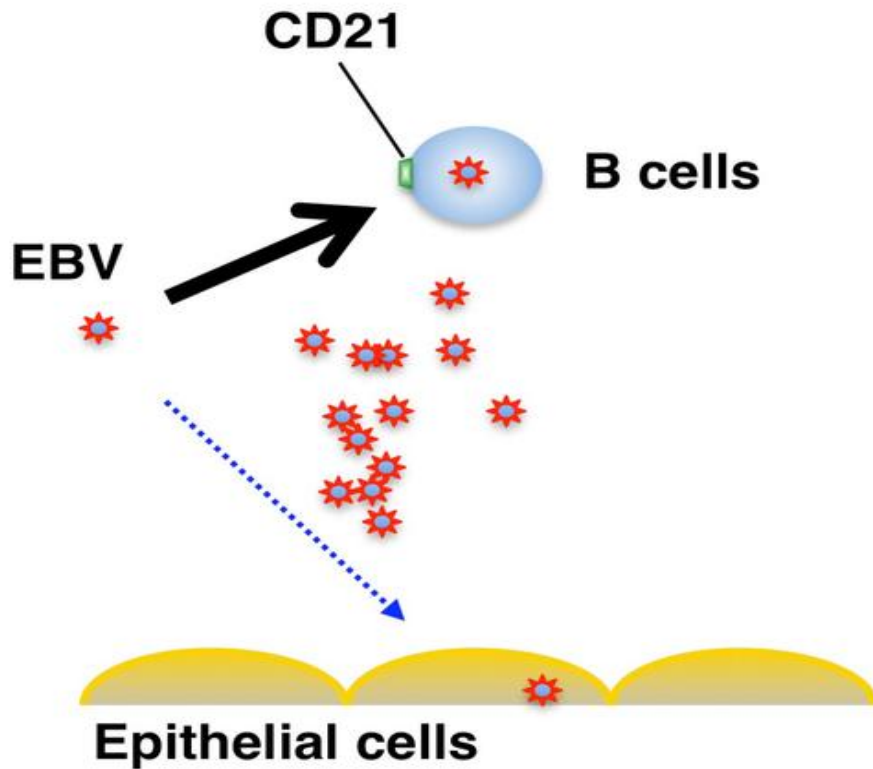
No hay integración al ADN celular

Sólo expresa genes asociados a Latencia.



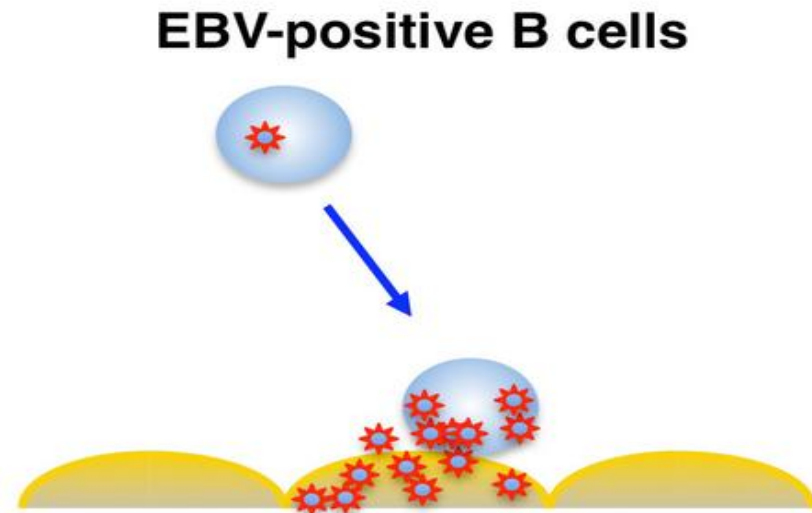
# ***Mecanismos de entrada***

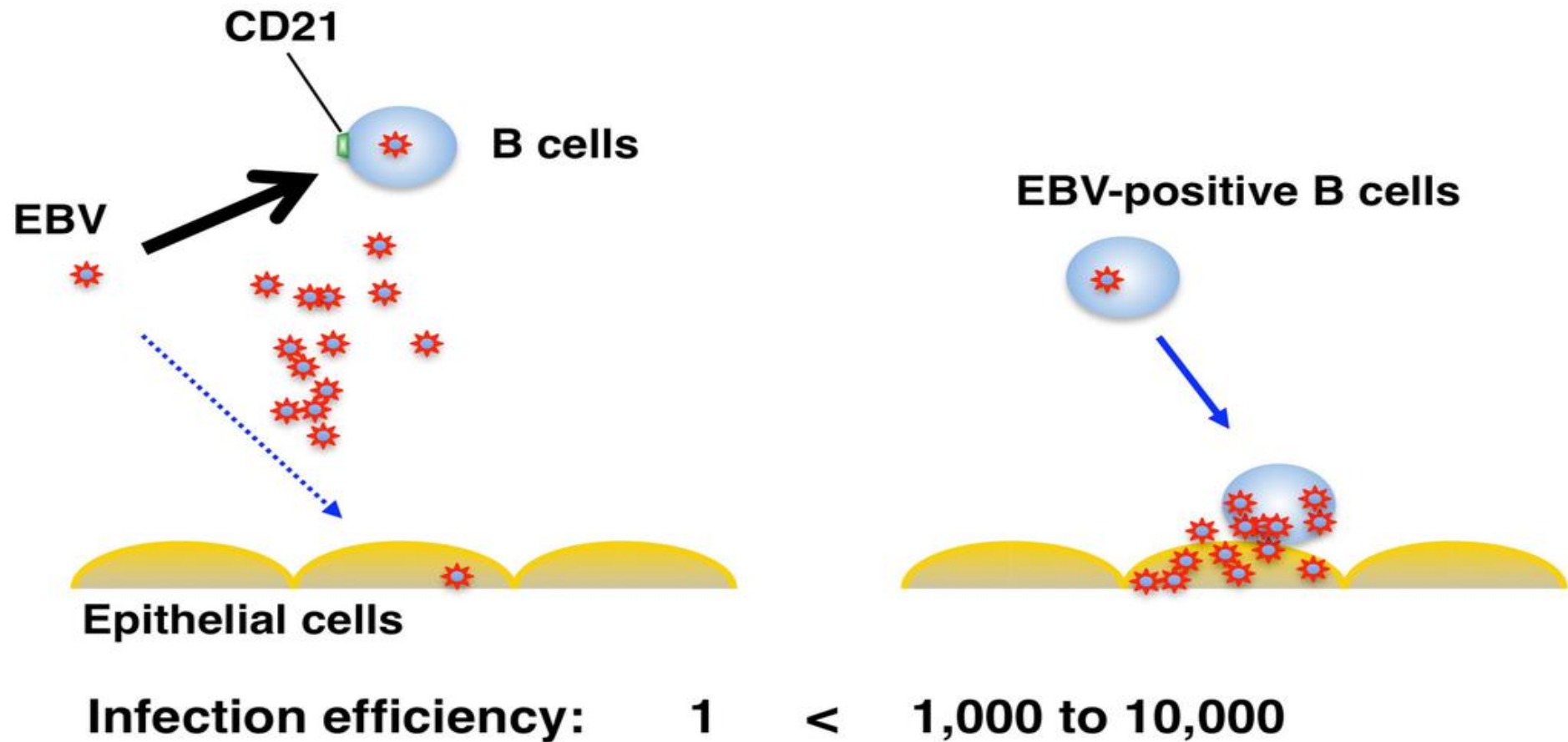
**Infección por virus libre**



**Infection efficiency:**      1      <      1,000 to 10,000

**Infección por contacto celular**

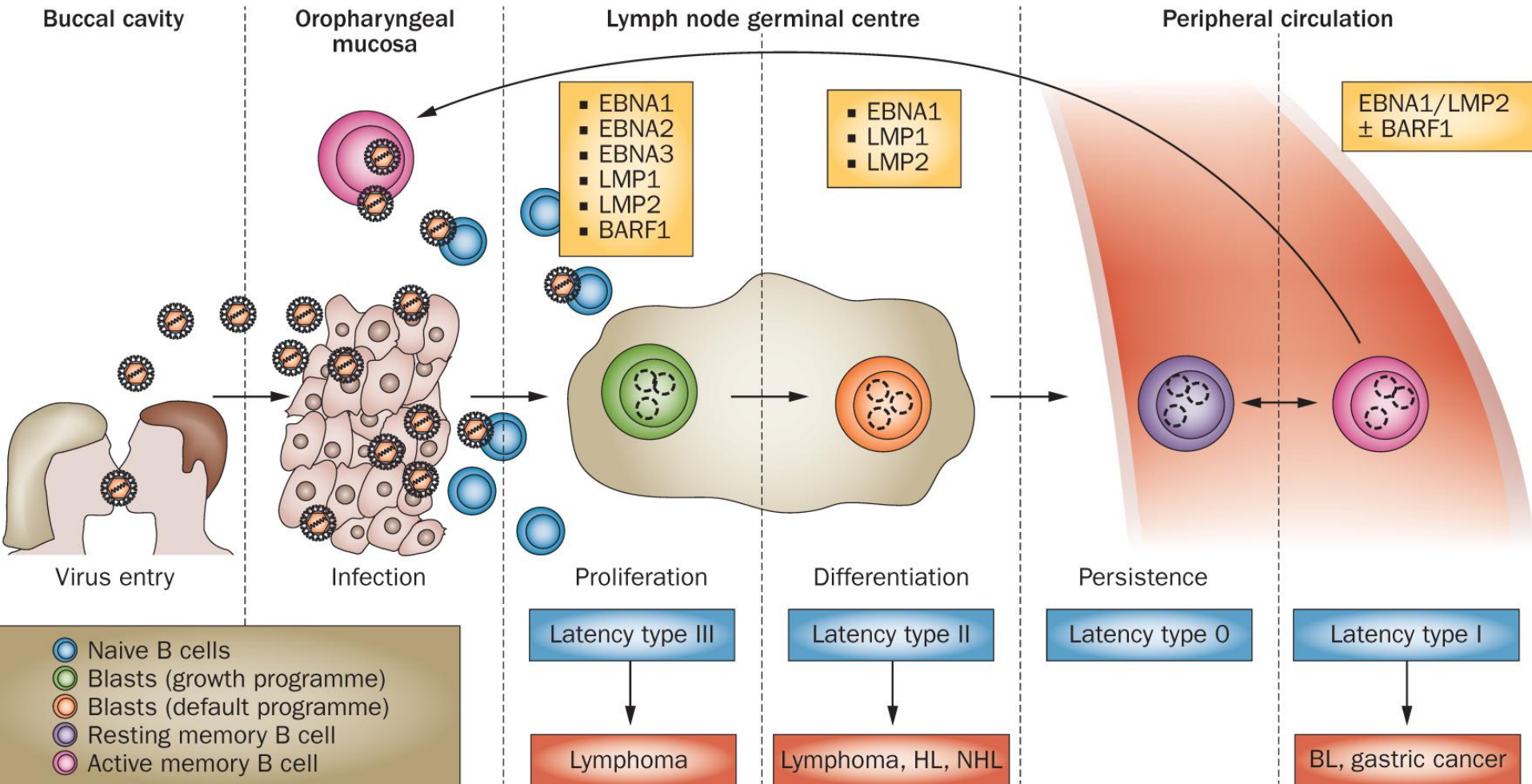




**gpBMRF2 de EBV + alfa / beta integrinas**  
**IgA + Componente secretorio**



# Ciclo del EBV, latencia y linfoma ("modelo del Centro Germinal")



**El virus utiliza la biología celular normal de los linfocitos B para su persistencia**

# Genes asociados a la replicación

## Inmediatamente tempranos:

- BZLF1 y BRLF1 → factores de transcripción, latencia a lítico

## Tempranos: transactivadores o enzimas

- BMRF1 → procesividad y replicación
- BHRF1 → análogo bcl-2
- BGLF5, BARF1, BORF2, BALF5, BXLF1, BALF2, BLRF2, etc.

## Tardíos: proteínas estructurales

- BLLF1 → glucoproteína gp350/220
- BNRF1, BCLF1, BALF4, etc.

# Genes asociados a latencia

## 6 antígenos nucleares:

- EBNA 1 → episoma, efectos anti-apoptóticos
- EBNA2 → transactivador celular y viral
- EBNA3A, 3B y 3C → proliferación y transformación
- EBNA1P → interacción con p53 y Rb

## 3 proteínas latentes de membrana:

- LMP1 → oncoproteína, análogo CD40
- LMP2A y 2B → modula vías celulares

## ARN (no traducibles):

- EBERs 1 y 2 → persistencia viral, anti-apoptóticos
- BARFs → persistencia viral

## miARNs

22 miARN que forman un *cluster* en la región BART del genoma

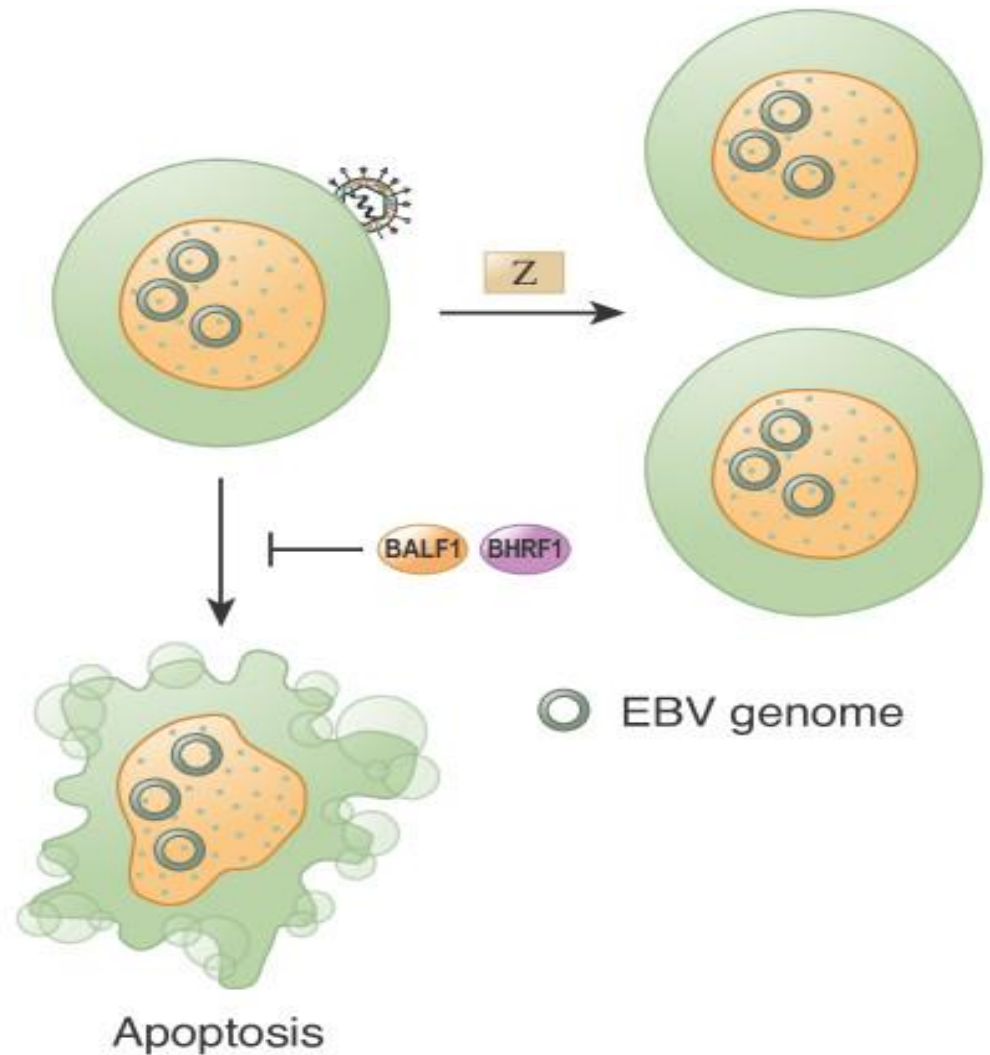
<b>Tumores asociados</b>	<b>Subtipo</b>	<b>Asociación (%)</b>	<b>Tipo de Latencia</b>
Linfoma de Burkitt	Endémico Esporádico Asociado a SIDA	100 15-85 30-40	I
Linfomas en inmunosuprimidos	Inmunodeficiencias primarias DLPT Asociados a SIDA	100 > 90 > 80	III
Linfoma de Hodgkin	Celularidad mixta Nodular esclerosante	60-80 20-40	II
Linfoma T	Asociado a SH Nasal a células T y NK	100 100	I / II
Carcinoma nasofaríngeo	Indiferenciado (OMS tipo III) Diferenciados (OMS tipo I y II)	100 30-100	I / II
Otros carcinomas indiferenciados tipo nasofaríngeo <sup>#</sup>	En: estómago, región sinonasal  En: timo, amígdalas, glándulas salivales, piel, pulmón, cérvix uterino	100  variable	I / II
Carcinoma gástrico	Adenocarcinomas	5-15	I / II
Leiomiomas	En pacientes inmunosuprimidos	100	III / ?

# LATENCIA

## Etapas

Establecimiento

C.  
EBV  
(B cell)



Genes inmediatos tempranos

Z – Induce proliferación

BALF1 y BHRF1 - BCL2 “like”

**ZEBRA (BZLF1)**

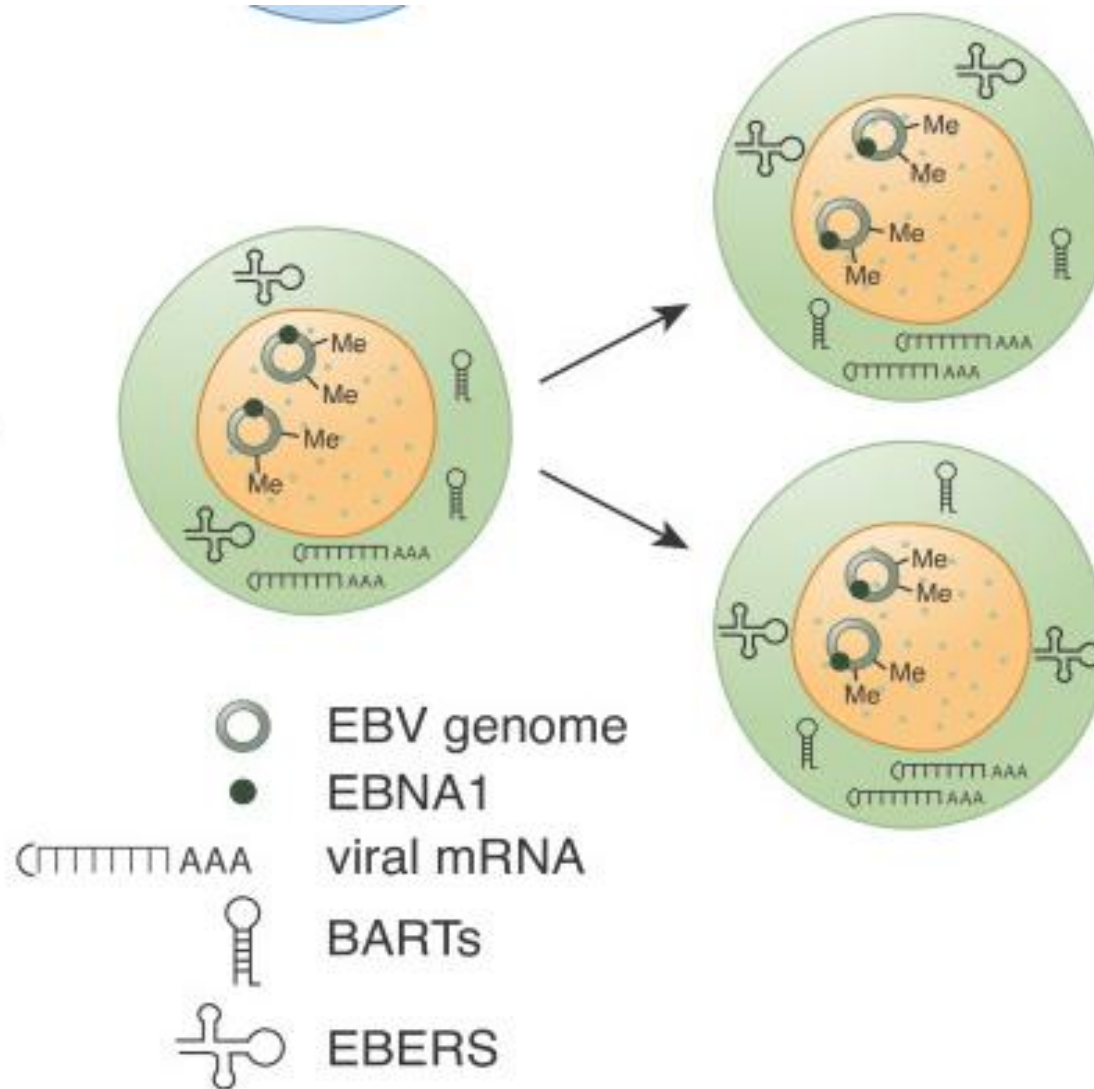
(BamHI-Z-encoded Epstein Barr virus replication activator)



# LATENCIA

Mantenimiento

C.  
EBV



## **EBNA 1 (*Epstein-Barr Nuclear Antigen*)**

Mantiene latencia en células en división/proliferación por metilación del genoma episomal.

## **EBERs (*Epstein-Barr Encoded RNAs*)**

Inhiben PKR, interactúan con RIG-1 e inducen IL-10

## **BARTs (*BamHI A Rightward Transcripts*)**

miARNs posible participación de la modulación inmune

# **LMPs**

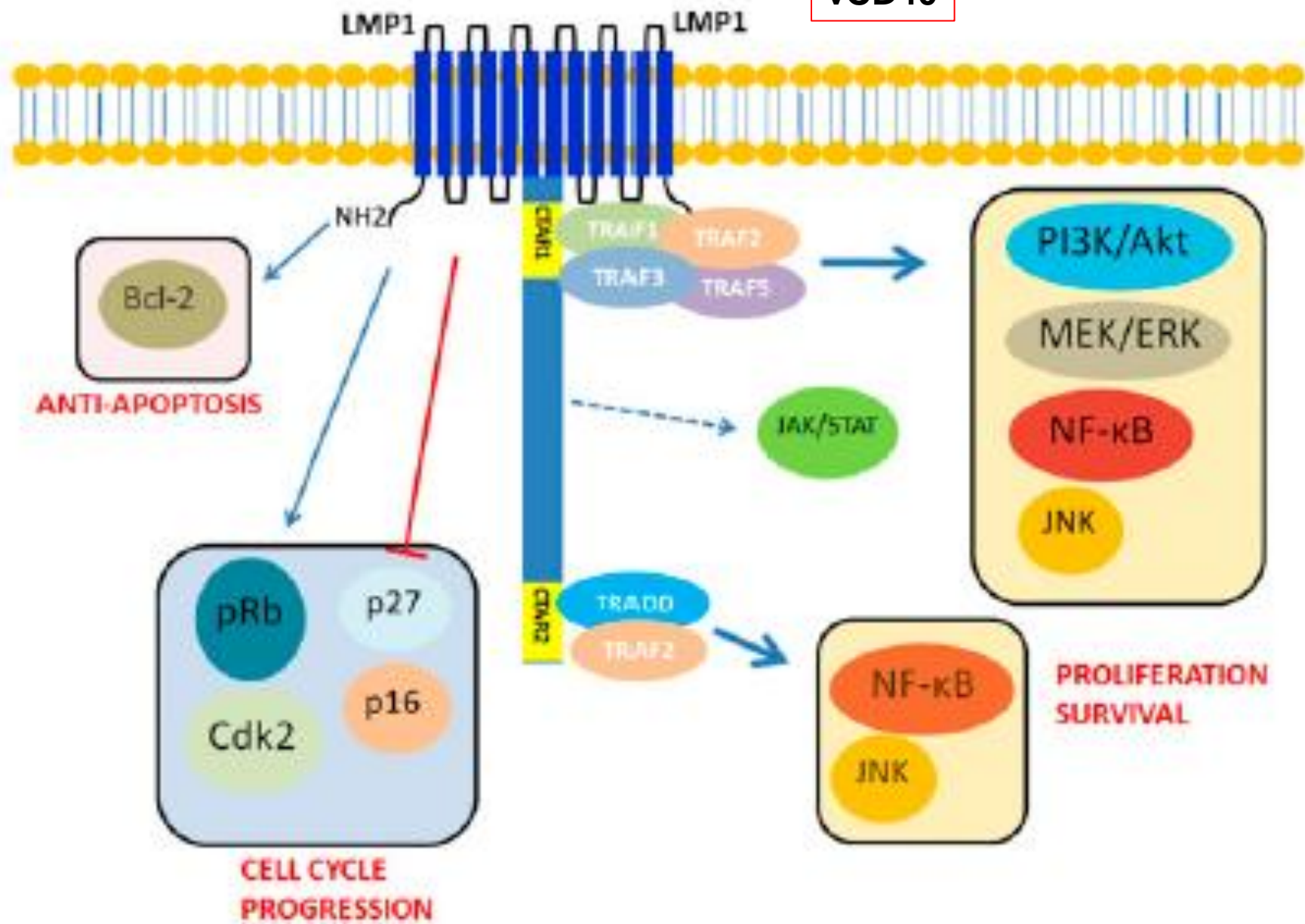
## *Latent Membrane Proteins*

**LMP-1:** Símil CD40 (activación de LB).  
Estimula crecimiento celular.  
Estimula expresión de BCL-2.  
Aumenta expresión de IL-10 inhibiendo inmunidad local.

**LMP-2 A y B:** Estimula señales de activación.  
Inhibe señales desde el BCR producidas por Ags  
y reemplaza al BCR.  
Inhibe apoptosis en LB que no expresan BCR.

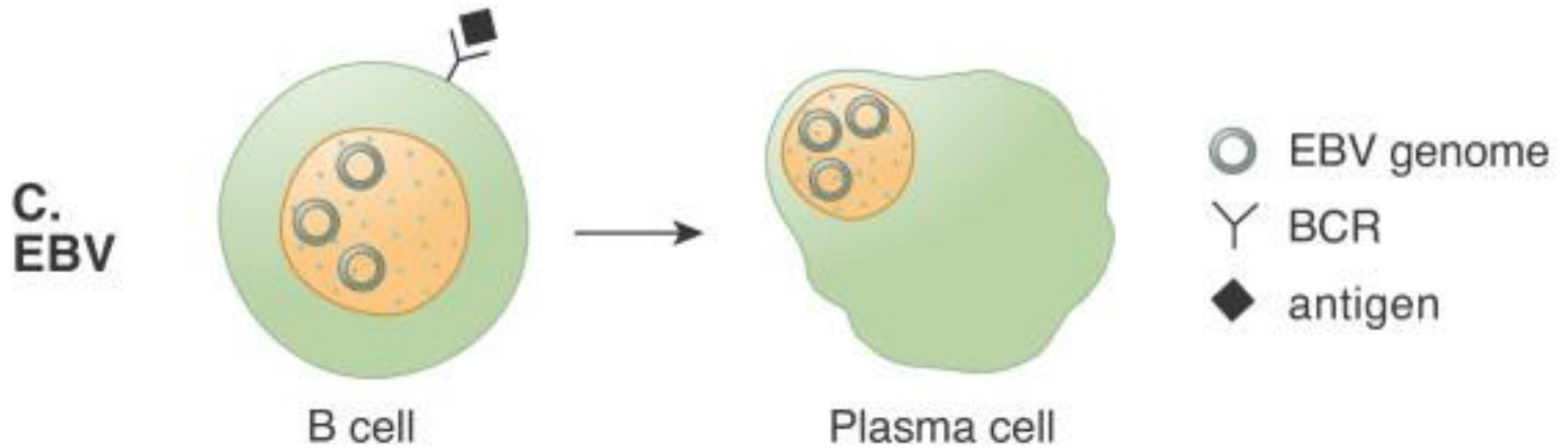


vCD40

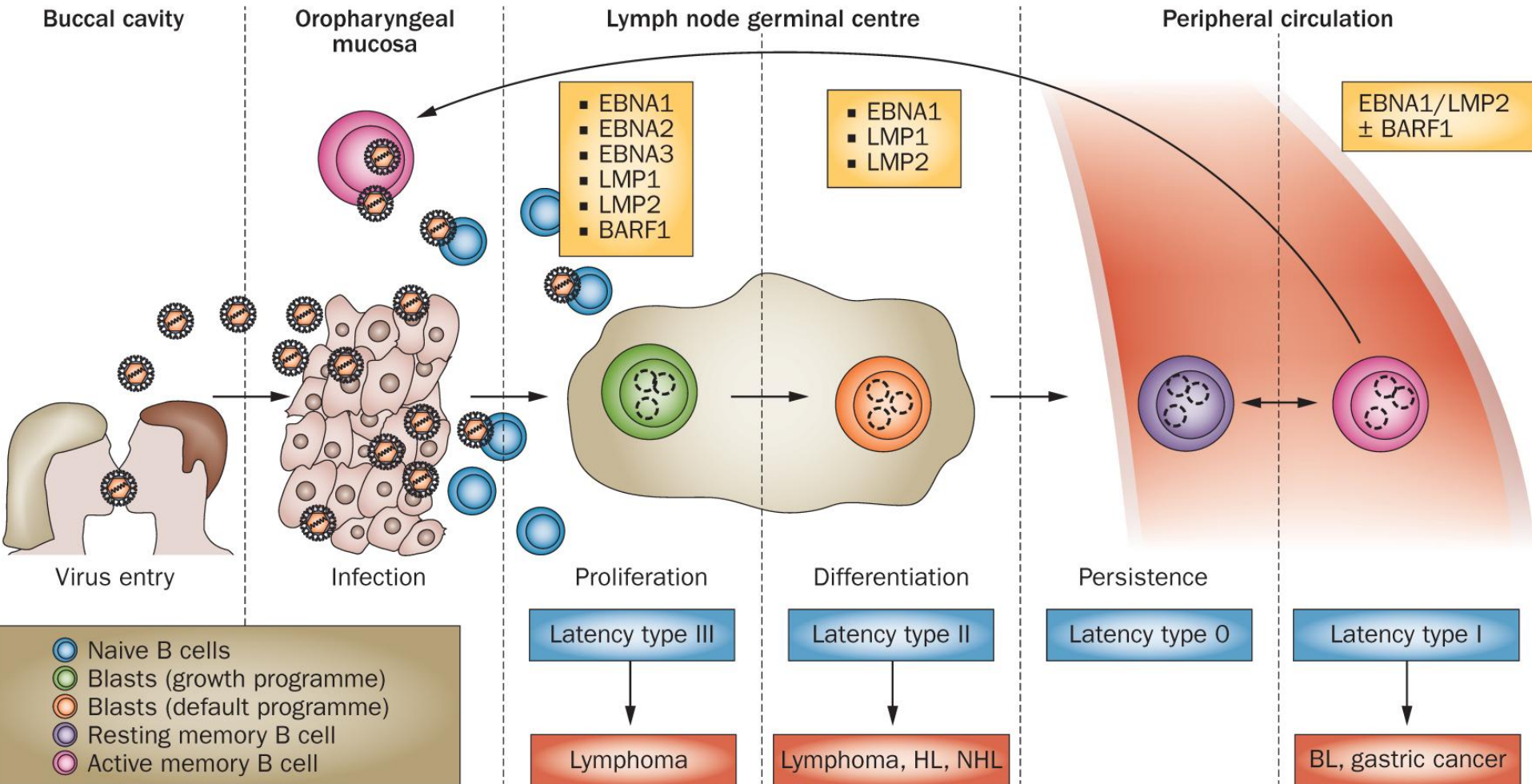


# LATENCIA

Reactivación

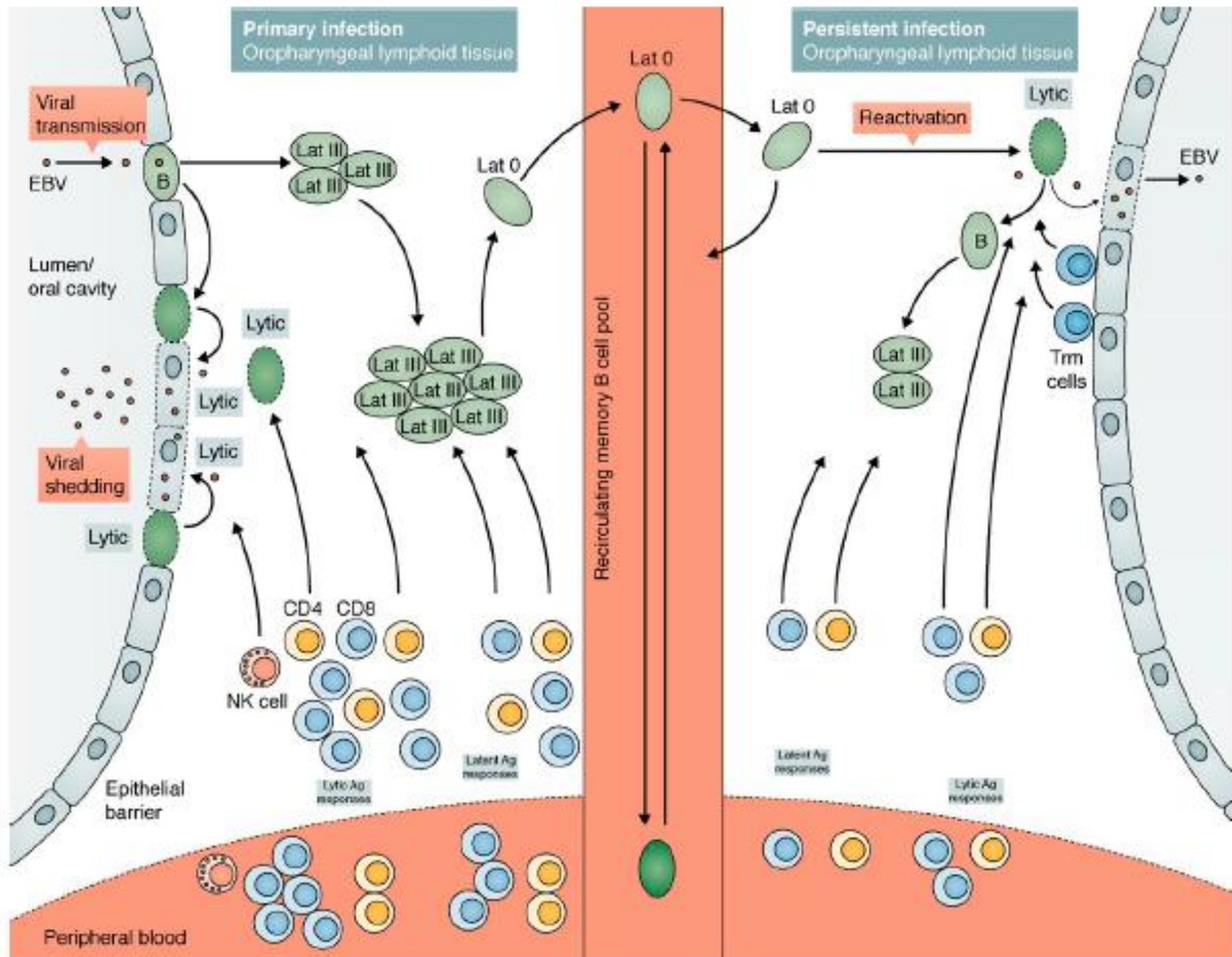


# Ciclo del EBV, latencia y linfoma (“modelo del Centro Germinal”)



**El virus utiliza la biología celular normal de los linfocitos B para su persistencia**





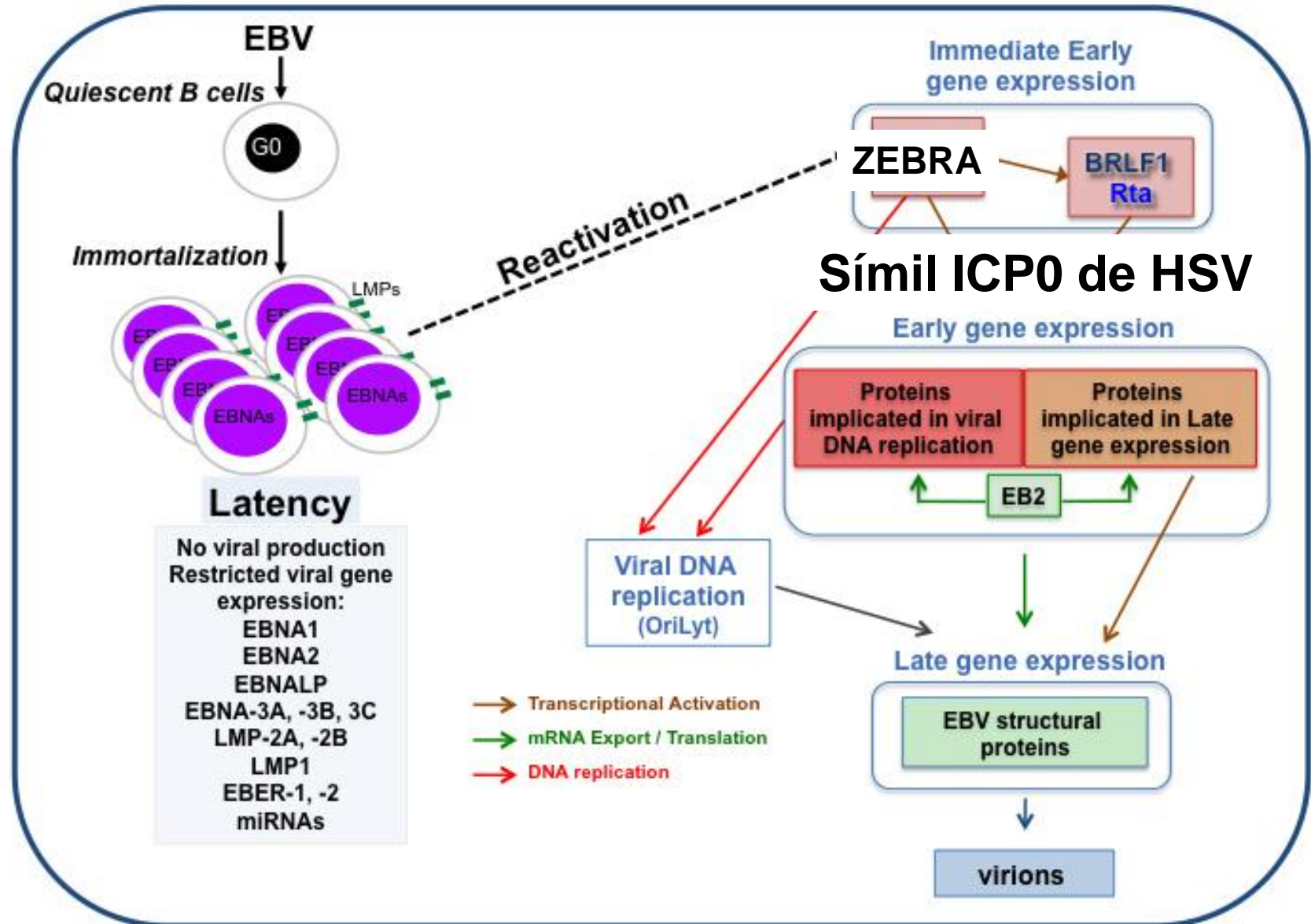
---

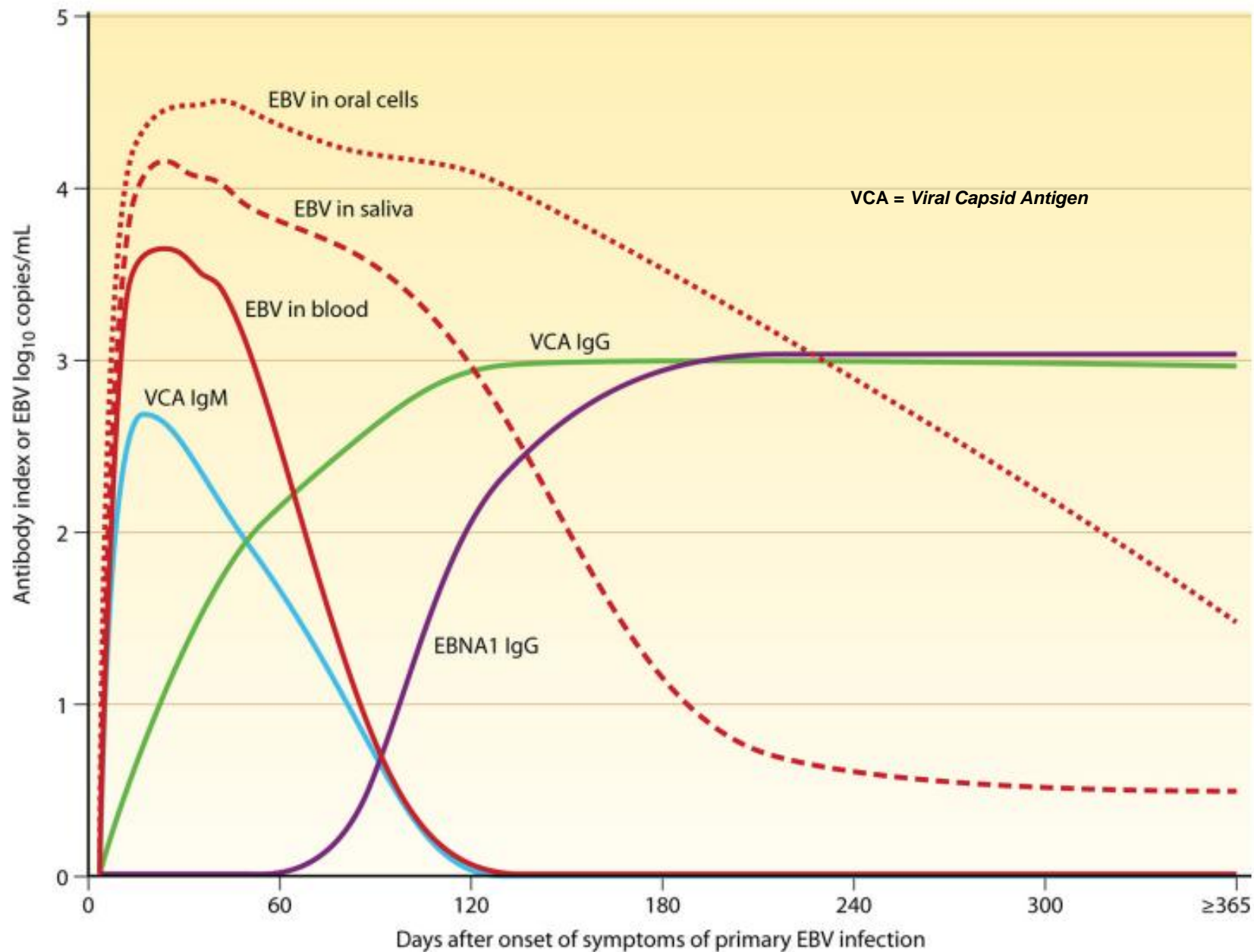
**TABLE 1.** EXPRESSION OF EBV LATENT GENES IN DISEASE. \*

PATTERN OF LATENCY	EBNA-1	EBNA-2	EBNA-3	LMP-1	LMP-2	EBER	DISEASE
Type 1	+	—	—	—	—	+	Burkitt's lymphoma
Type 2	+	—	—	+	+	+	Nasopharyngeal carcinoma, Hodgkin's disease, peripheral T-cell lymphoma
Type 3	+	+	+	+	+	+	Lymphoproliferative disease, X-linked lymphoproliferative disease, infec- tious mononucleosis
Other	±	—	—	—	+	+	Healthy carrier

\*EBV denotes Epstein-Barr virus, EBNA Epstein-Barr virus nuclear antigen, LMP latent membrane protein, and EBER Epstein-Barr virus-encoded RNA. A plus sign indicates that the gene is expressed in the disease, a minus sign that it is not expressed, and the two together that the gene may or may not be expressed.

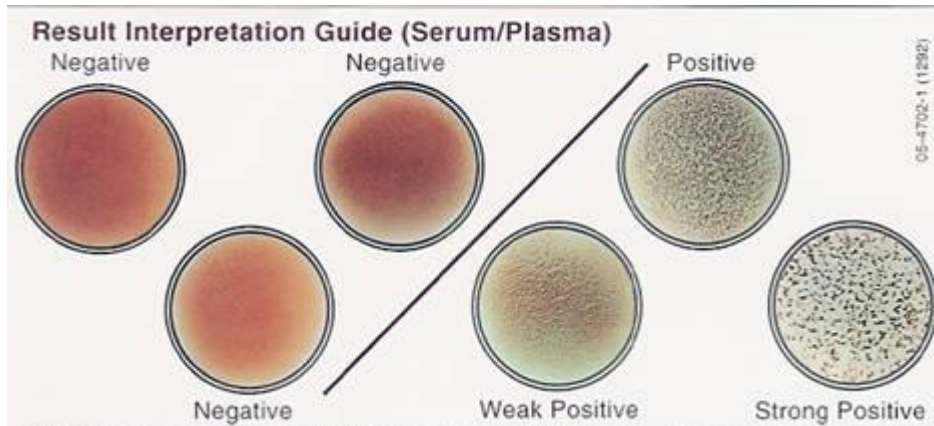
# EBV life cycle



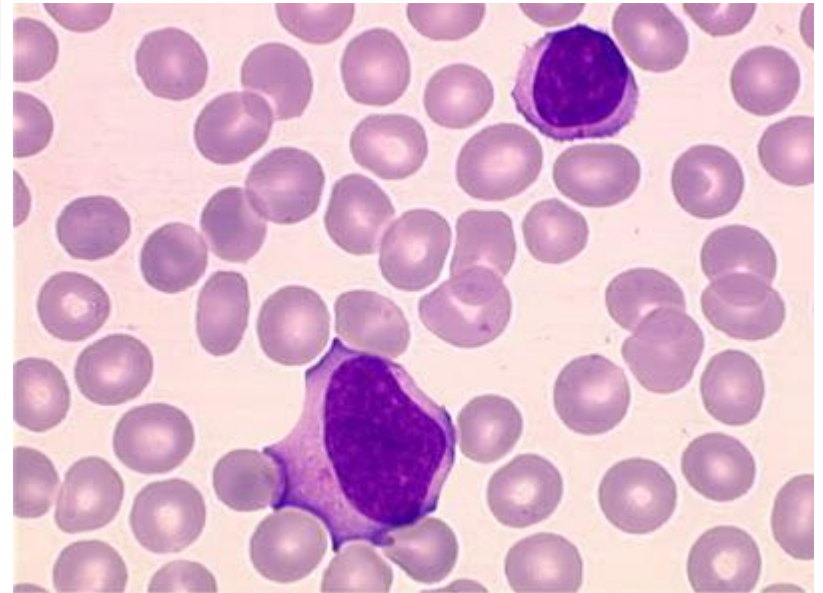




# Anticuerpos heterófilos



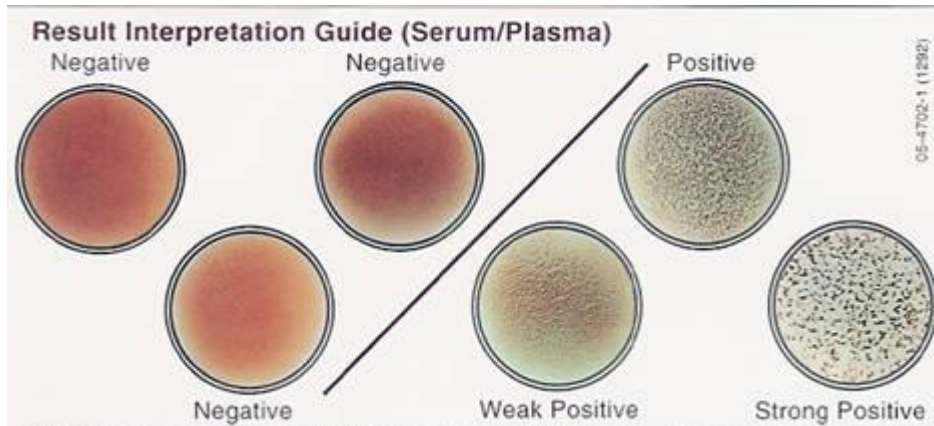
Prueba de Paul-Bunnell, o Monotest



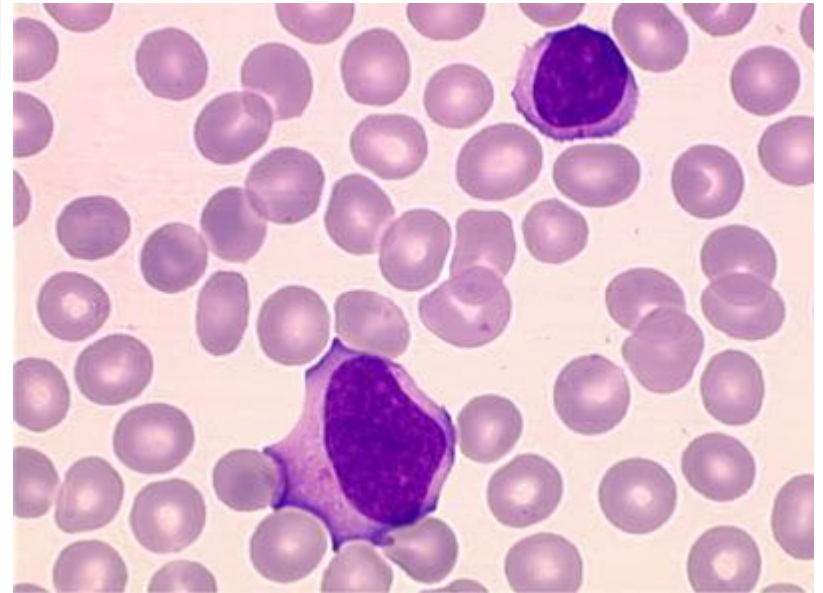
Linfocitos atípicos



# Anticuerpos heterófilos

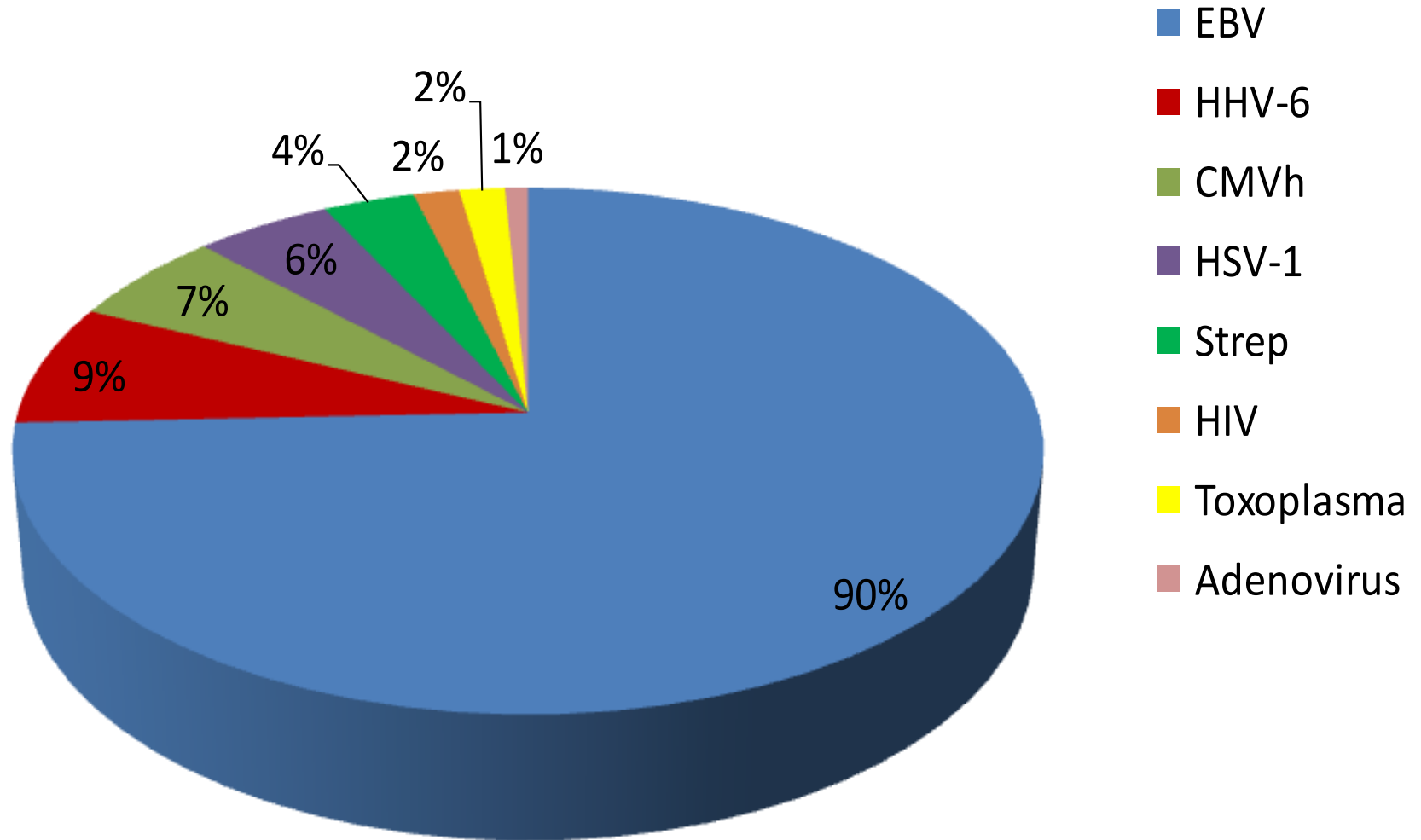


Prueba de Paul-Bunnell, o Monotest



Linfocitos T CD8+ activados

## % de casos con síndrome mononucleosiforme en las infecciones por...



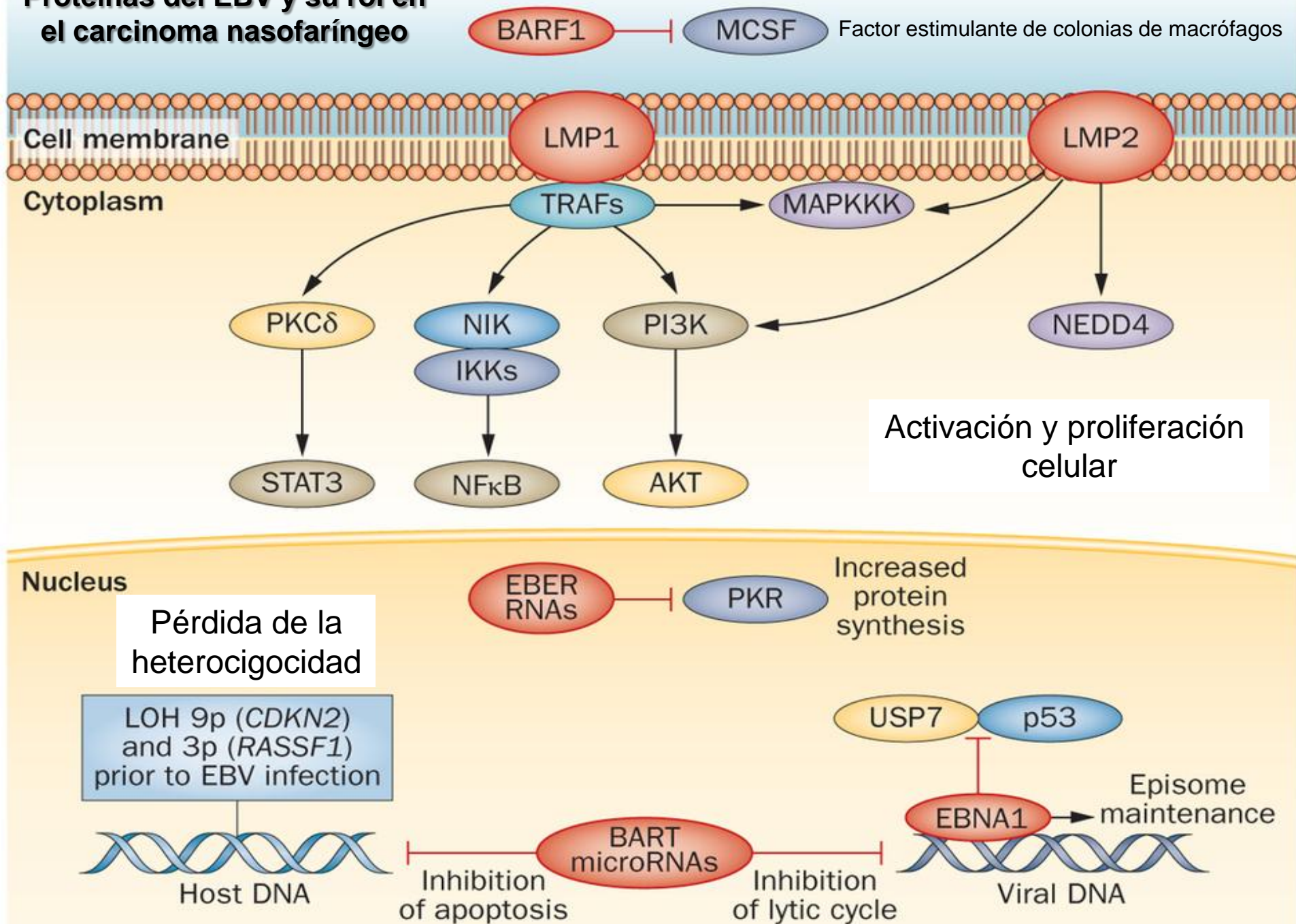
Enfermedad en la que EBV es el agente etiológico	Enfermedad en la que EBV está significativamente asociado	Enfermedad en la que la asociación con EBV es controversial o ha sido desacreditada
Mononucleosis infecciosa	Linfoma de Burkitt	Fatiga crónica
Enfermedad linfoproliferativa ligada a X	Linfoma de Hodgkin	Tumor mamario
	Carcinoma nasofaríngeo	Lupus eritematoso sistémico
	Linfoma nasal de células NKT	Artritis reumatoidea
	Linfoma de células B en pacientes inmunosuprimidos	Esclerosis múltiple
	Leiomiomasarcoma en pacientes inmunosuprimidos	

**TABLE 1.** EXPRESSION OF EBV LATENT GENES IN DISEASE. \*

PATTERN OF LATENCY	EBNA-1	EBNA-2	EBNA-3	LMP-1	LMP-2	EBER	DISEASE
Type 1	+	—	—	—	—	+	Burkitt's lymphoma
Type 2	+	—	—	+	+	+	Nasopharyngeal carcinoma, Hodgkin's disease, peripheral T-cell lymphoma
Type 3	+	+	+	+	+	+	Lymphoproliferative disease, X-linked lymphoproliferative disease, infec- tious mononucleosis
Other	±	—	—	—	+	+	Healthy carrier

\*EBV denotes Epstein–Barr virus, EBNA Epstein–Barr virus nuclear antigen, LMP latent membrane protein, and EBER Epstein–Barr virus–encoded RNA. A plus sign indicates that the gene is expressed in the disease, a minus sign that it is not expressed, and the two together that the gene may or may not be expressed.

# Proteínas del EBV y su rol en el carcinoma nasofaríngeo



A

Mantenimiento del  
DNA viral como  
episoma

EBNA-1

Proliferación B

↑de la expresión de  
proteínas virales

LMP-1

EBNA-2

EBNA-3

LMP-2

Prevención de la  
reactivación de  
la latencia

B

Apoptosis

Aumento de la  
expresión de Bcl-2

BHRF1

LMP-1

Inhibición del crecimiento de  
células transformadas

Interferón

$\alpha$

$\gamma$

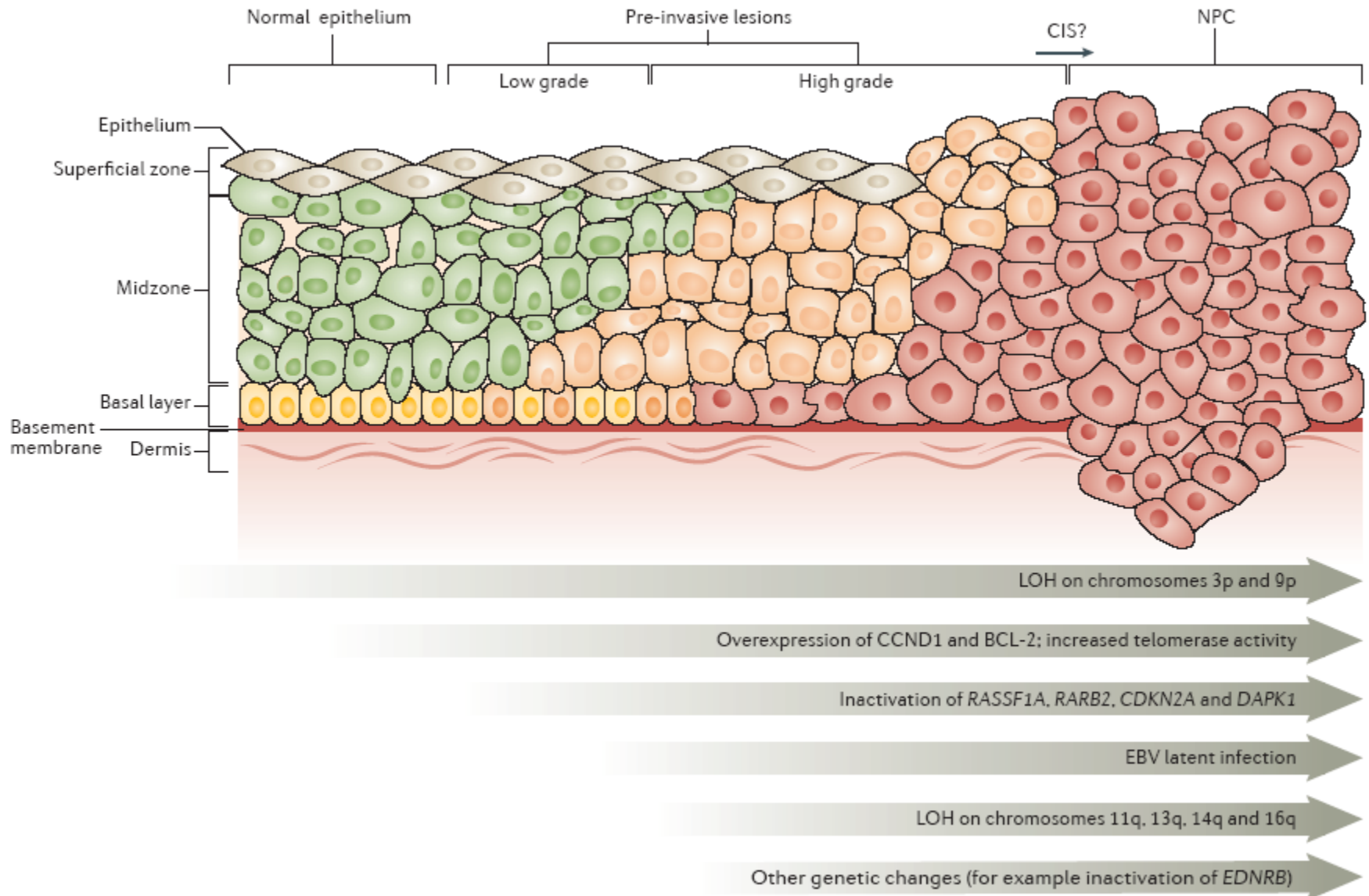
BARF1

BCRF1

**vIL-10**  
viroquina



# Carcinoma Nasofaríngeo a partir de una expansión monoclonal de células infectadas por EBV

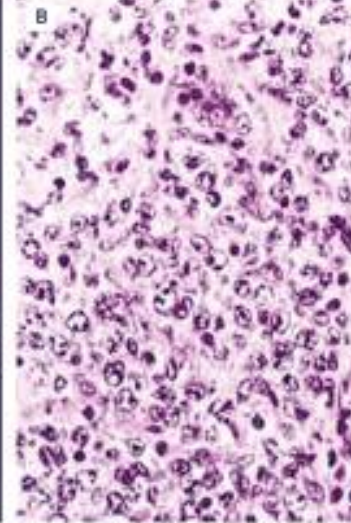


# *Enfermedad linfoproliferativa en una paciente infectada con EBV*

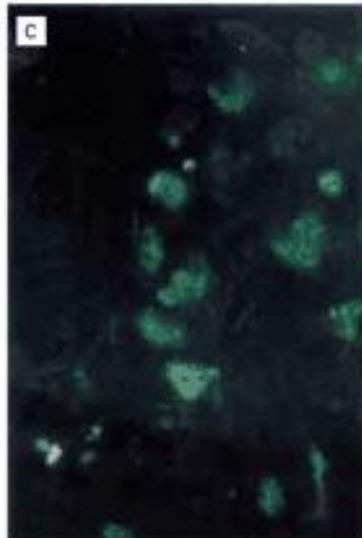
Múltiples  
nódulos en  
cerebro



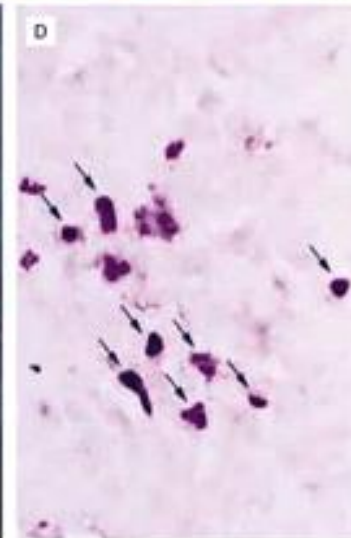
Linfoma inmunoblástico  
en tejido perirrenal



Detección de Ag  
EBNA-2  
(IF)



Detección de  
EBER  
(*Epstein Barr  
encoded RNA*)



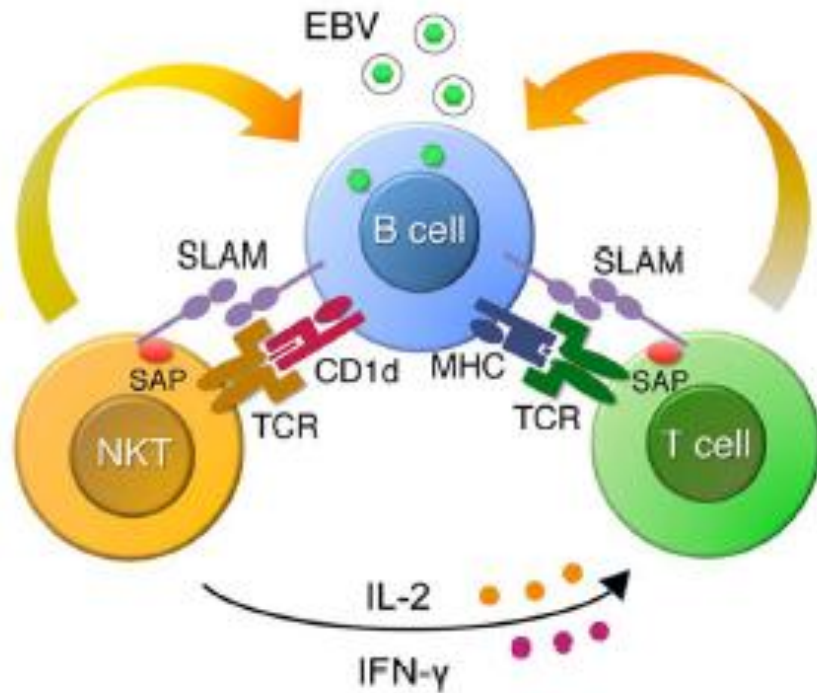


## Síndrome linfoproliferativo ligado al cromosoma X (síndrome de Duncan)

### Control

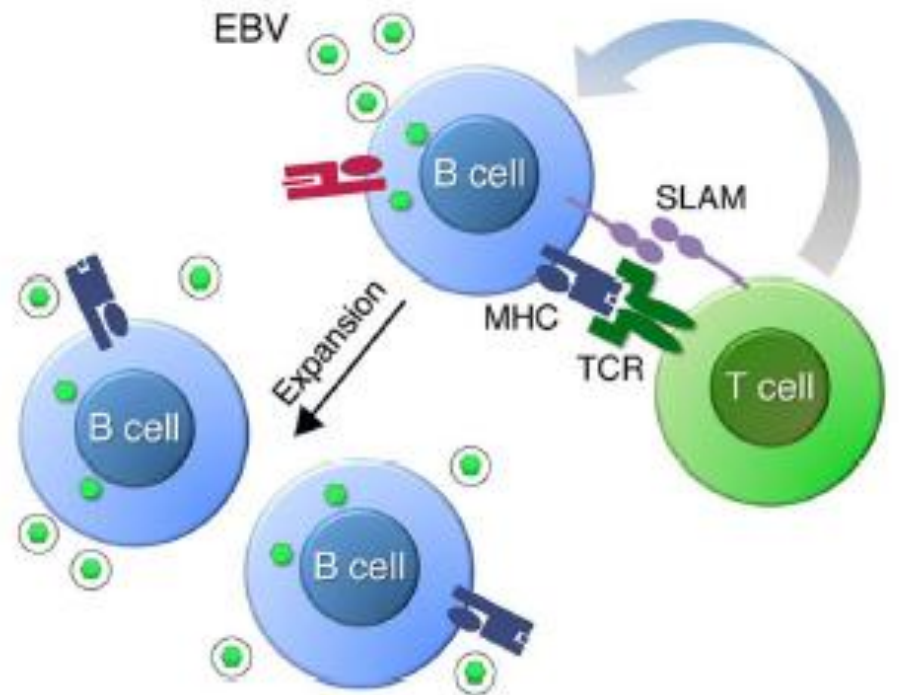
NKT cell cytotoxicity  
NKT cell help

↑ T cell proliferation  
↑ T cell cytotoxicity



### XLP

↓ T cell proliferation  
↓ T cell cytotoxicity



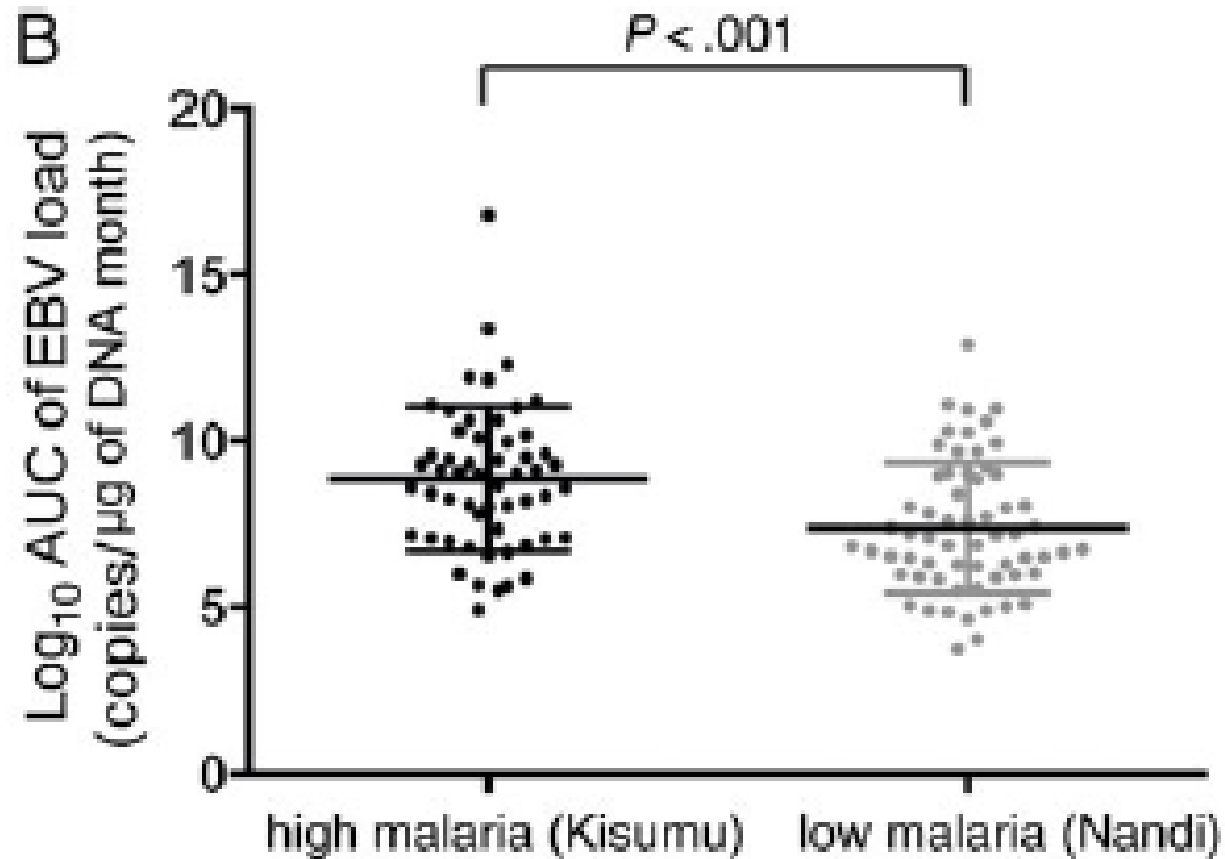
# Linfoma de Burkitt endémico...

AFRICAN LYMPHOMA BELT



... una asociación entre *Plasmodium falciparum* y EBV ?

( ¿Burkitt tenía razón?)

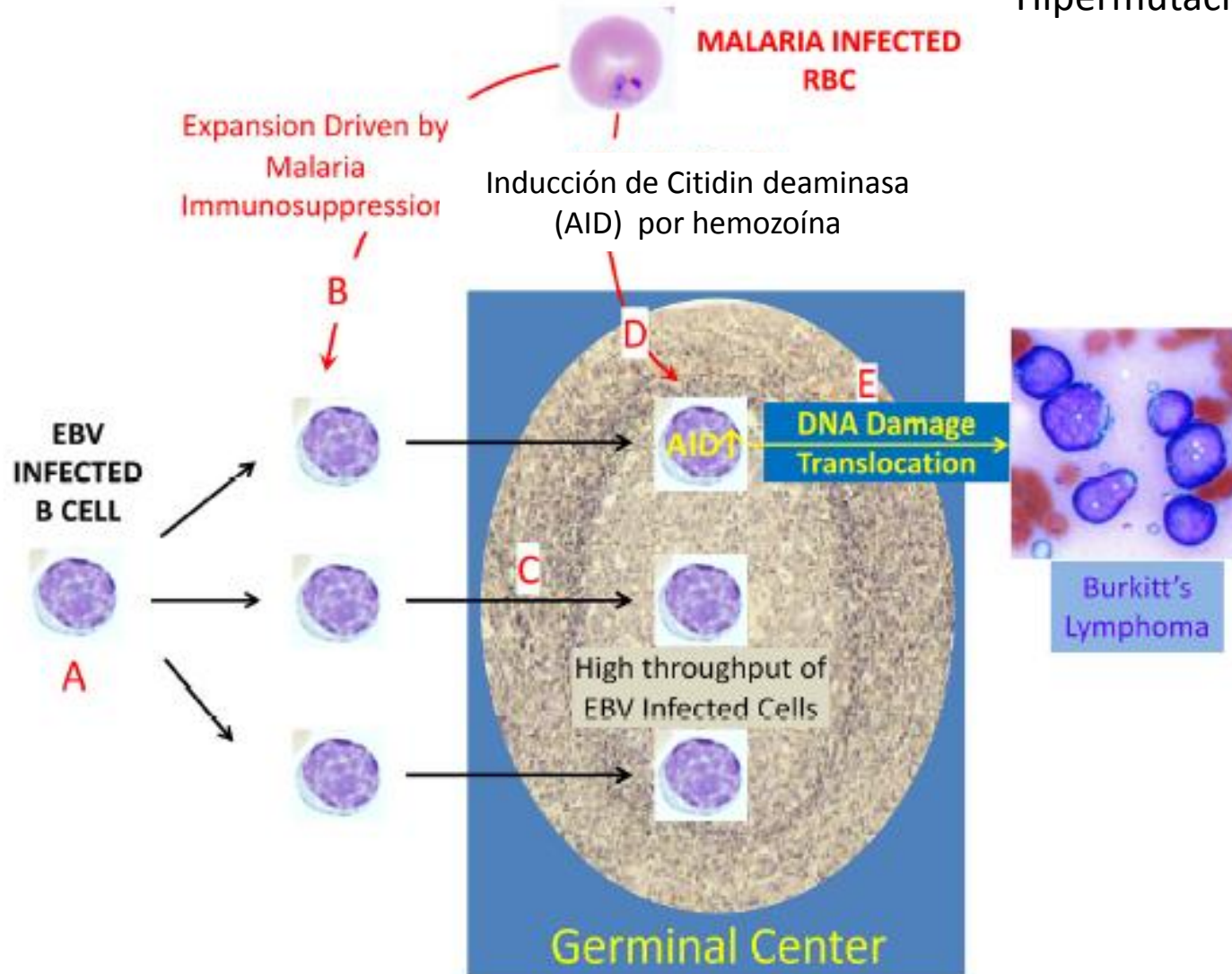


## AID - Citidin deaminasa

Switch isotópico.

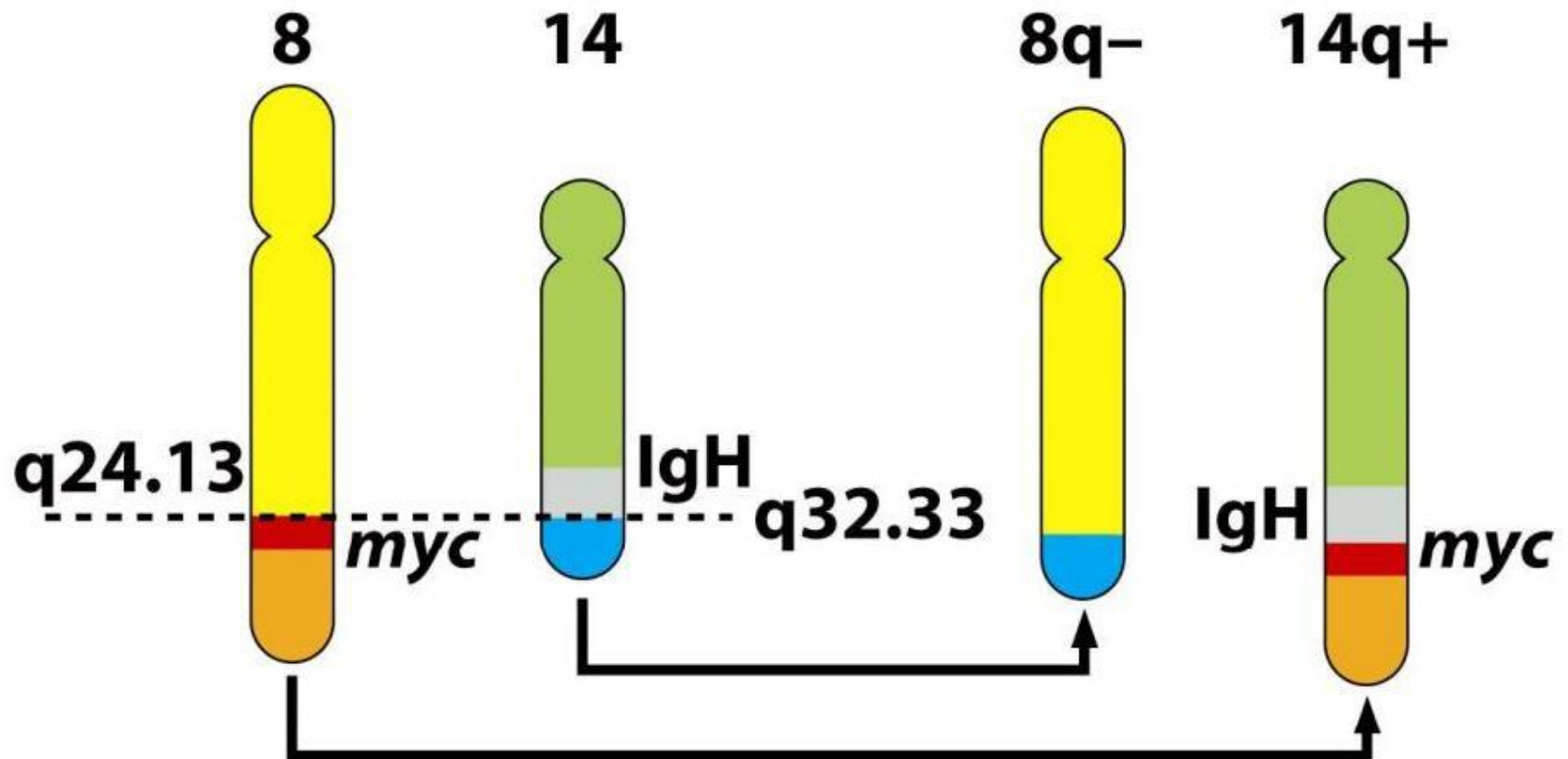
Hipermutación somática

### Malaria crónica



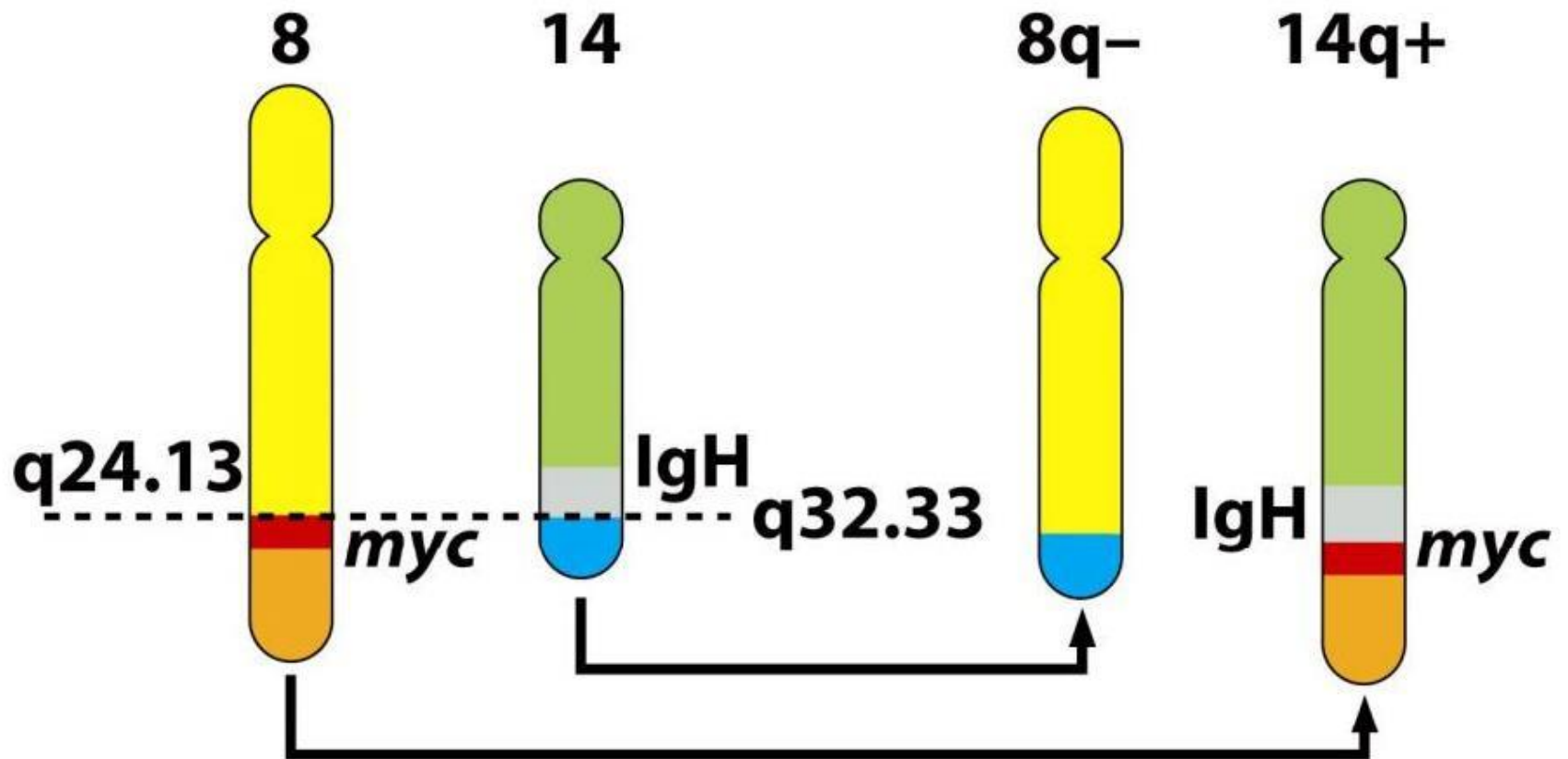
# Translocación mediada por AID

## normal chromosomes



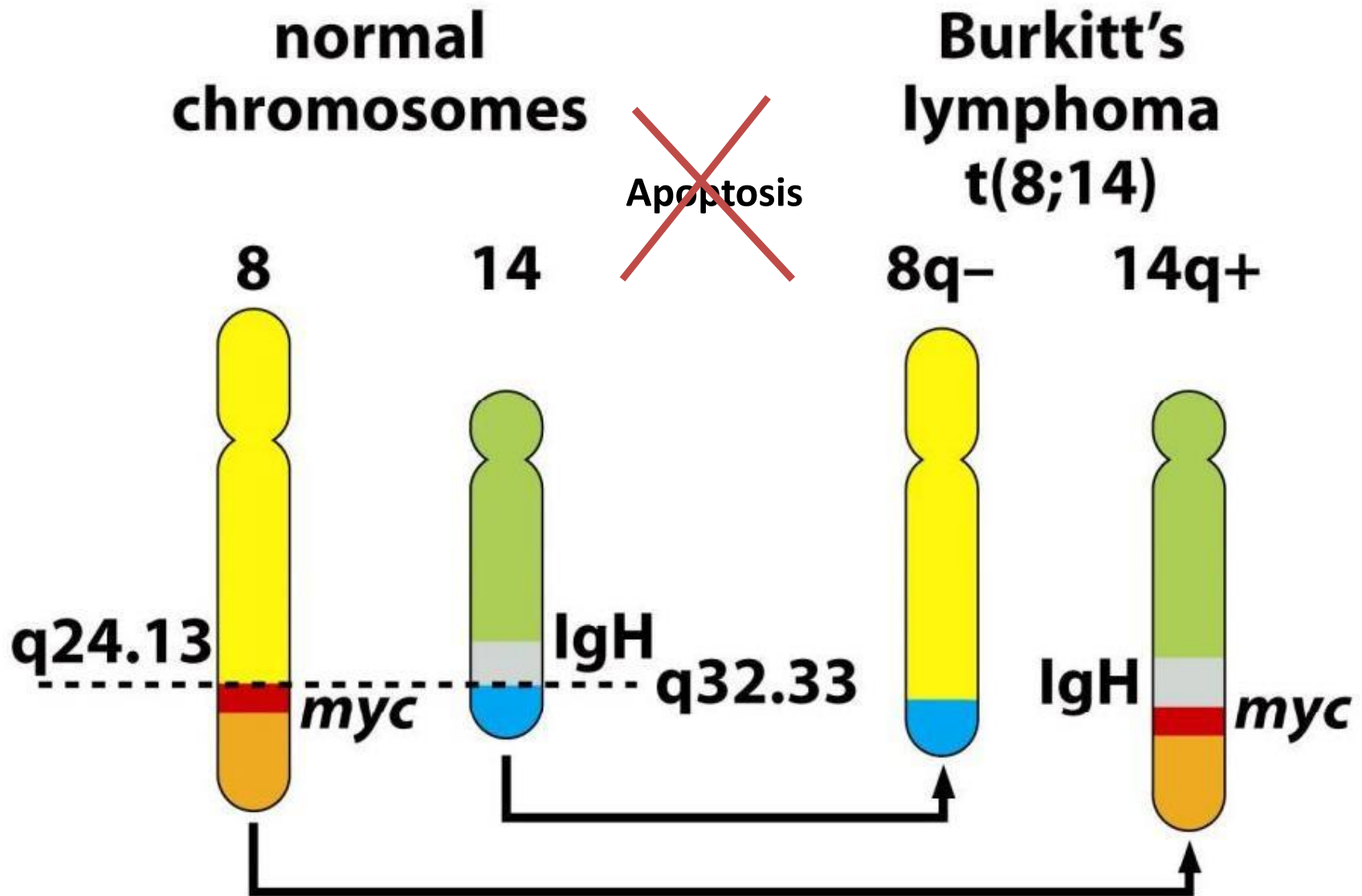
Translocación mediada por AID

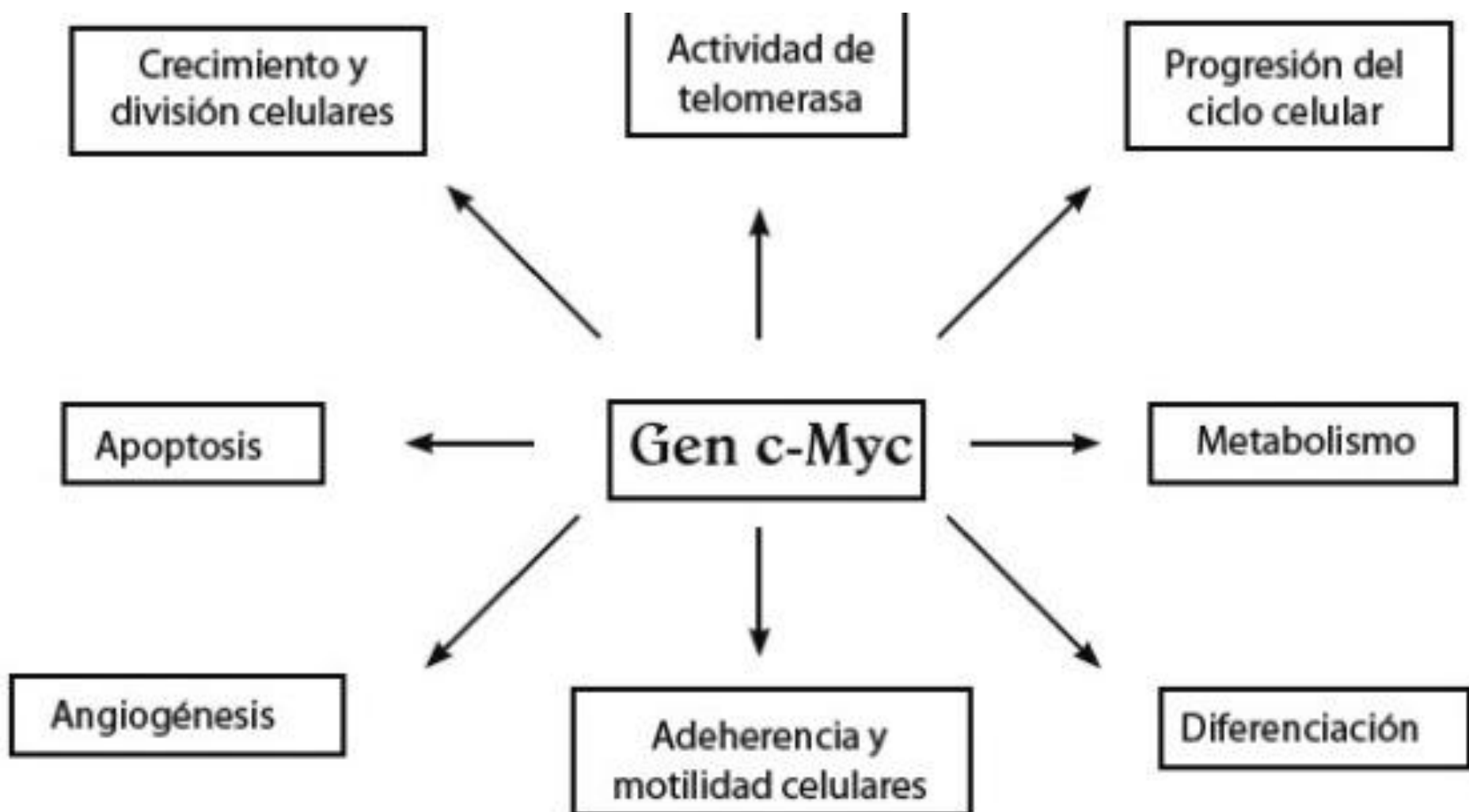
# Apoptosis!!!!





# Translocación mediada por AID





**Figura 1. Diagrama que representa las diversas funciones celulares en las que participa el gen c-Myc**



# Virus herpes humano 8

HHV 8 - 1994

Familia: *Herpesviridae*

Subfamilia: *Gammaherpesvirinae*

Género: *Rhadinovirus*

Sarcoma de Kaposi



Moritz Kaposi  
1837 -1902

# Sarcoma de Kaposi

Lesiones en la piel, ganglios linfáticos, mucosas oral y nasofaríngea, y otros tejidos que presentan un color púrpura y están compuestas de células transformadas, endotelios vasculares y células sanguíneas

## Formas de presentación

- **Clásica.** Fue la primera en ser descrita. Afecta sobre todo a hombres (de 5 a 15 veces más que a las mujeres) de más de 60 años. Se conoce de las regiones orientales del Mediterráneo, sobre todo las penínsulas Itálica y Balcánica y las islas griegas.
- **Endémica.** En África Central y Oriental. Afecta a los hombres de 10 a 15 veces más a menudo que a las mujeres.
- **Postrasplante.** Empezó a observarse en los años 1970 en pacientes de trasplante, sobre todo de riñón, sometidos a tratamientos inmunosupresores, como los que se siguen para evitar el rechazo.
- **Asociada al HIV.** Fue precisamente la concurrencia, en un breve período de tiempo, de un número inusitado de casos entre varones homosexuales de California, la que alertó de la emergencia del SIDA a principios de los años 80.

# The New York Times

By LAWRENCE K. ALTMAN  
PUBLISHED: JULY 3, 1981

## RARE CANCER SEEN IN 41 HOMOSEXUALS

Outbreak Occurs Among Men  
in New York and California  
—8 Died Inside 2 Years

By LAWRENCE K. ALTMAN

Doctors in New York and California have diagnosed among homosexual men 41 cases of a rare and often rapidly fatal form of cancer. Eight of the victims died less than 24 months after the diagnosis was made.

The cause of the outbreak is unknown, and there is as yet no evidence of contagion. But the doctors who have made the

WORLD

U.S.

N.Y. / REGION

BUSINESS

TECHNOLOGY

SCIENCE

HEALTH

SPORTS

OPINION

ENVIRONMENT SPACE &amp; COSMOS

# NEW HOMOSEXUAL DISORDER WORRIES HEALTH OFFICIALS

By LAWRENCE K. ALTMAN

Published: May 11, 1982

A SERIOUS disorder of the immune system that has been known to doctors for less than a year - a disorder that appears to affect primarily male homosexuals - has now afflicted at least 335 people, of whom it has killed 136, officials of the Centers for Disease Control in Atlanta said yesterday. Federal health officials are concerned that tens of thousands more homosexual men may be silently affected and therefore vulnerable to potentially grave ailments.

Moreover, this immune-system breakdown, which has been implicated in a rare type of cancer, called Kaposi's sarcoma, and seems to invite in its wake a wide variety of serious infections and other disorders, has developed among some heterosexual women and bisexual and heterosexual men.

At a recent Congressional hearing, Dr. Bruce A. Chabner of the National Cancer Institute said that the growing problem was now "of concern to all Americans."



FACEBOOK



TWITTER



GOOGLE+



E-MAIL



SHARE

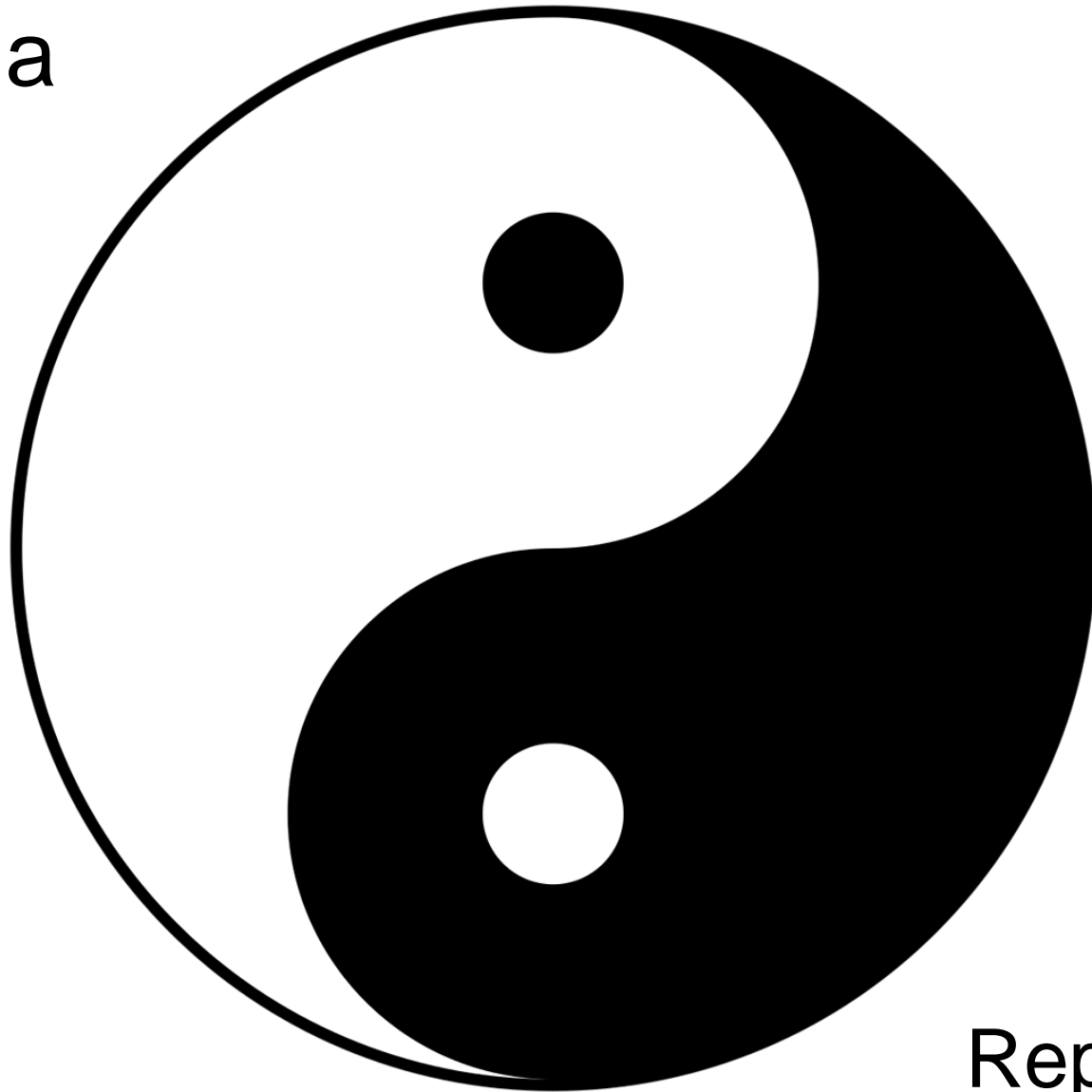


PRINT



REPRINTS

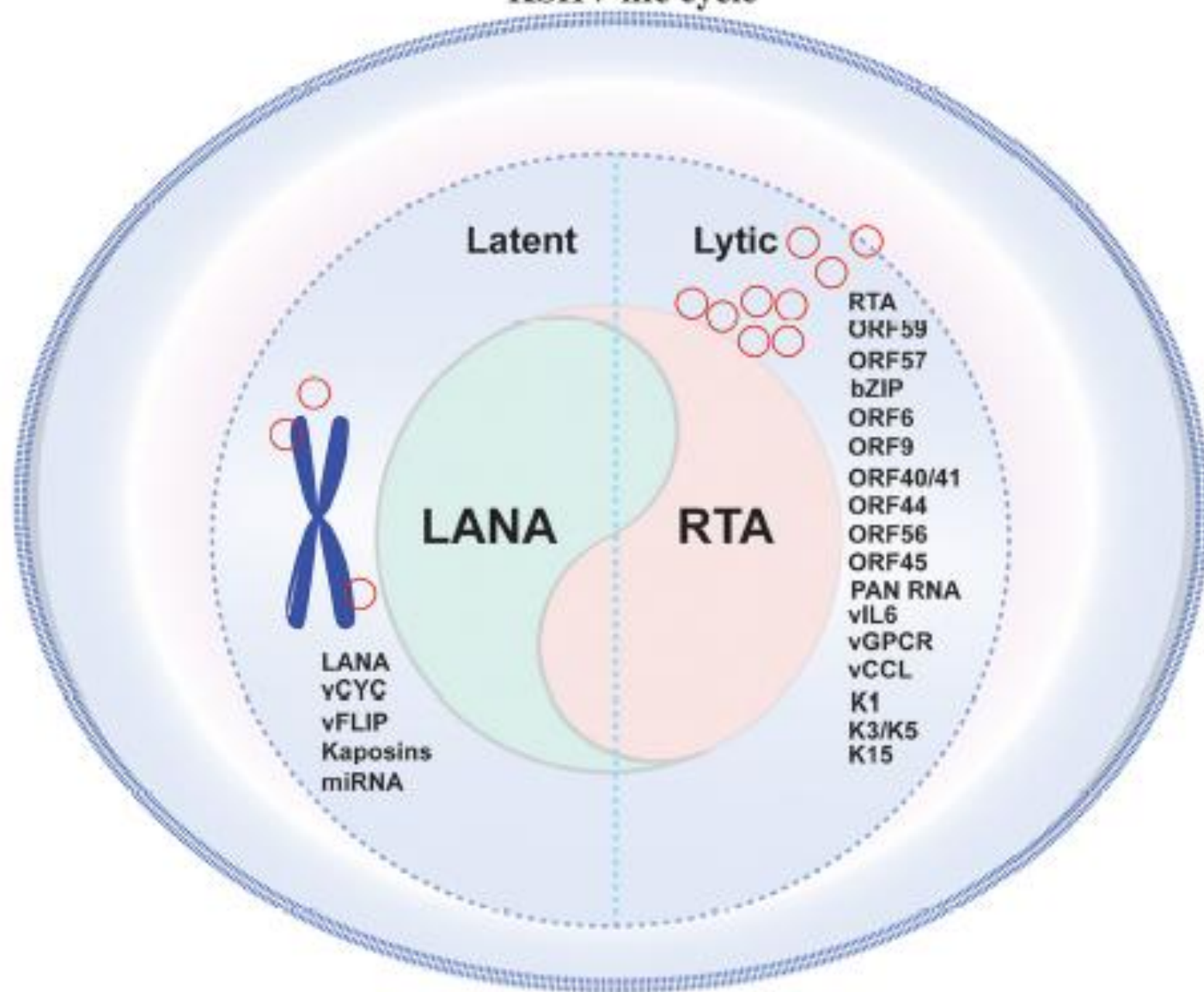
Latencia



Replicación



# KSHV life cycle



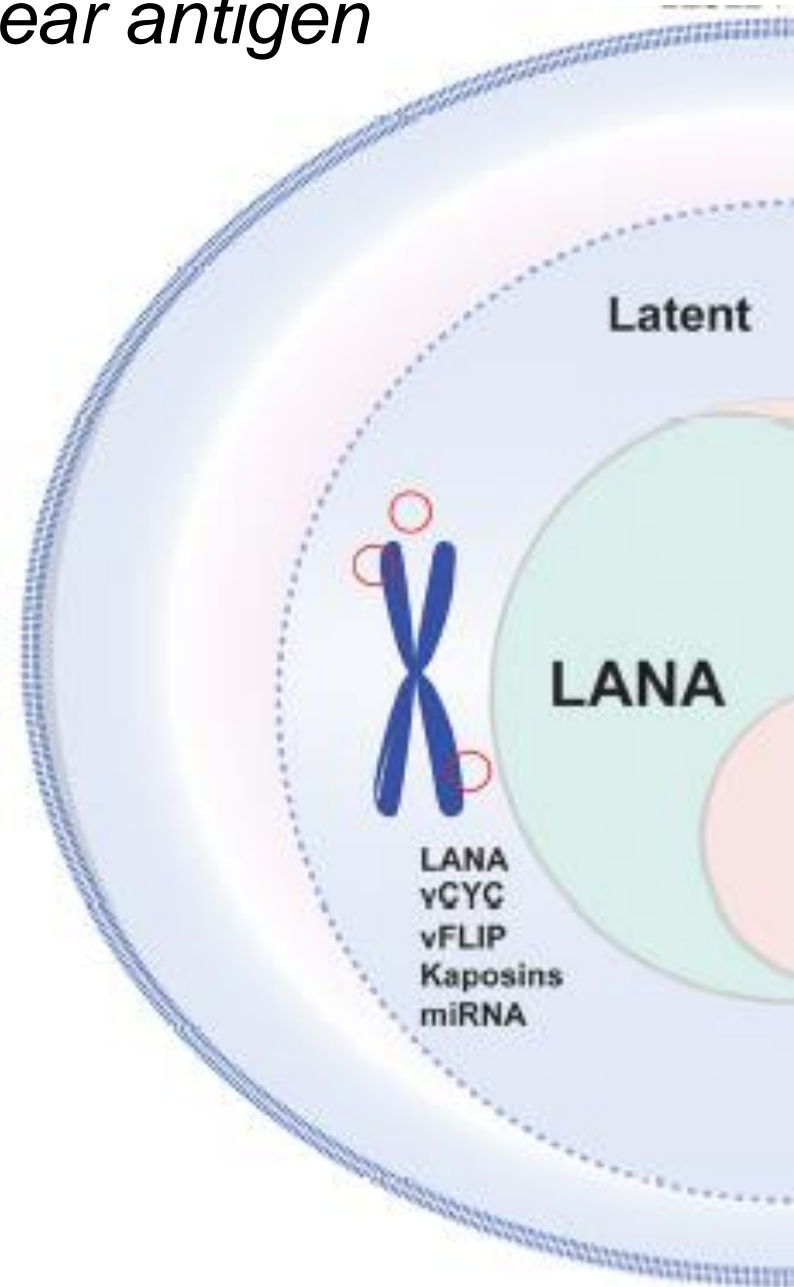
# **LANA:** *Latency-associated nuclear antigen*

**vCYC:** *Viral ciclin*

**vFLIP:** *Viral Fast associated protein*

**K12/Kaposinas**

**miRNAs**





# LANA:

- *Facilita la replicación episomal del genoma viral durante la mitosis.*
- *Interfiere con la replicación viral suprimiendo varias vías de señalización celular.*

**vCYC:** *Homólogo a ciclina D*

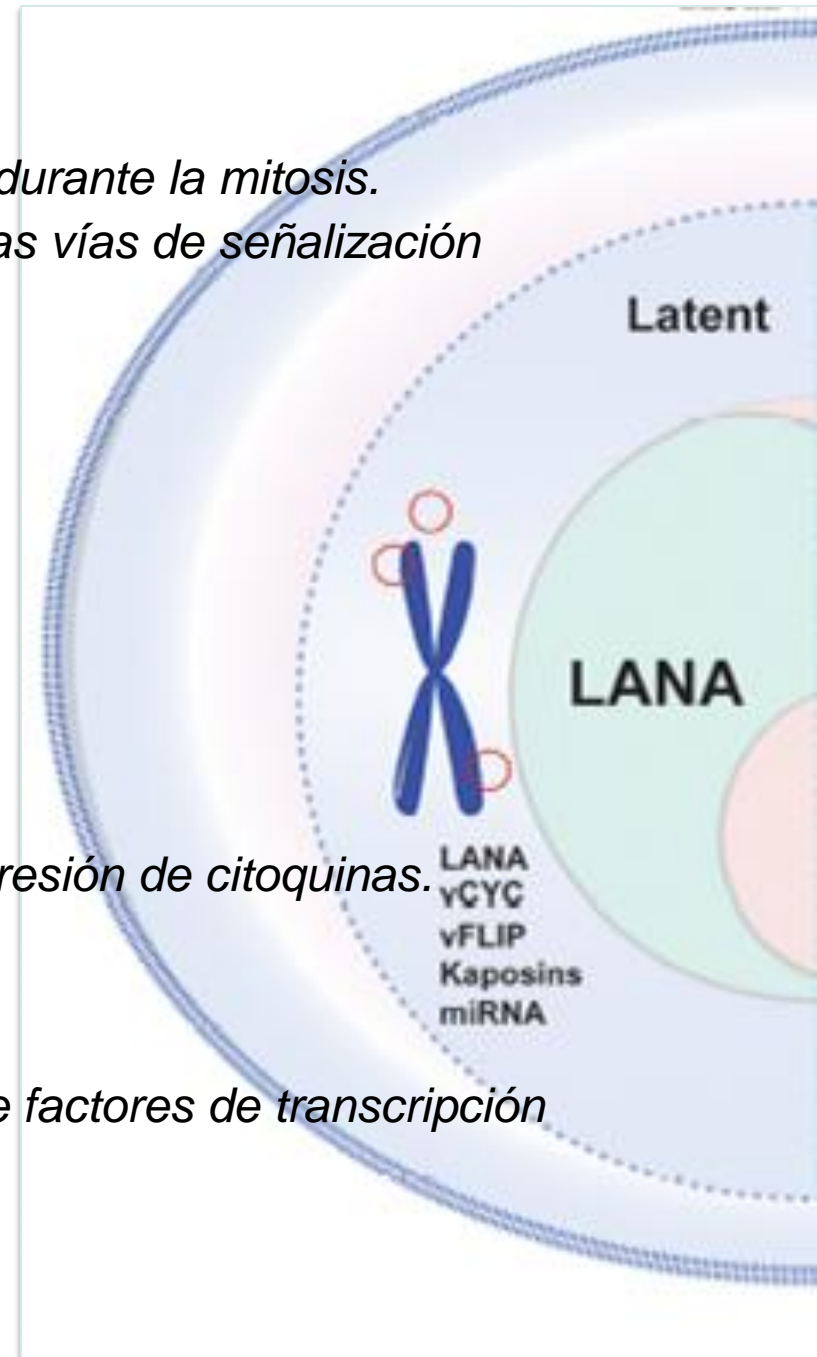
- *Promueve la proliferación celular.*

**vFLIP:** *Viral Fast associated inhibitor-protein*

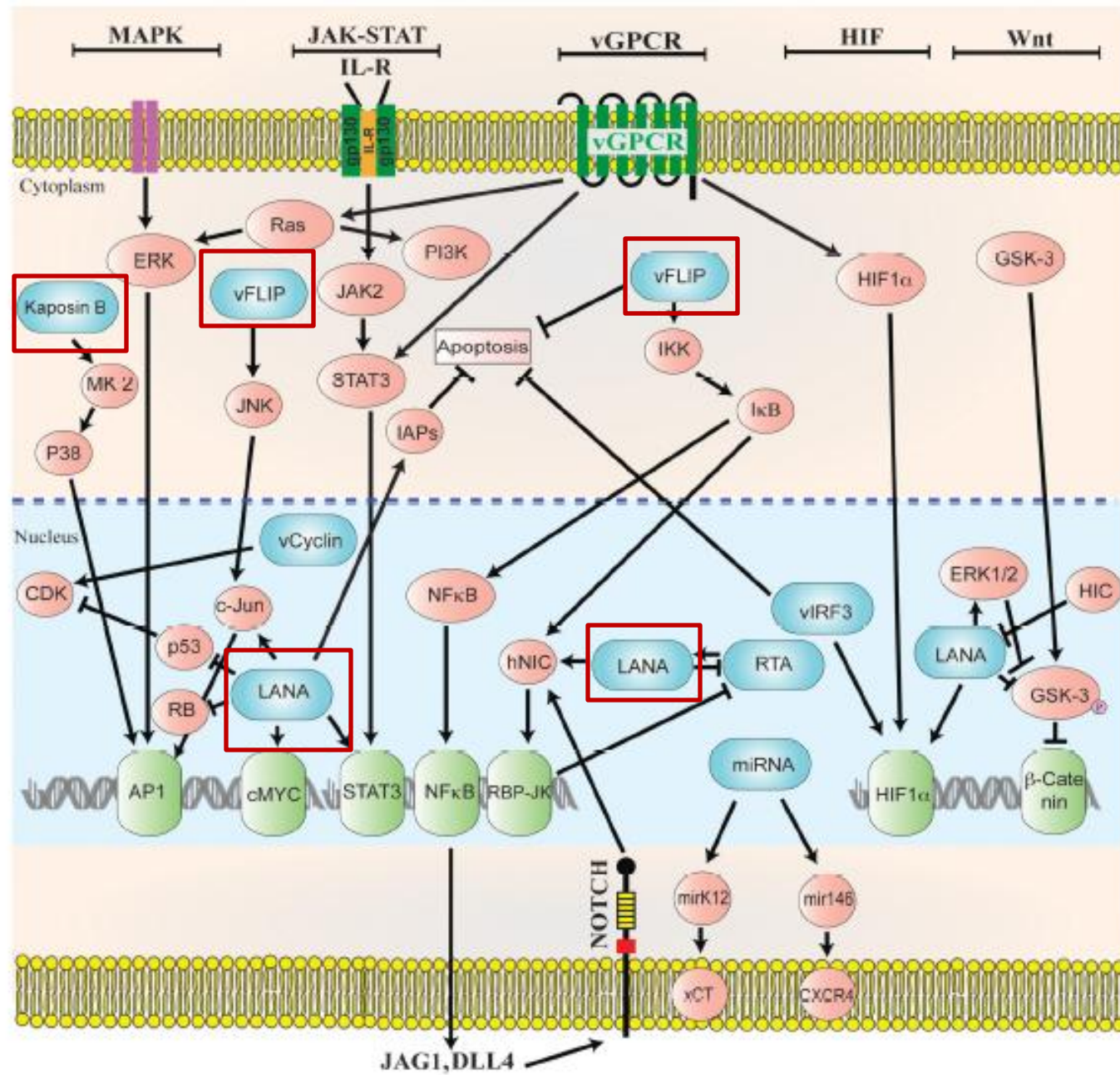
- *Regulador de la apoptosis*

**K12/Kaposinas:** *Promueven incremento de la expresión de citoquinas.*

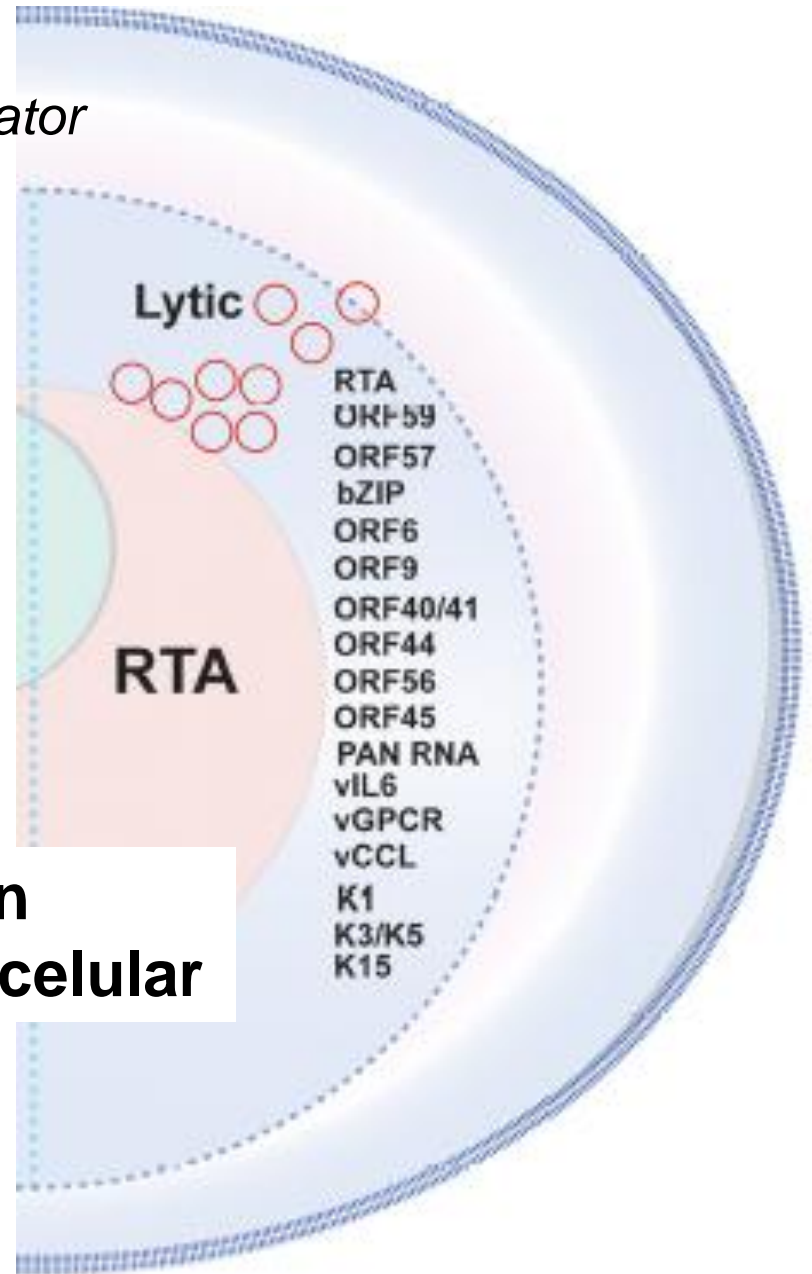
**miRNAs:** *18 miRNAs que reprimen la expresión de factores de transcripción celular y viral.*



## Mantenimiento de la latencia



**RTA:** *Replication and transcription activator*

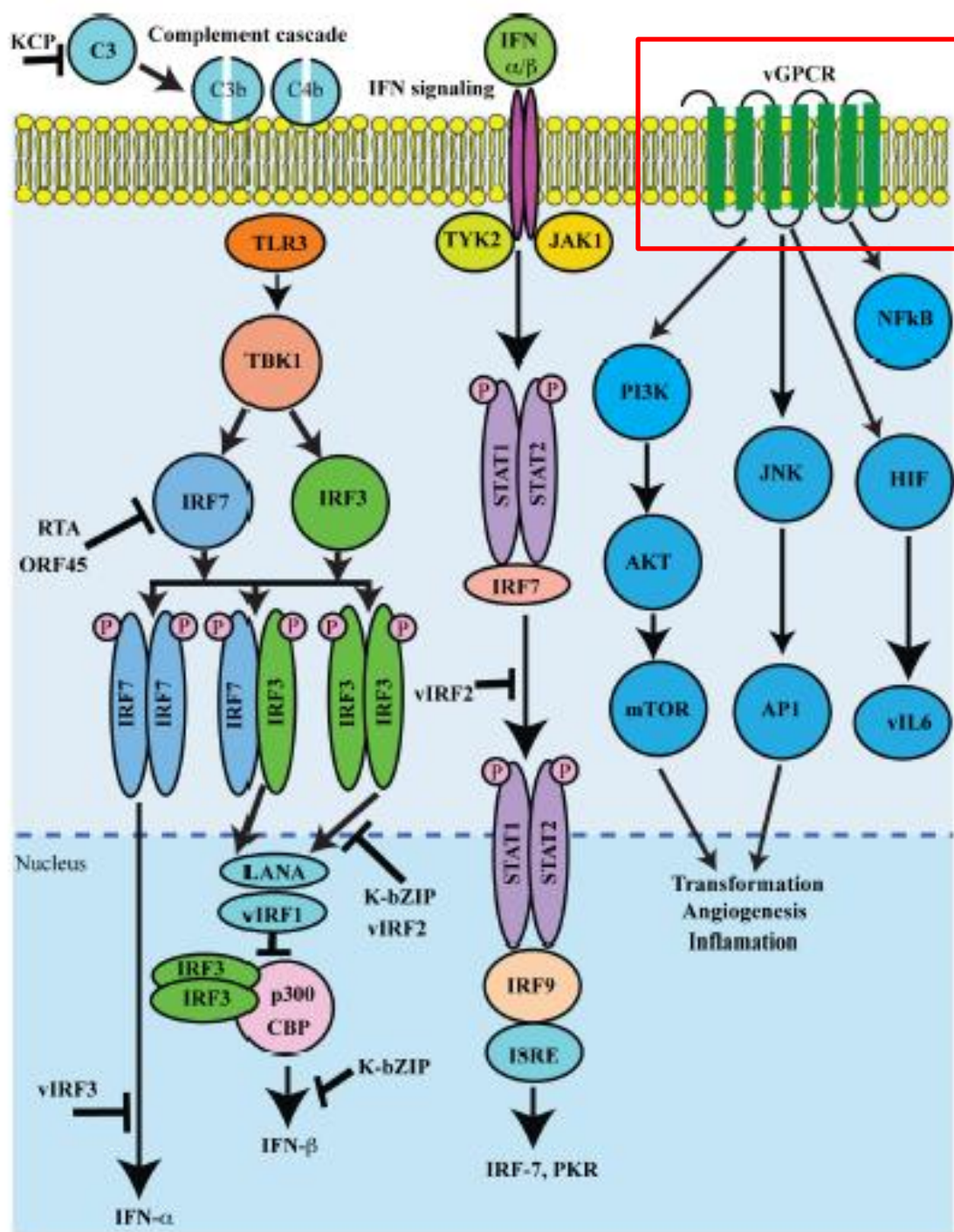


**La reactivación de la replicación  
contribuye a la transformación celular**

## **Factores virales asociados a la modulación inmune y patogénesis en la activación de la replicación viral**

<b>vIL-6</b>	<b>Homólogo de IL-6. Activa JAK-STAT y regula proliferación de linfocitos B.</b>
<b>vMIR1/MIR2</b>	<b>Ubiquitina MHC-I, ICAM-I, Teterinas y DC-Sign</b>
<b>vCCLs</b>	<b>Homólogos de MIP 1, 2 y 3. Bloquea receptores de quimiocinas</b>
<b>vIAP</b>	<b>Inhibidor de la apoptosis vía caspasa 3/BCL2</b>
<b>vINF-1</b>	<b>Inhibe señalización vía receptores de INF, p53 y NFkB</b>
<b>KCP</b>	<b>Homólogo del RCA celular que regula la activación del complemento vía C3 convertasa</b>
<b>ORF64</b>	<b>Deubiquitinasa que suprime activación de RIG-1</b>
<b>PAN RNA</b>	<b>RNA nuclear poliadenilado que modula la expresión génica</b>





vIL-8R

# Familia *Retroviridae*

New name	Examples	Morphology
Alpharetrovirus	Avian leukosis virus (ALV) Rous sarcoma virus (RSV)	C-type
Betaretrovirus	Mouse mammary tumor virus (MMTV) Mason-Pfizer monkey virus (MPMV) Jaagsiekte sheep retrovirus (JSRV)	B-, D-type
Gammaretrovirus	Murine leukemia viruses (MuLV) Feline leukemia virus (FeLV) Gibbon ape leukemia virus (GaLV) Reticuloendotheliosis virus (REV)	C-type
Deltaretrovirus	Human T-lymphotropic virus (HTLV)-1, -2, 3, 4	—
Epsilonretrovirus	Bovine leukemia virus (BLV) Simian T-lymphotropic virus (STLV)-1, -2, -3 Walleye dermal sarcoma virus Walleye epidermal hyperplasia virus 1	—
Lentivirus	Human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) HIV-2 Simian immunodeficiency virus (SIV) Equine infectious anemia virus (EIAV) Feline immunodeficiency virus (FIV) Caprine arthritis encephalitis virus (CAEV) Visna/maedi virus	Rod/cone core
Spumavirus	Human foamy virus (HFV)	Immature



# HTLV-I

La mayor parte de los infectados son asintomáticos.

5 – 8% tienen riesgo de desarrollar alguna enfermedad asociada luego de muchos años.

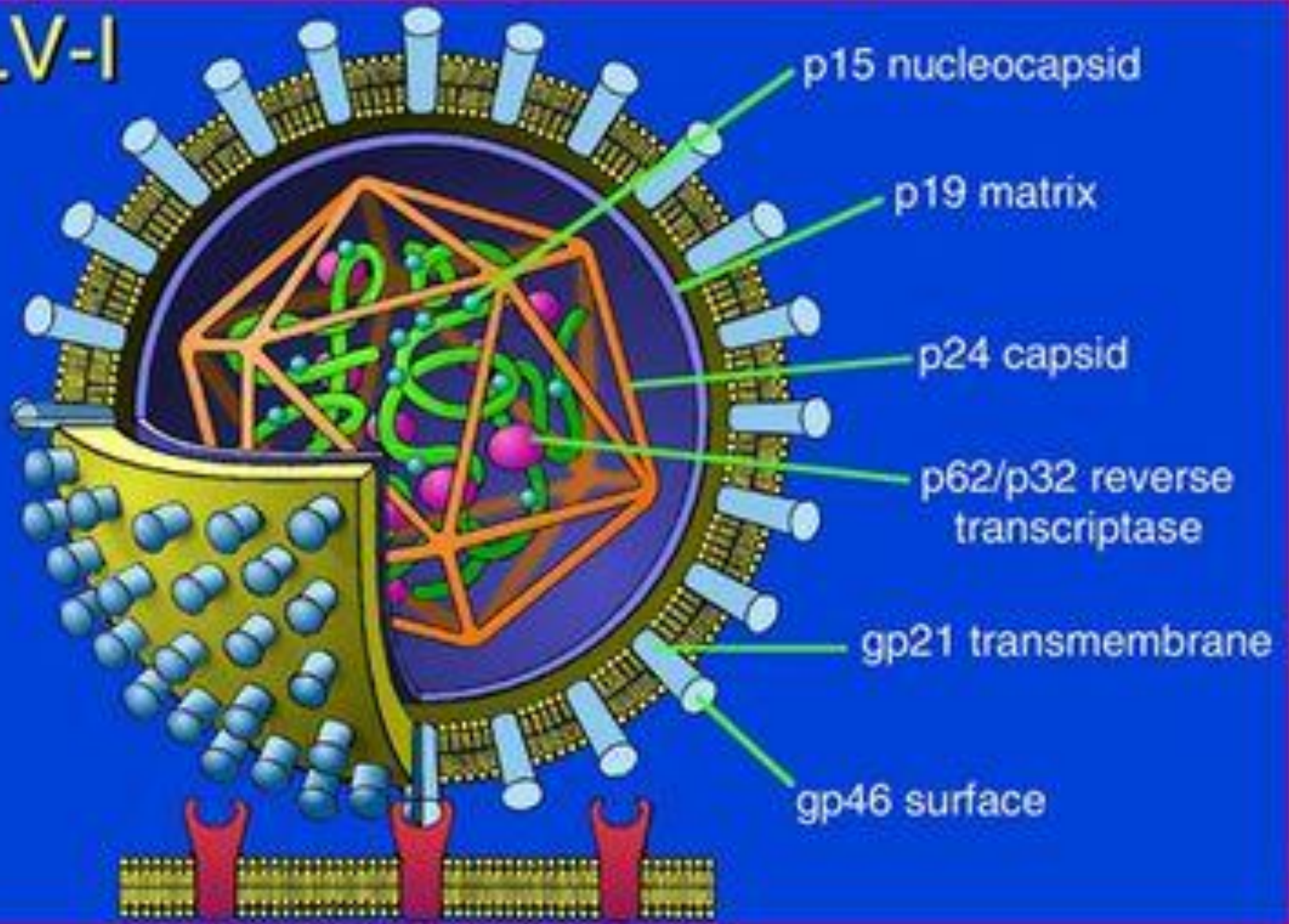
- **Leucemia T del Adulto:**

- Enfermedad linfoproliferativa
- Transformación clonal de LT CD4+

- **Síndromes inflamatorios:**

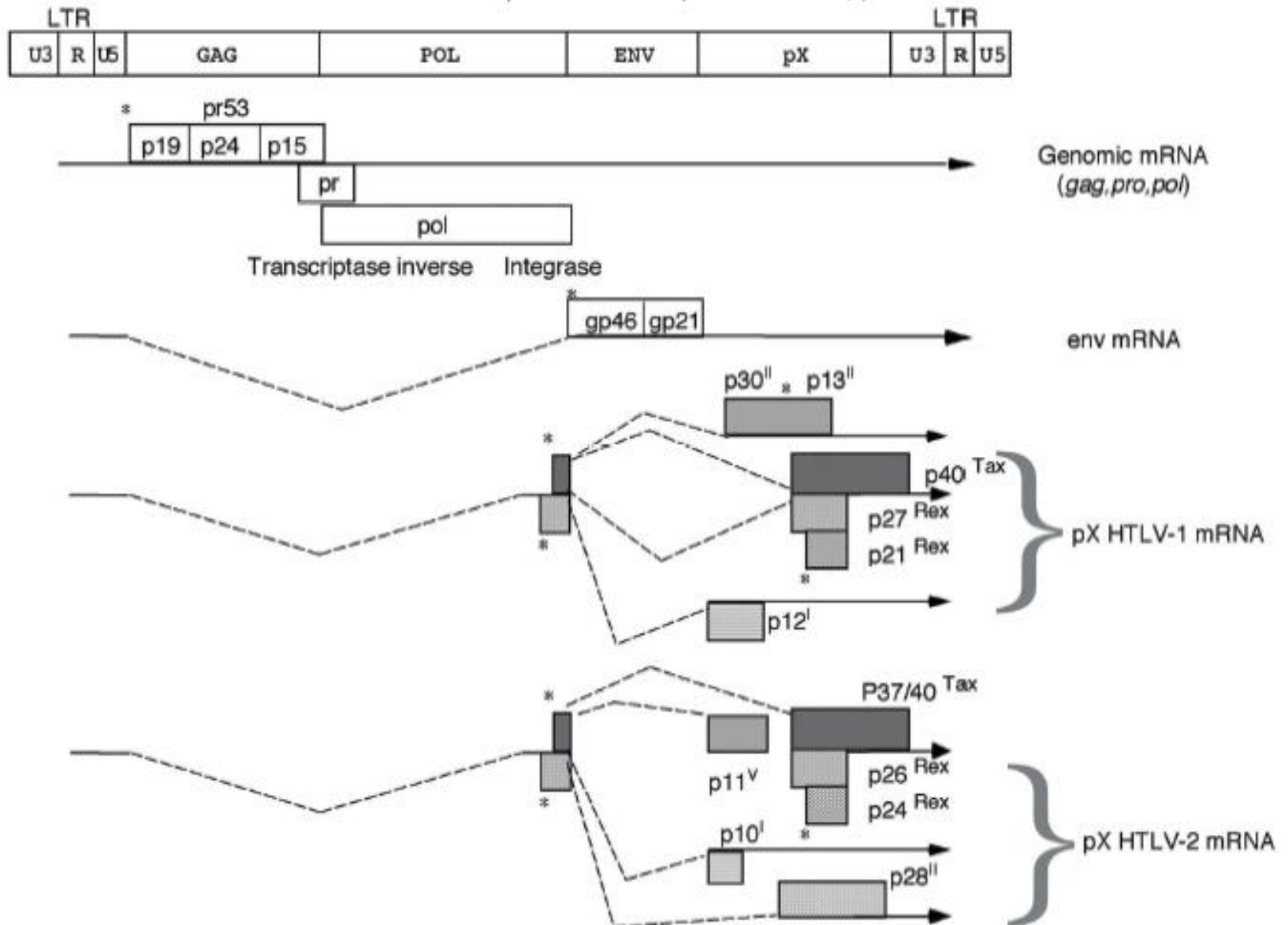
- Mielopatía / Paraparesia Espástica Tropical
- Uveítis
- Artropatías

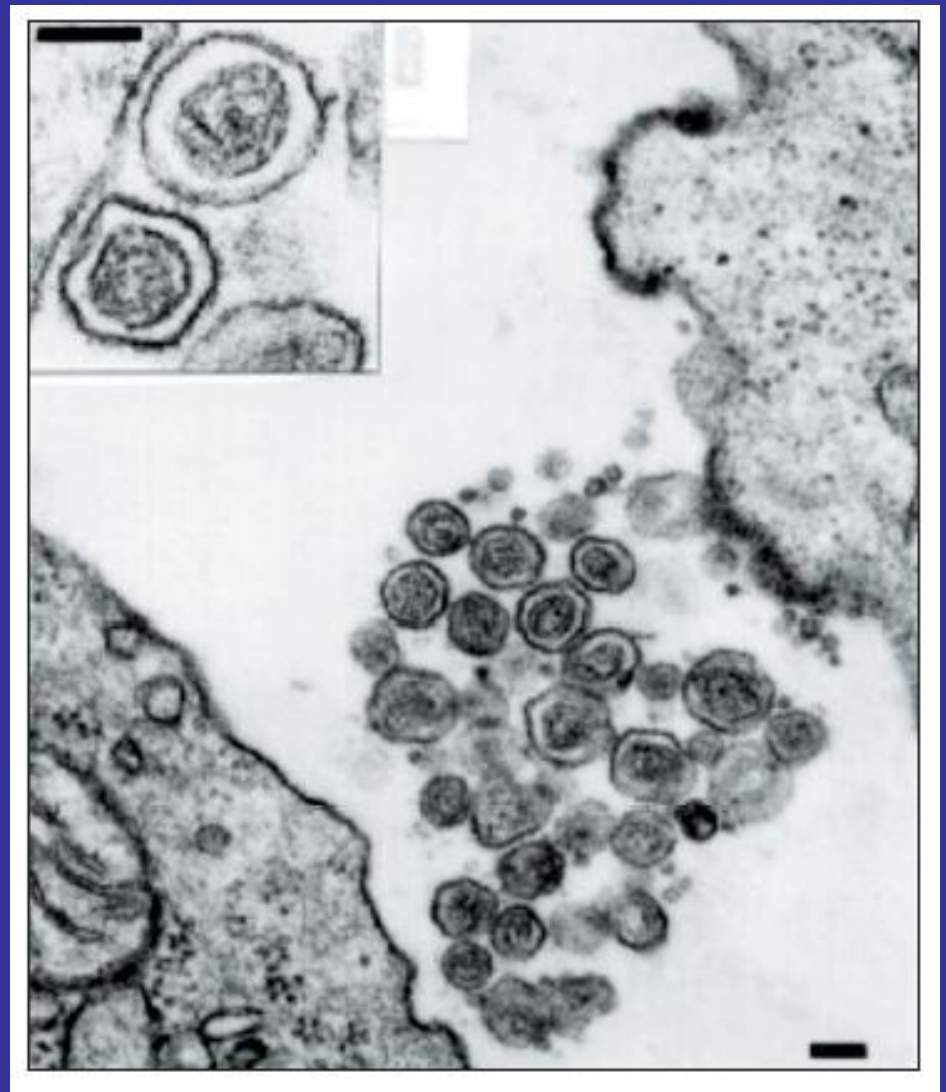
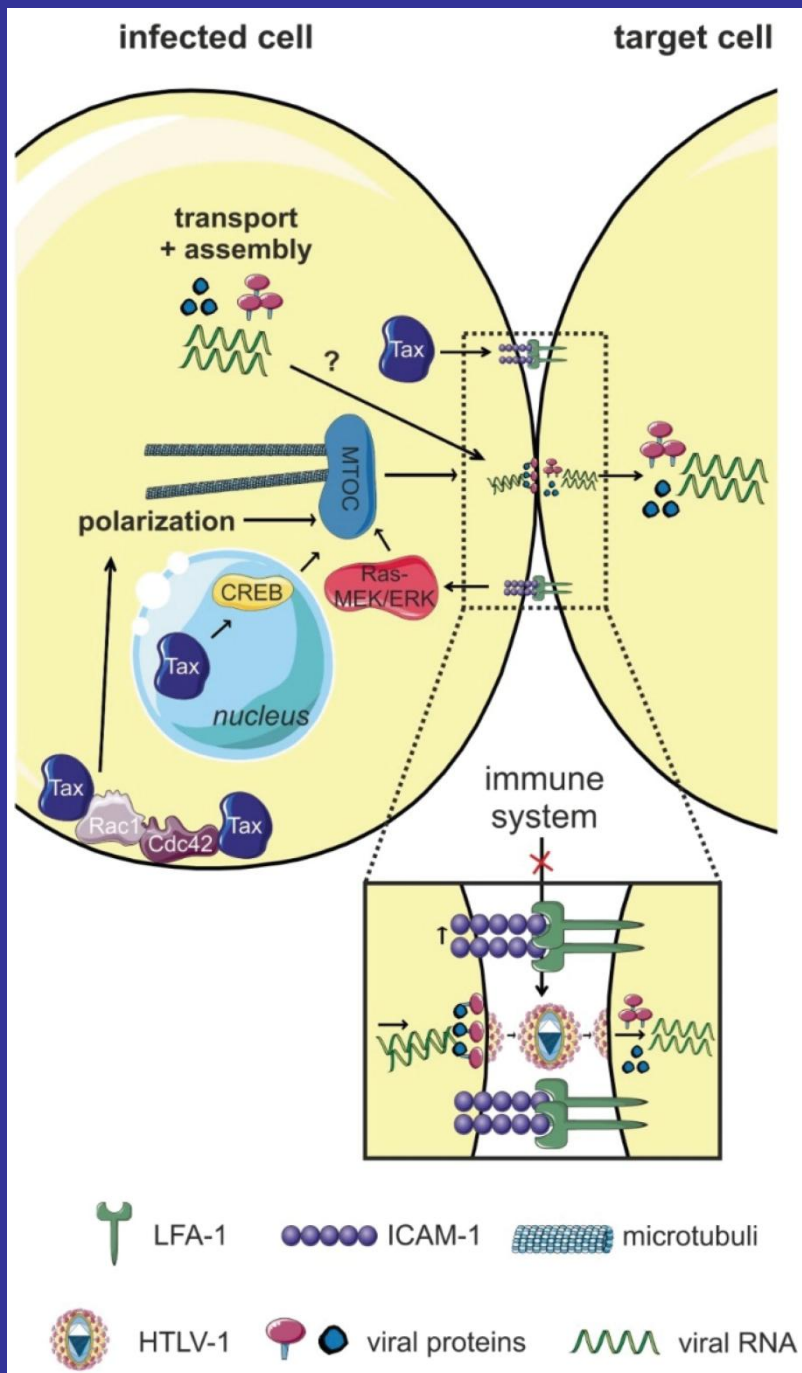
# HTLV-I



GLUT-1 – Heparán Sulfato – Neuropilina 1

# HTLV-1/2 : proviral DNA (9046/ 8952 bp)

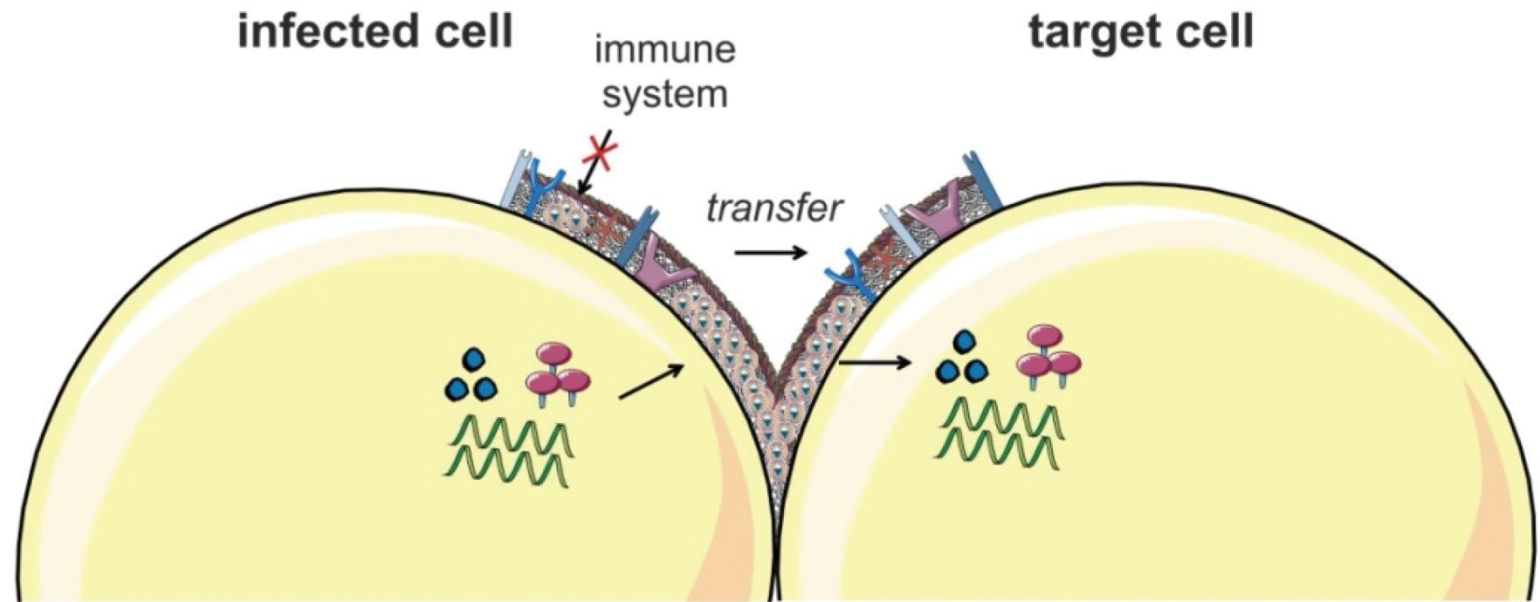




**Baja replicación “in vivo” -  
Transmisión célula a célula**

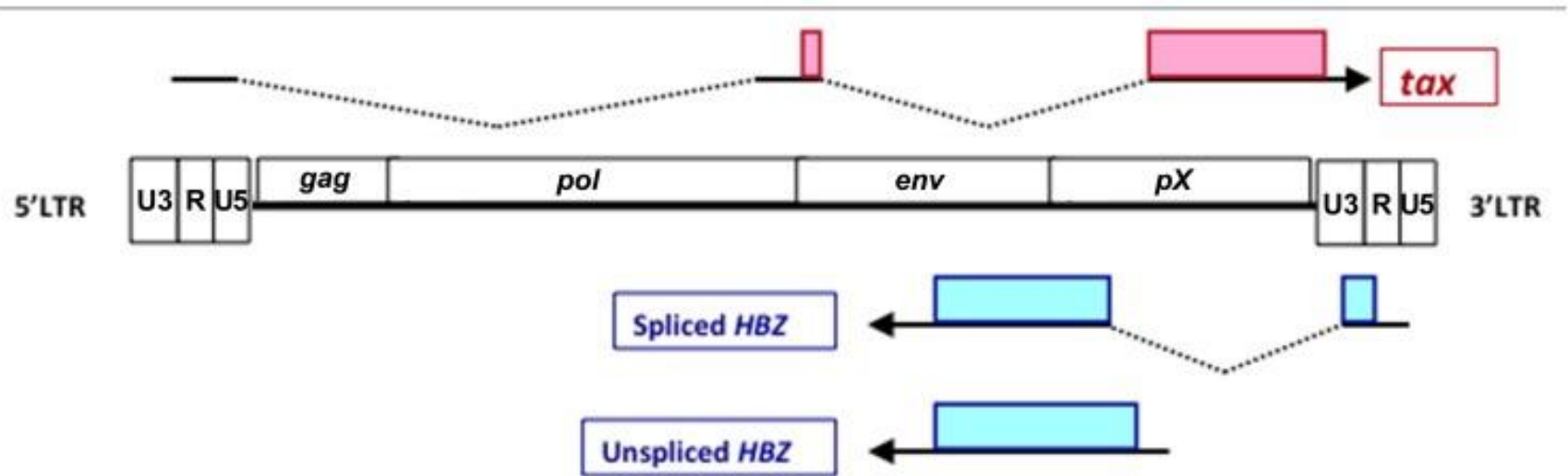


# “Biofilm viral”



Estimulación de una matriz celular que facilita la transmisión

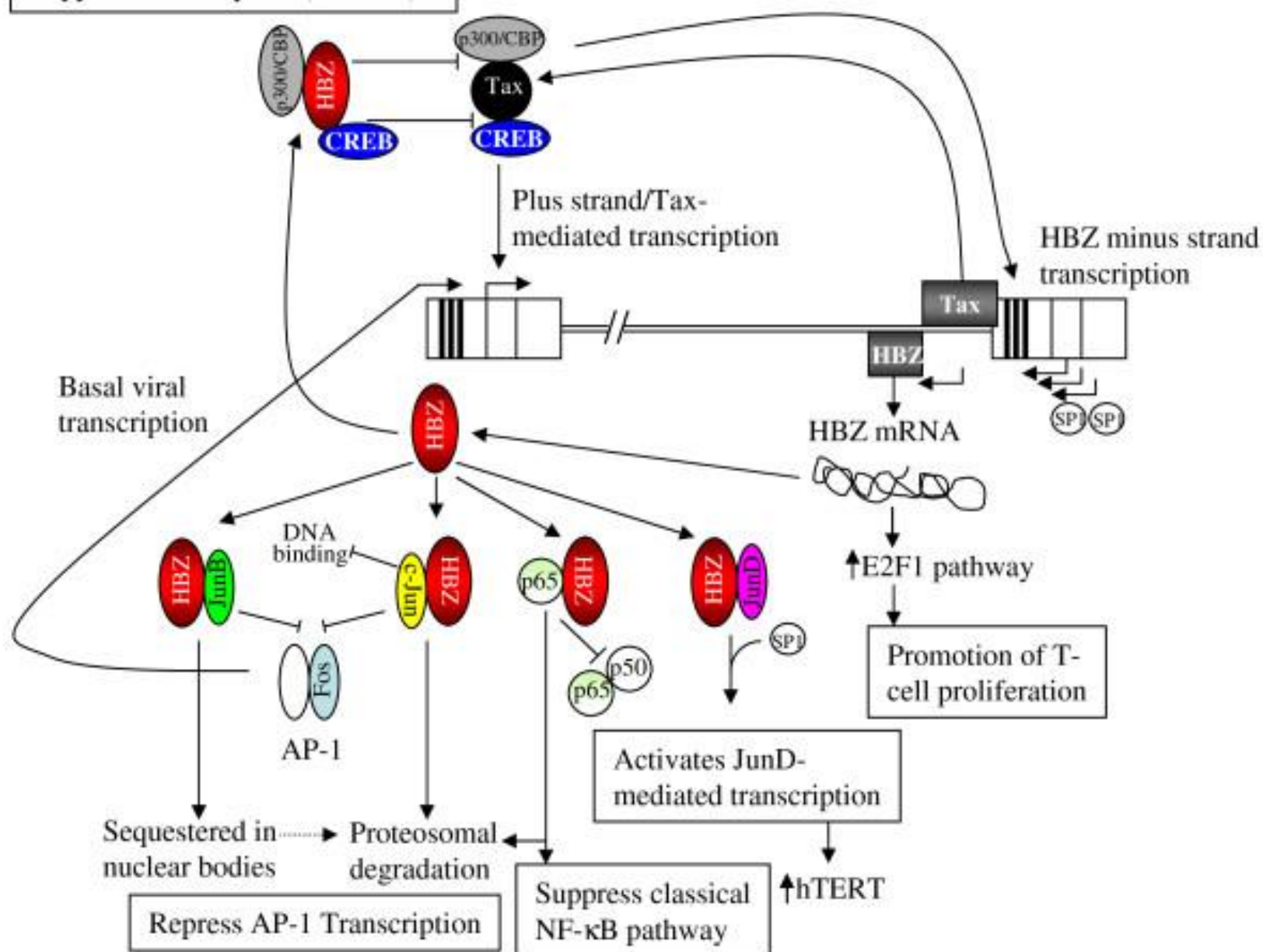
## *bZIP factor gene (HBZ)*

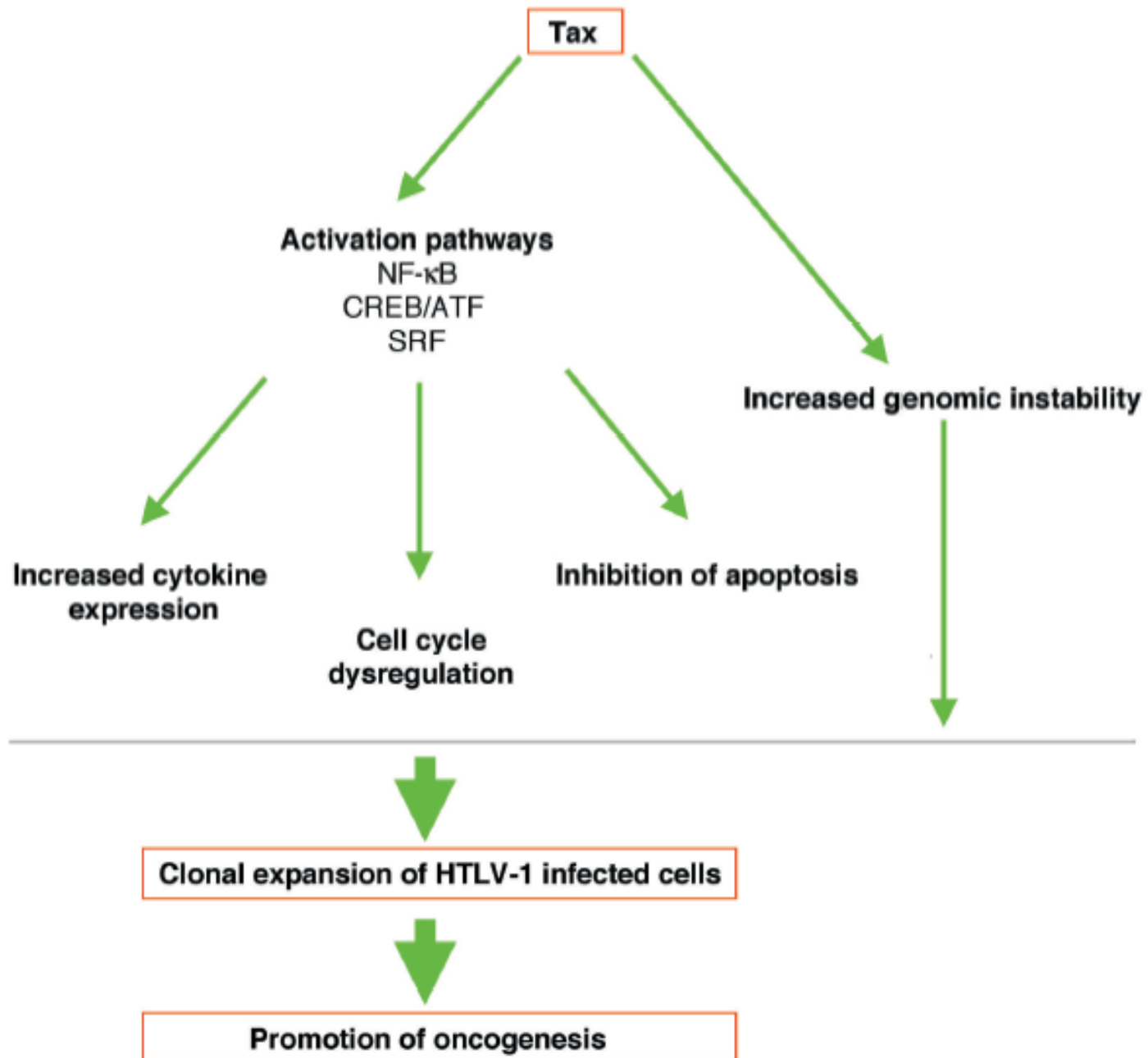


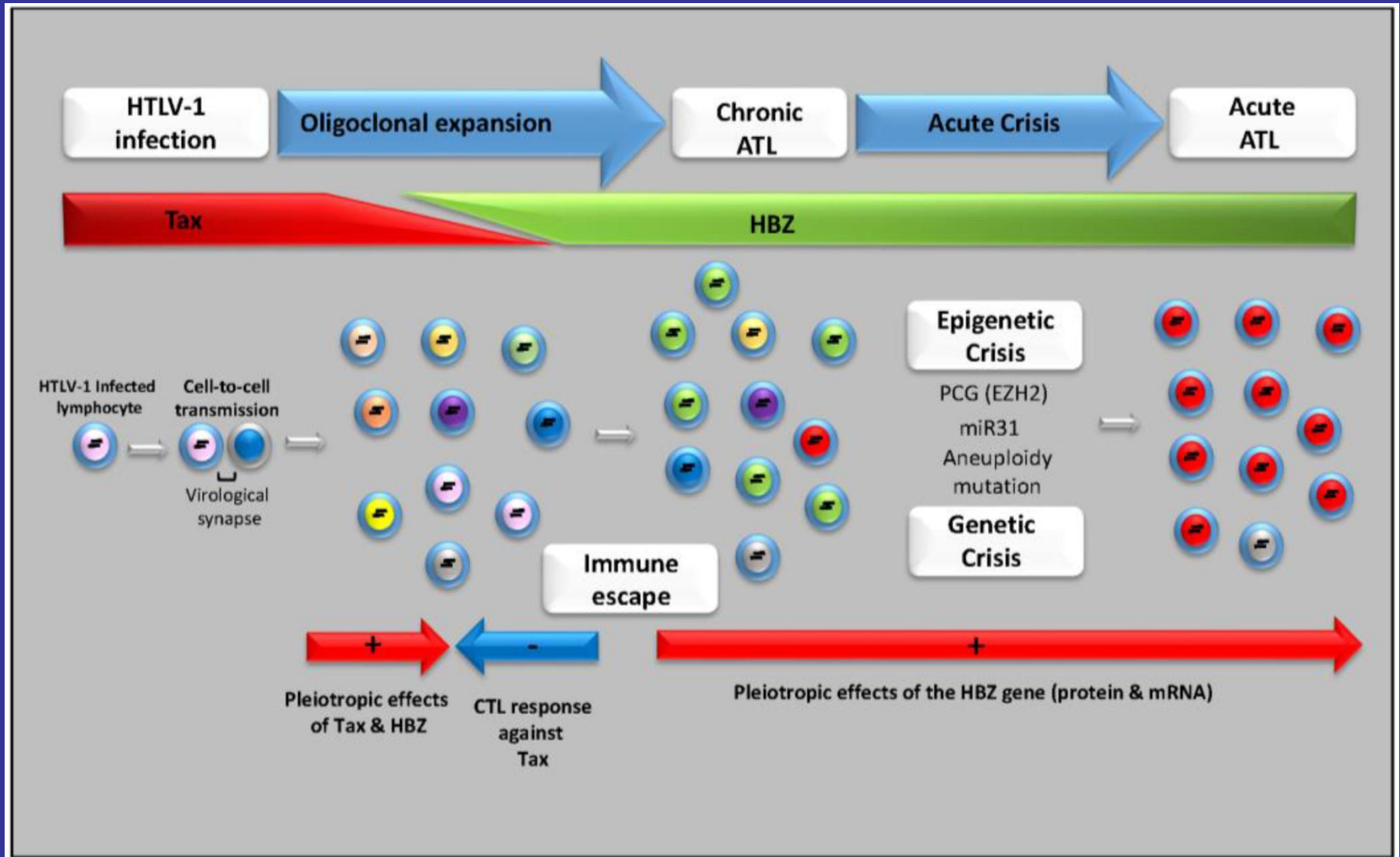
TAX y HBZ : Principales factores involucrados en la inmortalización celular

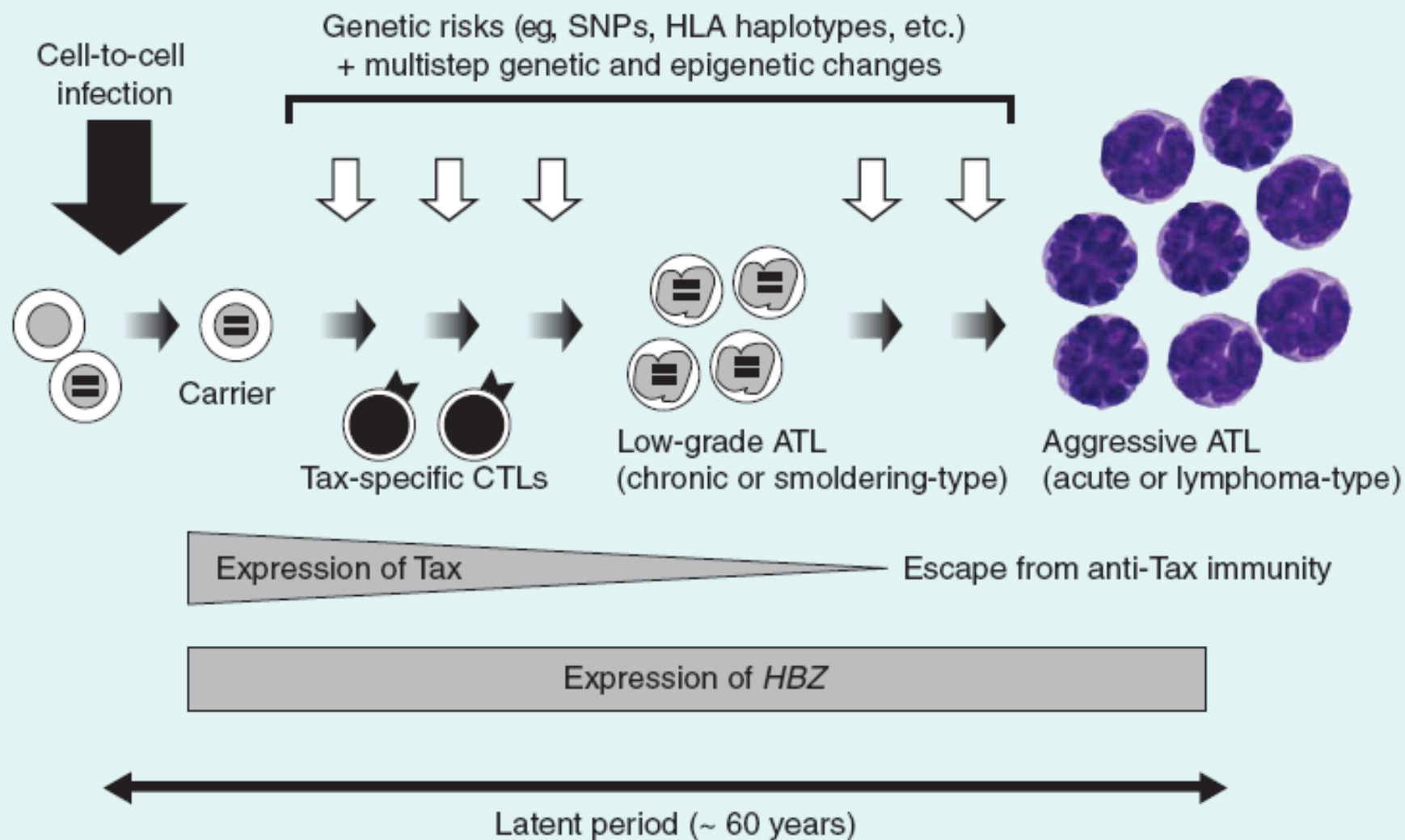


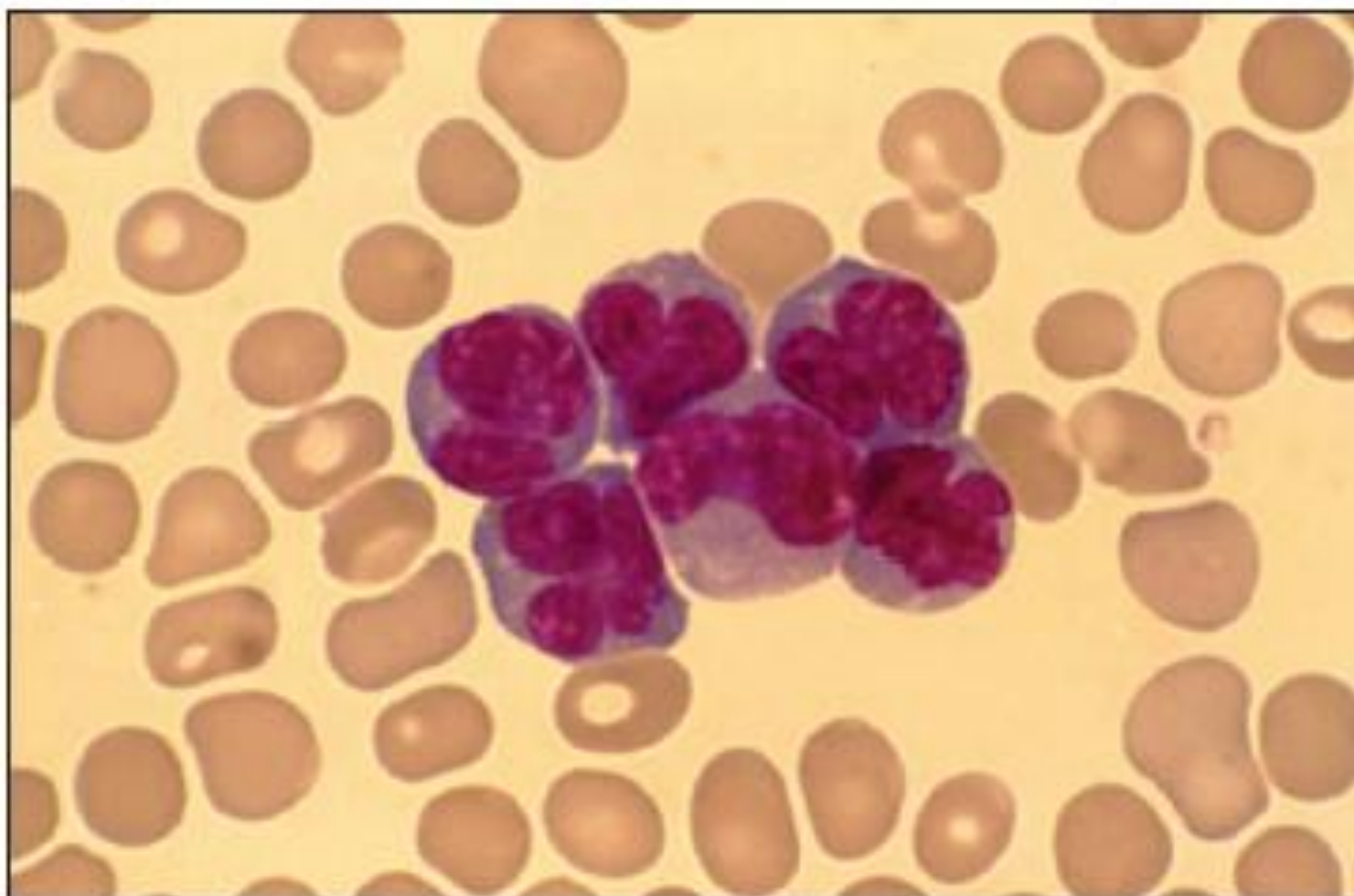
Suppress transcription (+ strand)





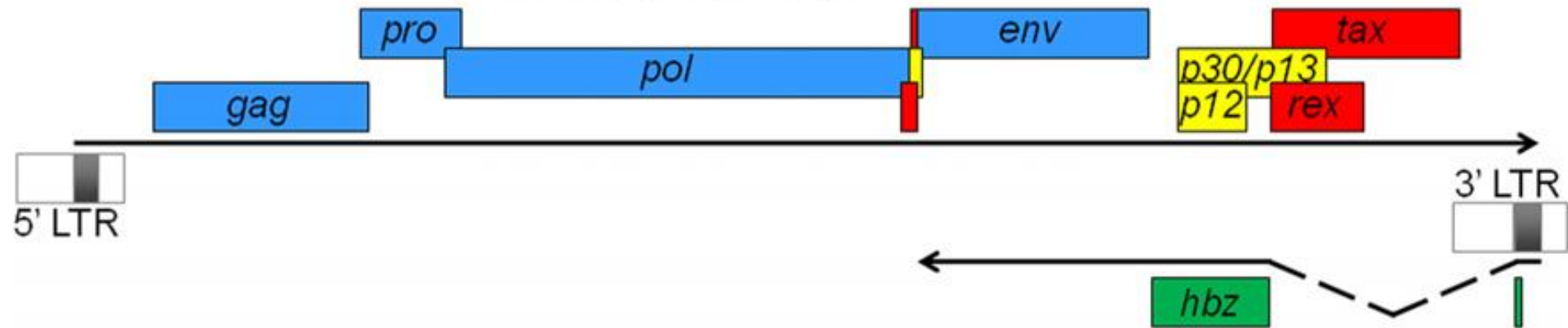




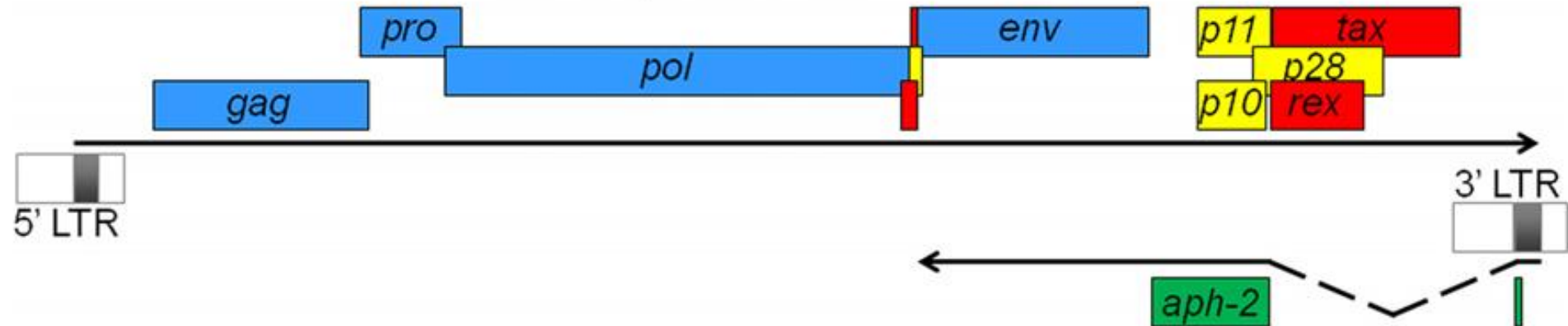


**Figure 4:** *Peripheral blood smear from a Caribbean ATL leukemic patient showing a cluster of atypical lymphoid cells with multilobulated nuclei (May Grunwald Giemsa staining).*

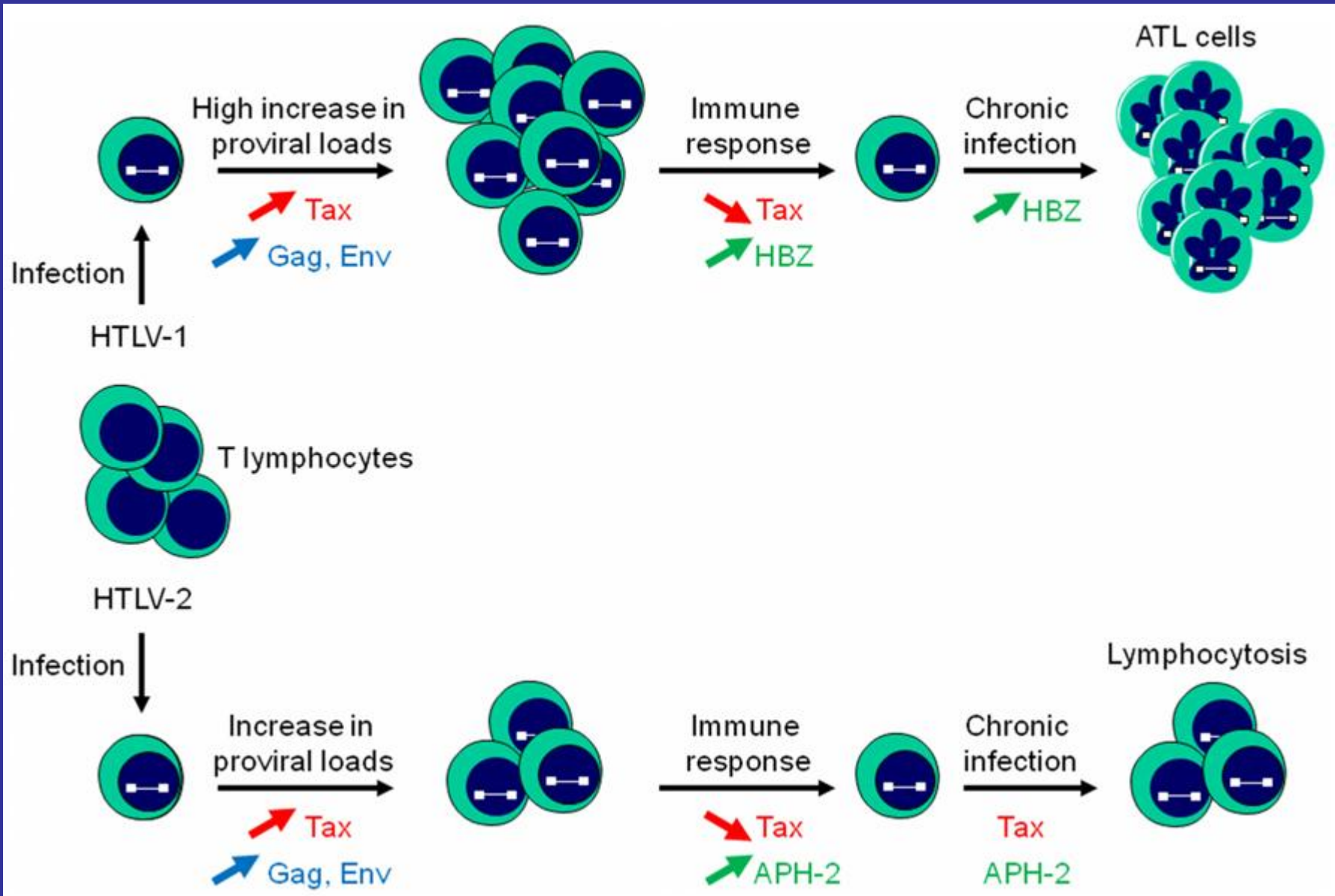
# HTLV-1 proviral DNA



# HTLV-2 proviral DNA







# **CONCLUSIONES**

**El desarrollo de cáncer asociado a virus en humanos involucra complejos mecanismos de persistencia y replicación que afectan principalmente a la función celular normal y a la respuesta inmune.**

**Factores externos -como genéticos y ambientales- pueden acelerar estos mecanismos.**