

**NUEVAS PERSPECTIVAS para el  
CÁNCER DE MAMA HUMANO a partir  
de MODELOS EXPERIMENTALES**  
Simposio Internacional  
Academia Nacional de Medicina  
Buenos Aires, 4 junio 1997

MEDICINA (Buenos Aires) 1997; 57 (Supl II): 3-18

## VISION RETROSPECTIVA DE LA RELACION ENTRE LOS RETROVIRUS Y EL CÁNCER

CHRISTIANE DOSNE PASQUALINI\*

*División Medicina Experimental, ILEX-CONICET, Instituto de Investigaciones Hematológicas,  
Academia Nacional de Medicina, Buenos Aires*

**Resumen** El concepto de los oncovirus RNA como causa de cáncer data del aislamiento del virus aviar del sarcoma de Rous en 1911 y del "factor leche" asociado al cáncer de mama murino por Bittner en 1936. En la década del 50 y con el surgimiento de los virus murinos inductores de sarcoma-leucemia, nació la teoría viral del cáncer. El descubrimiento de la transcriptasa reversa en 1970 dio lugar a la familia retroviridae que incluye a los oncovirus y los lentivirus. En la década del 80 ocurrieron tres descubrimientos que alteraron los conceptos de oncovirus: 1) se estableció que los oncogenes eran celulares y que los retrovirus eran meros vectores ocasionales de los mismos; 2) se demostró que la interleukina 2 era el factor de crecimiento de los linfocitos T, lo que permitió el aislamiento del primer oncovirus humano, HTLV-I; 3) se comprobó que HIV era un lentivirus y la causa del SIDA. Unos años después, se descubrieron los anti-oncogenes o genes supresores de tumor. Tanto los oncogenes como los anti-oncogenes participan en el ciclo celular normal manteniendo un equilibrio entre proliferación y apoptosis. Hoy, la teoría viral del cáncer se ha visto reemplazada por la teoría génica que postula que la transformación neoplásica de la célula resulta de una cascada de alteraciones que involucran errores de DNA no corregidos, bloqueo de la apoptosis, activación de oncogenes y delección de antioncogenes. Queda como incógnita el papel que juegan los retrovirus endógenos que en el hombre ocupan hasta el 0,1% del genoma celular.

**Palabras claves:** retrovirus, cáncer, oncogenes, anti-oncogenes

Hacer investigación significa buscar soluciones a problemas planteados sucesivamente en un tema definido a lo largo de muchos años. Esto implica mantenerse siempre en la cresta de la ola tratando de aprovechar el último descubrimiento para aportar el próximo eslabón hacia la solución buscada. En oncología experimental, que es el tema que nos interesa, esto significa no perder detalle de los avances en biología molecular, de lo más nuevo, de las publicaciones recientes, casi diría de no más de dos años atrás. Se ha men-

cionado que el crecimiento exponencial de datos acumulados en los últimos dos años lo equipara al peso de todo lo publicado en los años anteriores. En consecuencia, para los aun jóvenes, ansiosos de progresar sin pérdida de tiempo, la historia se pierde de vista y casi no se toma en cuenta. Sin embargo, no debería ser así: siempre se rescata algo útil en las "viejas" publicaciones. Además, no deja de ser interesante comprender cómo se llegó, paso a paso, a lo que hoy sabemos.

## 40º aniversario de la Sección Leucemia Experimental

VIRUS Y CáNCER era el lema con el cual se creó la Sección Leucemia Experimental de este

\* Miembro de la Carrera del Investigador del CONICET (Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas)

Dirección postal. Instituto de Investigaciones Hematológicas, Academia Nacional de Medicina, Las Heras 3092, 1425 Buenos Aires, Argentina.

Instituto en 1957, por lo que esta revisión es en cierto modo una autobiografía científica, una celebración de 40 años en el tema, que quiero dedicar a la memoria del Dr. Alfredo Pavlovsky, entonces Director del Instituto, por su visión de futuro y apoyo incondicional a todos nuestros emprendimientos. En aquel entonces se iniciaba "la época de oro" de la oncología viral, como la definió Charlotte Friend (descubridora del virus de Friend) veinte años más tarde en su discurso como Presidente de la *American Association for Cancer Research*<sup>1</sup>.

### Antes de 1950

Lo nuevo, lo diferente, es siempre resistido y la asociación de los virus con el cáncer no fue una excepción. A principios del siglo, los patólogos y los oncólogos se oponían a un origen infeccioso del cáncer. Dominaba la opinión de Virchow, *omnis cellula e cellula* (nace una célula donde ya hubo una célula). Por su parte, Paul Ehrlich había efectuado varios pasajes en ratones con extractos acelulares del carcinoma mamario que lleva su nombre, siempre sin éxito, por lo que descartaba la posibilidad de un agente transmisible involucrado en la etiología del cáncer. Los primeros que obtuvieron resultados positivos en este sentido fueron los veterinarios daneses Ellerman y Bang<sup>2</sup>, quienes en 1908 consiguieron transmitir la eritroleucemia aviar con extractos acelulares: esta publicación despertó poco interés, esencialmente porque no se consideraba la leucemia como un proceso neoplásico. Tres años más tarde, Rous<sup>3</sup> describió un sarcoma de ave causado por un virus ya que se transplantaba fácilmente con extractos libres de células. Este trabajo –hoy considerado un clásico– fue recibido con total descreimiento –*downright disbelief* según palabras de Peyton Rous cuando 55 años más tarde recibió el Premio Nobel<sup>4</sup> por el descubrimiento del virus que lleva su nombre, hoy prototipo de los retrovirus. No corrió mejor suerte la "teoría de la mutación somática" propuesta por Boveri<sup>5</sup> en 1912; este autor consideraba que la causa del cáncer se encontraba en alteraciones cromosómicas; hoy se lo puede considerar como el auténtico precursor de la actual "teoría génica". En 1936, similar espíritu derrotista acompañó a Bittner<sup>6</sup> cuando descubrió la transmisión del cán-

cer de mama de una cepa de ratón a la otra a través del amamantamiento; al respecto, recurrió a la denominación "factor" leche evitando la palabra virus, para lo que hoy es nada menos que el MMTV (virus del tumor mamario murino), la "vedette" de esta reunión.

### Las décadas del 50 al 70

Durante la década del 50 la actitud de los investigadores fue gradualmente cambiando frente al cúmulo de evidencias a favor de la inducción viral de la leucemia. El pionero fue indudablemente Ludwig Gross<sup>7</sup>, quien en 1951 demostró que inoculando ratones recién nacidos con extractos acelulares de tejidos leucémicos podía reproducir la enfermedad. En rápida sucesión aparecieron otros virus inductores de leucemia en el ratón: el virus de Graffi<sup>8</sup> aislado a partir del Sarcoma I, el de Friend<sup>9</sup> del carcinoma de Ehrlich, el de Moloney<sup>10</sup> del Sarcoma 37 y varios otros que fueron descriptos en detalle en varias revisiones<sup>11-13</sup>. Se postuló entonces una etiología infecciosa del cáncer a través de un virus exógeno. Sin embargo, esta interpretación no resistió frente al descubrimiento en 1959 de Lieberman y Kaplan<sup>14</sup> de que los rayos X eran capaces de inducir leucemia en el ratón; de esas leucemias se recogía un virus capaz de transmitir la enfermedad a otros ratones y que fue denominado virus de Kaplan<sup>15</sup> y, más tarde, RadLV (*radiation leukemia virus*). Este virus era necesariamente endógeno, y por tanto dio origen a la "teoría del oncogén" propuesta por Huebner y Todaro<sup>16</sup> en 1969: estos autores postulaban que el genoma celular contenía un *oncogen* potencialmente responsable de la transformación neoplásica, transmitido por la línea germinal en forma latente y capaz de ser activado por diversos agentes carcinogénicos. Había nacido la palabra *oncogen* en una sorprendentemente clara visión de futuro.

En nuestro laboratorio, uno de los primeros hallazgos fue también inducir una leucemia en ratones a partir de un sarcoma (S180), a la que denominamos Leucemia 180<sup>17, 18</sup>, pero que había de ser citada en la literatura como Leucemia Pasqualini-Holmberg<sup>12</sup>. Logramos además inducir leucemia con <sup>32</sup>P<sup>19-21</sup> y con rayos X<sup>21</sup>, confirmando la existencia del RadLV; fue más tarde Ferrer<sup>22</sup>, un investigador formado en nuestro la-

boratorio, quien demostraría la similitud entre RadLV y el virus de Gross.

Rápidamente se fueron acumulando descripciones de virus inductores de complejos sarcoma-leucemia a lo largo de la escala zoológica incluyendo aves, ratones, ratas, gatos, bovinos y primates, y aun peces. Estos oncovirus fueron clasificados en: 1) *tipo B*, cuyo prototipo es el MMTV o virus de tumor mamario murino; 2) *tipo C*, que incluye virus del complejo sarcoma-leucemia en aves y mamíferos; 3) *tipo D*, cuyo ejemplo es el virus del tumor mamario de primates; y 4) *tipo A*, muy abundante en tumores murinos y posiblemente un precursor de los dos primeros<sup>11, 23</sup>.

La teoría del oncogen de Huebner y Todaro se vió consolidada en 1970 por el descubrimiento de la transcriptasa reversa por Temin<sup>24</sup> y

Baltimore<sup>25</sup>, hallazgo por el que recibieron el Premio Nobel en 1975. Estos investigadores, trabajando independientemente, demostraron que dicha enzima, presente en el genoma viral, permite la copia de una cadena de RNA viral a una cadena de DNA con posterior incorporación al genoma celular, siguiendo en consecuencia un camino inverso al dogma convencional DNA-RNA-Proteína. Así nació la familia *Retroviridae* que incluye a los virus RNA portadores de esta enzima (Tabla 1).

## La década del 70

El entusiasmo a favor de la etiología viral del cáncer iba *in crescendo*: se habían encontrado virus oncogénicos a lo largo de la escala zooló-

TABLA 1.- *Retroviridae: algunos miembros de las subfamilias*

| Subfamilia          | Grupo        | Huésped | Virus           | Patogenicidad  |
|---------------------|--------------|---------|-----------------|----------------|
| <i>Oncovirinae</i>  | tip C        | Ave     | RSV (prototipo) | sarcoma        |
|                     |              | Ratón   | AKR-MuLV        | leucemia       |
|                     |              | Ratón   | Mo-MuLV         | leucemia       |
|                     |              | Rata    | Ha-MSV          | sarcoma        |
|                     |              | Gato    | Fe-LV           | leucemia       |
|                     |              | Primate | SSV             | sarcoma        |
|                     | tipo B       | Ratón   | MMTV            | cáncer de mama |
|                     | tipo D       | Primate | MPMV            | cáncer de mama |
|                     | tipo C símil | Bovino  | BLV             | leucemia       |
|                     |              | Primate | STLV-I          | leucemia       |
|                     |              | Humano  | HTLV-I y II     | leucemia       |
| <i>Lentivirinae</i> |              | Ovino   | Visna/Maedi     | citólisis      |
|                     |              | Equino  | EIAV            | citólisis      |
|                     |              | Primate | SIV             | citólisis      |
|                     |              | Humano  | HIV-I y II      | SIDA           |
| <i>Spumavirinae</i> |              | Primate | SFV             | no patógeno    |
|                     |              | Humano  | HFV             | no patógeno    |

Abreviaturas: RSV: Rous sarcoma virus; AKR-MuLV: murine leukemia virus in AKR mice (*endógeno*); MoLV: Moloney leukemia virus; Ha-LV: Harvey Leukemia virus; FeLV:feline leukemia virus; SSV: simian sarcoma virus; MMTV: murine mammary tumor virus; MPMV: Mason-Pfizer monkey virus; BLV: bovine leukemia virus; STLV-I: simian Tcell leukemia virus; HTLV-I y II: human T cell leukemia virus; EIAV: equine infectious anemia virus; SIV: simian immunodeficiency virus; HIV: human immunodeficiency virus; SFV: simian foamy virus; HFV: human foamy virus.

gica y era difícil suponer que el hombre fuera una excepción. En 1971, Nixon firmó el *National Cancer Act* en base al siguiente razonamiento: si pudimos llegar a la luna, si pudimos vencer la poliomielitis, por qué no vencer al cáncer, siempre que le dediquemos todo el dinero necesario. Así nació, además, el *Special Virus Program* bajo el lema de Sabin "un cáncer, un virus, una vacuna". La búsqueda del "oncovirus humano" dio origen a numerosas publicaciones que aportaron sólo evidencias indirectas ya que principalmente se fundamentaban en la aparición de partículas tipo C y D en linfoma-leucemias humanas<sup>26</sup>.

Siguiendo la corriente del momento, en la Sección Leucemia Experimental, dedicamos mucho esfuerzo a la búsqueda de un virus humano. Se diseñó el *método intraesplénico* para el transplante de material neoplásico humano a ratones BALB/c de un mes de edad, seguido de un pasaje ciego: se obtuvieron leucemias de corta latencia (30 días) con biopsias procedentes de 4/16 leucemias, 3/25 linfomas de Hodgkin, 1/28 leucemias y 1 (anomalía cromosómica)/24 linfadenitis<sup>27-29</sup>. Al reproducir el modelo reemplazando el material humano xenogenético por un linfoma AKR alógeneico, se obtuvieron resultados similares: sólo en 8/68 ensayos se obtuvieron leucemias de corta latencia<sup>30</sup>. En ambos casos, hubo un aumento significativo de leucemias de larga latencia con respecto a los controles correspondientes. Al encontrar que todas estas leucemias daban reacciones positivas con un antígeno del virus de Gross<sup>31</sup>, se postuló que se trataba de la activación de un virus latente (endógeno) en el ratón por un "factor" presente en algunos enfermos.

En otro modelo experimental desarrollado en nuestro laboratorio, se encontró que la inciden-

cia de fibrosarcomas inducidos por la implantación subcutánea de un cuerpo extraño (cilindro de vidrio), resultaba significativamente aumentada con la inoculación *in situ* de células neoplásicas humanas<sup>32</sup>.

La similitud en los resultados obtenidos usando el método intraesplénico con biopsias de linfomas humanos y con tejidos leucémicos AKR alógeneicos en ratones BALB, nos llevó a buscar anticuerpos contra el virus de Gross (virus endógeno del ratón) en el suero de enfermos con leucemia. Por inmunofluorescencia indirecta, se encontró que el suero leucémico humano daba reacción positiva sobre células leucémicas AKR (portadores del virus de Gross)<sup>33</sup>. Por otro lado, Basombrío et al<sup>34</sup> habían observado que al inocular extractos acelulares de cáncer de mama humano en ratones C3H recién nacidos se inducía leucemia, pero no el tumor homólogo como era de esperar, lo que confirmaba la antigenicidad cruzada entre el virus de Gross y el de Bittner (MMTV). En consecuencia, se amplió el protocolo de inmunofluorescencia empleando como segundo "blanco" las células de un tumor de mama inducido por MMTV. Se encontró que el 72% de los sueros leucémicos daban reacción positiva con el linfoma murino y el 50% con el cáncer de mama murino. Recíprocamente, el 86% de los sueros de pacientes con cáncer de mama daban positivo con el tumor homólogo y el 39% con el linfoma murino<sup>35</sup>. Ninguno de los sueros normales dieron reacción positiva (Tabla 2). Es un placer muy especial ver que en este Simposio la Dra. Beatriz Pogo presentará evidencias de secuencias MMTV-similares en el suero de enfermas con cáncer de mama (página 75). En nuestro caso, se pudo demostrar que se trataba de una respuesta antiviral: por un lado, se consiguió blo-

TABLA 2.- Anticuerpos séricos contra retrovirus murinos tipo C y B en pacientes con leucemia-linfoma y con cáncer de mama:

| Sueros humanos   | Linfoma AKR |    | Ca Ma Balb/c |    |
|------------------|-------------|----|--------------|----|
|                  | nº/total    | %  | nº total     | %  |
| Leucemia-linfoma | 224/311     | 72 | 155/311      | 50 |
| Cáncer de mama   | 94/240      | 39 | 206/240      | 86 |
| Normal           | 0/196       |    | 0/101        |    |

quear la reacción con un suero anti-RadLV, antigenéticamente similar al virus de Gross, y por el otro lado, se infectaron fibroblastos embrionarios Swiss con el virus de Gross, obteniendo luego una inmunofluorescencia positiva con los sueros de los pacientes y no con los de los controles<sup>33, 35</sup>. Estos resultados fueron presentados durante el XII Congreso Internacional de Cáncer realizado en Buenos Aires<sup>36</sup> en 1978 y obviamente formaron parte del cúmulo de otras evidencias indirectas a favor de un virus "humano"; sorpresivamente, mi manuscrito –entregado junto con el de Basombrío<sup>37</sup>– fue el único que no figuró en los *Proceedings* del Congreso, tal vez debido a la feroz competencia en el tema. Un año después se retomó la discusión durante el IX Simposio Internacional de Investigación en Leucemia Comparada en Sukhumi, Georgia, URSS. Allí presenté mis resultados<sup>38</sup> en tanto que los discípulos de Boris Lapin aportaron datos similares a los nuestros, ya que lograban la inducción de leucemia con sangre de enfermos leucémicos, aunque no en ratones sino en babuinos<sup>39, 40</sup>. A pesar de estas nuevas evidencias indirectas a favor de un supuesto virus humano, se notó un ambiente inexplicablemente reacio a aceptar un virus como causa de cáncer; hasta se llegó a calificar al tema como *emotional issue*<sup>41</sup>. Más tarde, supe que en ese momento ya estaba en prensa el trabajo del grupo de Gallo<sup>42</sup> sobre HTLV-I y que había orden de no comentarlo...

### Vacunar contra el cáncer

En nuestro laboratorio se hicieron muchos intentos para inmunizar o "vacunar" ratones contra los sarcomas y leucemias inducidos por virus<sup>43-45</sup>. Inicialmente, trabajando con el Sarcoma 180 (S-180) en ratones Swiss, se había comprobado que los animales que habían rechazado el tumor desarrollaban una leucemia inducida por un virus (L-180) con antigenicidad cruzada entre S-180 y L-180<sup>18</sup>. Luego, Basombrío et al<sup>46-48</sup> con el objeto de "vacunar" contra una leucemia inducida por el virus de Moloney, inmunizaron ratones con pseudotipos virales para luego desafiarlos con distintos implantes de células leucémicas; no llegaron a crecer. Se había conseguido vacunar pero sólo a corto plazo, ya que inesperadamente este procedimiento provocó la aparición de

leucemias "espontáneas" de larga latencia. Estos resultados tan frustrantes para una posible vacuna contra el cáncer, abrieron, sin embargo, la posibilidad de una vacuna contra la enfermedad de Chagas<sup>49</sup>.

### La década del 80

Diez años de esfuerzo colectivo de una pléyade de investigadores –y el apoyo de millones de dólares– dieron su fruto al inicio de la década del 80 al producirse tres descubrimientos trascendentales que revolucionaron la oncoinmunología e impulsaron la biología molecular:

*El primero* fue que el "oncogen celular" era el responsable de la transformación neoplásica y que, por ende, los retrovirus no eran más que vectores al incorporar el oncogen celular en su propio genoma. Esta demostración, que les significó el Premio Nobel a Bishop y Varmus<sup>50, 51</sup> en 1989, significaba otro derrumbe de un importante dogma y ampliaba aún más la teoría inicial del oncogen al eliminar la participación de un virus dejándole toda la responsabilidad a la célula.

*El segundo* descubrimiento por más que previsible pareció contradictorio: al tiempo que se demostraba que el oncovirus no era responsable de la transformación neoplásica, el grupo de Gallo aislaban el primer retrovirus oncogénico humano que denominaban HTLV-I (*human T-cell leukemia-lymphoma virus*): se trataba de un virus exógeno, de transmisión horizontal.

*El tercer* descubrimiento fue el HIV (*human immunodeficiency virus*) causante del SIDA (síndrome de inmunodeficiencia humana) llevado a cabo simultáneamente por Gallo et al<sup>52</sup> en EE. UU. y el grupo de Montagnier en Francia. También se trataba de un retrovirus exógeno e infeccioso que debía desencadenar la pandemia que hoy soportamos.

### Ciclo de vida de los retrovirus (Fig. 1)

La partícula viral libre en el medio extracelular se une a un receptor de una célula permisiva. Fusionándose con la membrana, pierde su envoltura e inyecta en el citoplasma las dos cadenas de RNA junto con las proteínas virales. Por acción de la transcriptasa reversa, una cadena de RNA se complementa con una de DNA que se

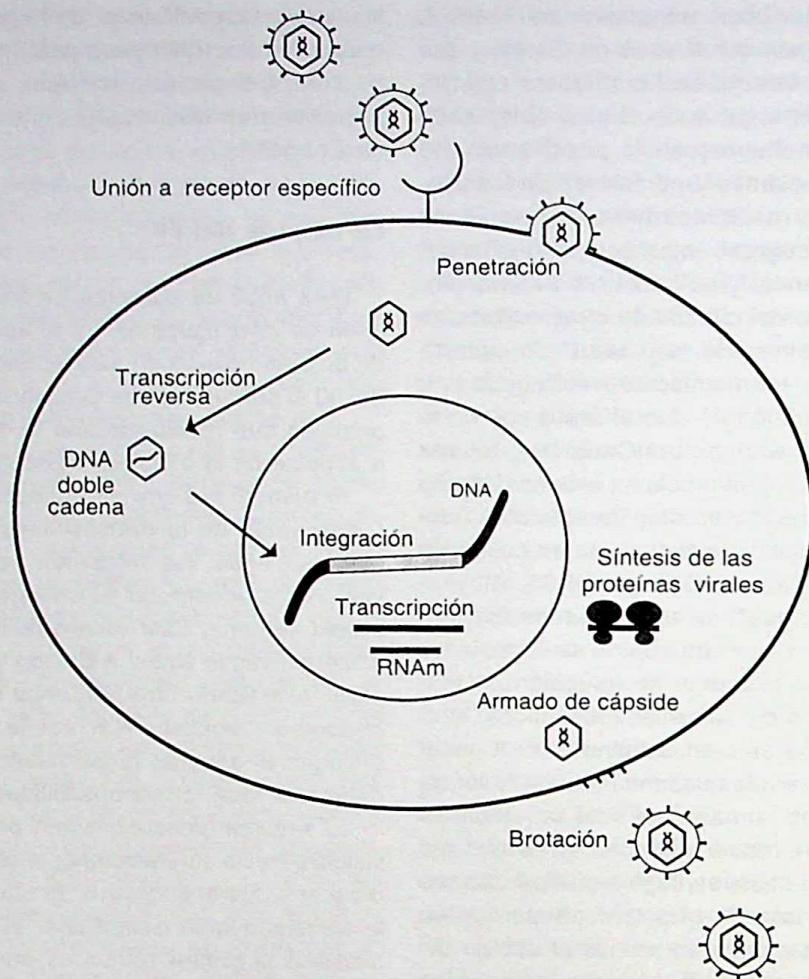


Fig. 1.- Ciclo de vida de un retrovirus. La partícula viral se une a un receptor específico presente en la membrana celular a través del cual penetra en el citoplasma donde pierde su envoltura. Por medio de la transcriptasa reversa se sintetiza DNA de doble cadena a partir del RNA viral. Este DNA penetra en el núcleo y se integra al genoma en forma de provirus con una latencia indefinida. Al expresarse, el provirus se transcribe a un RNA mensajero, se sintetizan luego las proteínas virales y el virus ya ensamblado brota a través de la membrana celular de la que adquiere parte de su envoltura. Una vez fuera de la célula, el virus puede penetrar en otra célula y reiniciar su ciclo de vida.

duplica en tanto que la de RNA es degradada. El DNA viral penetra en el núcleo, y luego se incorpora al azar en el genoma celular en forma de provirus. Allí puede permanecer latente durante largos períodos hasta que, por diversos mecanismos, logra expresarse. En ese caso, sus genes se copian a un RNA mensajero dando origen a proteínas virales. A nivel de la membrana celular se reconstituyen la nucleocápside y la envoltura formando una partícula o virión que brota al exterior.

### El genoma viral (Figs. 2, 3)

El genoma de los retrovirus consta de dos cadenas idénticas de RNA (no complementarias) con 3 genes de base, necesarios para su replicación: *gag*, *pol* y *env*, flanqueados por *LTR*. Se trata de secuencias de RNA que, una vez incorporadas en el genoma celular en forma de DNA (provirus), codifican para proteínas estructurales de la cápside (*gag*), para la transcriptasa inversa (*pol*) y para las proteínas de envoltura (*env*) mien-

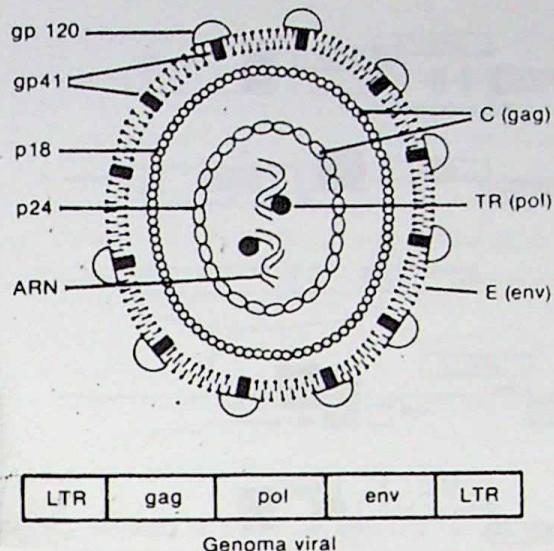


Fig. 2.- Estructura viral. Genes que constituyen el genoma viral: *gag* (*group antigens*) que codifica para las proteínas estructurales de la cápside (C) p18 y p24; *pol* (*polimerasa*) para la transcriptasa reversa (TR), y *env* (*envoltura*) para las glicoproteínas de envoltura (E) gp41 y gp120; *LTR* (*long terminal repeats*) genes terminales que modulan la expresión viral.

tras que los genes terminales *LTR* (*long terminal repeats*) inician y/o regulan la expresión viral.

### Los oncogenes

El retrovirus prototípico RSV (virus del sarcoma de Rous) tiene un oncogen *src* (por sarcoma) incorporado en su genoma en forma de v-onc (oncogen viral) o v-src; el virus en algún momento adquirió este oncogen del genoma celular, es decir, del proto-oncogen o c-onc (oncogen celular) o, en ese caso, c-src. RSV es fuertemente onco-génico induciendo sarcomas en aves a pocas semanas de su inoculación. Se demostró que el gen *src* es el causante de la malignidad, ya que puede transformar células en cultivos de tejido en ausencia de otros genes virales<sup>50, 51</sup>.

Contrariamente con lo que ocurre con RSV, los retrovirus endógenos de aves y roedores suelen producir sarcoma-leucemias después de una larga latencia. En muchos de esos casos el retrovirus, al incorporarse al genoma celular, se ubica en la vecindad de un oncogen (Fig. 4), por ejemplo de *c-myc*, produciendo una secuencia *pol-env-LTR-myc*. Como LTR es capaz de aumentar la expresión de genes adyacentes, se

produce una desregulación del gen *myc* y por ende de las proteínas que codifica, lo que lleva a la transformación celular y eventualmente al desarrollo de una leucemia o linfoma. De esta manera, se puede considerar al genoma celular como extremadamente móvil, con posibilidad de delecciones, adiciones y recombinaciones de genes: tales genes se comportarían como retrotransposones (DNA a RNA a DNA) (Fig. 5) o aun como transposones (DNA a DNA): esta demostración de "genes saltarines" le significó el Premio Nobel en 1983 a Barbara McClintock, más de treinta años después de su hallazgo<sup>54</sup>.

Paulatinamente se fueron encontrando la copia celular (c-onc) de todos los oncogenes virales (v-onc) descritos anteriormente en aves, ratones, etc. (Tabla 3). Se encontraron varias copias de c-onc expresadas en tumores humanos<sup>55</sup>. En cuanto a la transformación neoplásica de células normales, se la pudo obtener in vitro mediante su transfección secuencial con dos o más oncogenes<sup>56</sup>. Ya no quedaba duda de que la célula neoplásica era producto de alteraciones génicas.

En el hombre, translocaciones de genes involucrando la activación de *c-myc* son las causantes de la leucemia mieloide crónica y del linfoma de Burkitt. Los retrovirus pueden incorporar otros c-onc en su genoma, como *c-ras*,

TABLA 3.- Algunos oncogenes celulares

| oncogen | Retrovirus | Especie |
|---------|------------|---------|
| src     | RSV        | ave     |
| erb B   | AEV        | ave     |
| fms     | FeSV       | felino  |
| abl     | MuLV       | ratón   |
| fes     | FeLV       | felino  |
| yes     | ASV        | ave     |
| H-ras   | MoSV       | rata    |
| K-ras   | MoSV       | ratón   |
| myc     | MC29       | ave     |
| mos     | MoLV       | ratón   |
| myb     | AMV        | ave     |
| jun     | ASV        | ave     |
| fos     | MSV        | ratón   |
| sis     | SSV        | simio   |

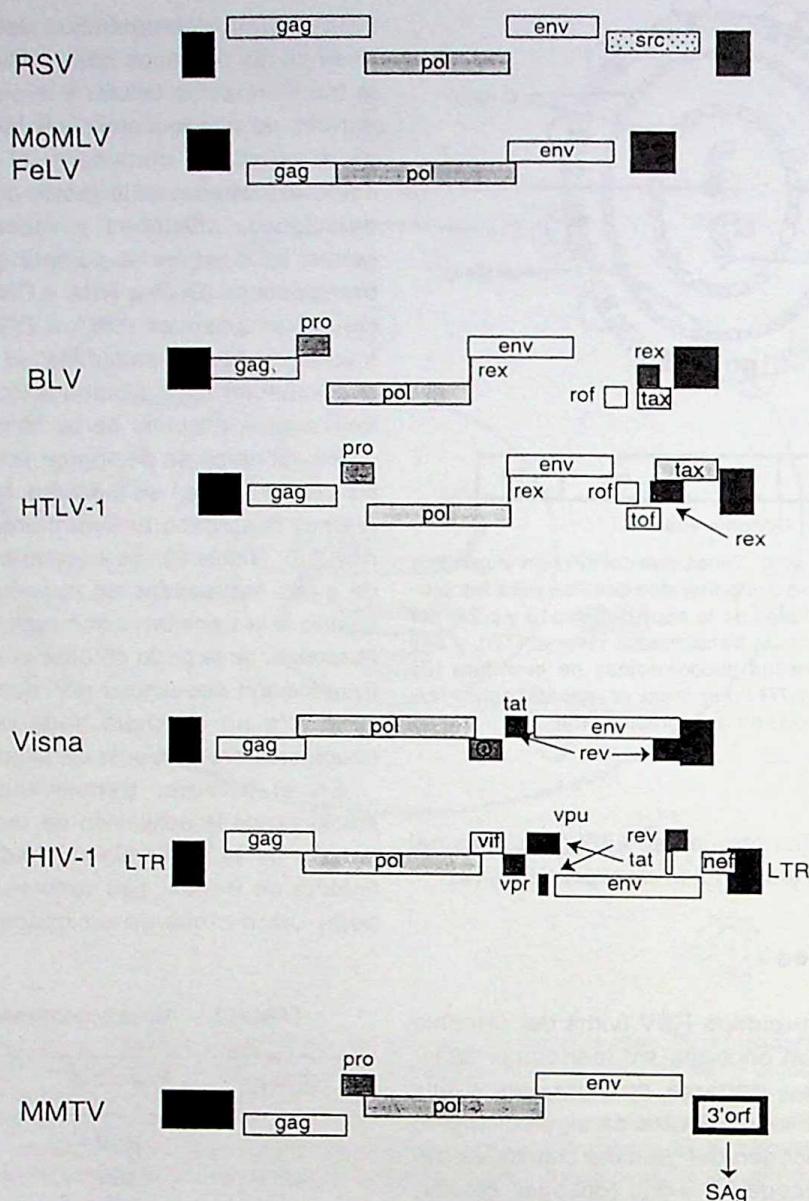


Fig. 3.- Comparación entre genomas de distintos retrovirus. RSV (*Rous sarcoma virus*), prototipo de los oncovirus, con incorporación del oncogen *src* que lo convierte en virus transformante. MoMLV (*Moloney murine leukemia virus*) y FeLV (*feline leukemia virus*), sólo tienen los genes indispensables para la replicación viral. BLV (*bovine leukemia virus*), y HTLV-1, (*human Tcell leukemia virus*) que contienen otros genes que permiten una activación transcripcional. Visna, prototipo de los lentivirus, y HIV-1 (*human immunodeficiency virus*), agente causal del SIDA. MMTV (*murine mammary tumor virus*), con incorporación de un superantígeno (Sag) relacionado con la inducción de cáncer de mama.

*c-fes*, *c-mos* u otros, pero en general, lo hacen en detrimento de sus propios genes, con delecciones parciales de *gag*, *pol*, *env*, configurando por tanto virus defectivos transformantes pero incapaces de replicar (Fig. 4)<sup>57-59</sup>.

Por ensayos de biología molecular, principalmente por transfección de DNA en células permisivas, se identificaron más de 50 proto-oncogenes. (Tabla 3). En tumores humanos, se pudo aislar, por ejemplo, el oncogen *ras* que di-

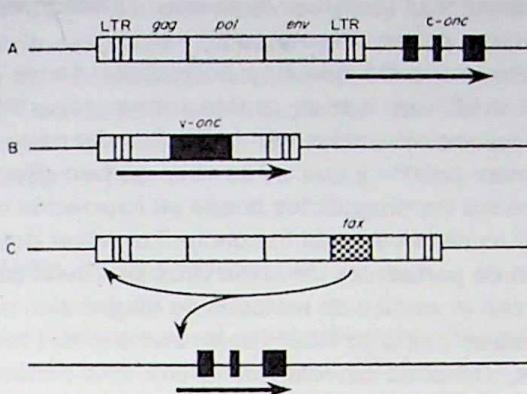


Fig. 4.- Modelos de activación retroviral. A. Integración de un provirus cerca de un oncogen celular: el promotor LTR lo activa y, B. lo incorpora en su genoma en detrimento de genes estructurales lo que lo convierte en un virus defectivo; C. activación transcripcional a través del gen *tax*, en el retrovirus BLV o HTLV-I (adaptado de Weiss<sup>74</sup>).

fiere del proto-oncogen *c-ras* por una mutación puntual que sería la responsable de la transformación neoplásica<sup>57</sup>.

Los proto-oncogenes presentes a lo largo de la escala zoológica desempeñan una función fisiológica como reguladores del ciclo celular. Su activación, sobreexpresión, o mutación producen una desregulación que lleva a la transformación celular (ver más adelante).

### HTLV-I (virus de la leucemia T humana)

En 1980, gracias al descubrimiento del factor de crecimiento de los linfocitos T, hoy conocido como interleuquina 2 (IL-2), que les permitía cultivar linfocitos humanos, Poiesz et al.<sup>42</sup> aislaron el primer retrovirus humano causante de la leucemia T del adulto, el HTLV-I (*human T cell leukemia virus*). Hay que comprender el entusiasmo del momento cuando por fin, después de tantos "fal-

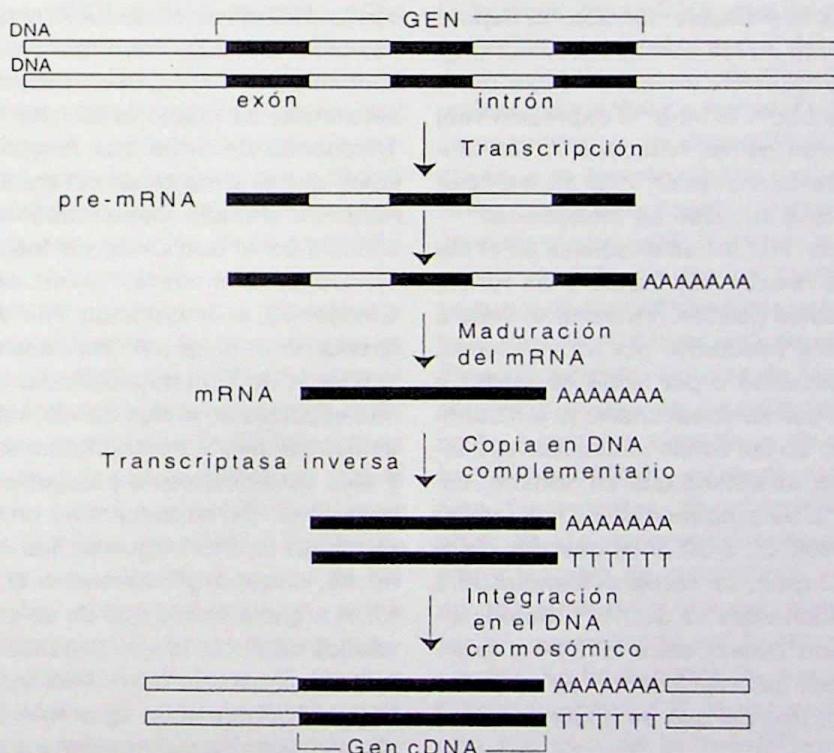


Fig. 5.- Cambio de información génica por medio de retrotransposones. Una vez activado, el gen se transcribe a un RNA mensajero: durante ese proceso se pierde la información comprendida en los intrones ya que no se copian; el RNA a su vez puede estar expuesto a la transcriptasa inversa y de esta manera copiarse a un DNA complementario y reintegrarse en el genoma en forma de provirus: pero la nueva información será diferente de la inicial, ya que se perdió la de los intrones.

sos positivos", se había encontrado al retrovirus oncogénico humano; este hallazgo fue seguido muy pronto por el aislamiento de HTLV-II<sup>60</sup>. Estos virus pertenecen a un subgrupo de oncovirus junto con los retrovirus bovino y simio, respectivamente denominados BLV (*bovine leukemia virus*) y STLV (*simian T cell leukemia virus*). (Tabla 1). In vitro, los HTLV solamente infectan los linfocitos T; ello explica por qué no pudieron ser aislados hasta el descubrimiento de IL-2, factor indispensable para su cultivo. El virus emplea el receptor de IL-2 para penetrar en el linfocito CD4 con la consiguiente activación de IL-2, lo que llevaría progresivamente a una proliferación celular autocrina, a inmortalización y eventualmente a transformación leucémica. Contrariamente a los retrovirus aviares y murinos, los HTLV no incorporan oncogenes celulares en su genoma ni se integran en un sitio determinado. La replicación viral es regulada por dos genes adicionales *tax* y *rex* que parecen complementarse y cuya relación con la transformación neoplásica sigue controvertida. El genoma viral contiene además un gen *pro* que codifica para la proteasa, función no dependiente de *gag* como en los demás retrovirus (Fig. 3). No hay duda que HTLV-I es la causa de la leucemia T del adulto<sup>61</sup>. In vitro, la expresión viral induce proliferación de los linfocitos T. Sin embargo, no se detecta expresión viral en las células leucémicas cuyo fenotipo es monoclonal.

La infección con HTLV-I es endémica en el sur del Japón, en la cuenca del Caribe y en África; los portadores sanos pueden transmitir el virus a través de linfocitos infectados por transfusiones, por relaciones sexuales o por leche de madre a hijo, lo que hace que se desaconseje el amamantamiento materno en las zonas endémicas del Japón. Actualmente, se estima que un portador tiene menos del 1% de probabilidad de desarrollar una leucemia y sólo 20 a 30 años después de la infección<sup>61</sup>. En Japón, la seroprevalencia para HTLV-I en hemodonantes es del 8%<sup>62</sup>. Se encontró una asociación causal entre HTLV-I y lesiones neurológicas, principalmente en la paraparesia espástica tropical que es endémica en el Caribe<sup>63</sup>.

En cuanto al HTLV-II, su asociación con cáncer sigue controvertida, pese a haber sido encontrado inicialmente en un caso de leucemia a cé-

lulas vellosas (*hairy cell leukemia*), y ulteriormente en unos pocos casos más<sup>60</sup>.

Hoy se sabe que hay portadores sanos de HTLV-I/II en varias poblaciones repartidas globalmente<sup>64</sup> –incluso en los Indios del norte de nuestro país<sup>65</sup>– y que estos virus se han difundido entre los drogadictos donde su asociación con HIV es cada vez más frecuente. La mayor detección de portadores de estos virus está relacionada con el empleo de métodos de diagnóstico más precisos como la PCR (*polymerase chain reaction*) capaz de detectar hasta una sola molécula de provirus.

### HIV y cáncer

La aparición de HIV muy poco tiempo después de HTLV-I planteó el problema de su ubicación dentro de la familia Retroviridae. Para Gallo et al<sup>52</sup>, el nuevo virus pertenecía a los oncornavirus como HTLV-III por su similitud con BLV (*bovine leukemia virus*); en cambio, Montagnier et al<sup>53</sup> lo ubicaban entre los lentivirus como virus citolítico, con la denominación de LAV (*lymphadenopathy-associated virus*); mientras que Levy et al<sup>56</sup> lo denominaban ARV (*AIDS-related virus*). En consecuencia, se reunió el Comité Internacional de Taxonomía de Virus que resolvió por 12 de 15 votos que el virus causante de SIDA se denominara HIV (*human immunodeficiency virus*), ubicándolo en la subfamilia de los lentivirus (Tabla 1). De esta manera, al no ser considerado oncogénico, se le quitaba a HIV una participación directa en el desarrollo de neoplasias. Se conocen virus de inmunodeficiencia adquirida en varias especies animales donde, tales los casos de gatos, bovinos y hasta primates, serían ubicuos y sólo ocasionalmente patógenos. Por qué en el hombre el HIV se transformó en la causa de una pandemia de SIDA sigue siendo una incógnita. De hecho, Duesberg<sup>67</sup> cuestionó el origen viral del SIDA argumentando que no se cumplían los postulados de Koch, lo que desencadenó una importante controversia entre virólogos de renombre. Hoy no queda duda que HIV es la causa del SIDA. Frente al efecto citolítico primordial del virus, su asociación con ciertas neoplasias es de difícil interpretación. Hay evidencias de que el sarcoma de Kaposi se debería a un virus Her-

pes<sup>68</sup>. En cuanto al linfoma B, hoy se considera que lo desarrollan hasta el 40% de los portadores de HIV de larga latencia<sup>69</sup>: en 4 de estos casos<sup>70</sup> se detectó una integración de HIV en las células tumorales en la vecindad del proto-oncogen *c-fps*.

## Origen de los retrovirus

Los retrovirus, al igual que otros parásitos intracelulares, coexisten con su huésped natural en forma tal que se posibilite la sobrevida de ambos. Esta es la situación de los retrovirus endógenos que ocuparían alrededor del 0,1% del genoma celular transmitiéndose de generación a generación en toda la escala zoológica, incluyendo el hombre. Se les sigue buscando una función determinada<sup>71-75</sup>. Aparentemente, los virus endógenos tipo C (virus de Gross) serían patógenos sólo en condiciones artificiales de laboratorio induciendo sarcoma-leucemia, y raramente en la naturaleza. En cuanto a los retrovirus exógenos, que incluyen a los HTLV y HIV humanos y a los STLV y SIV simios, se transmiten horizontalmente de un individuo a otro. Se ha postulado que se originaron en África, donde son endémicos, por pasaje de una especie a otra, por ejemplo de roedor a simio y de simio a hombre: sería lógico suponer –especialmente para nosotros que trabajamos con una exacerbación de la expresión de estos virus en el laboratorio– que tales pasajes aumentarían progresivamente su patogenicidad. Siguiendo esta línea de pensamiento, se puede deducir que la aparición de una "epidemia" de linfoma en los babuinos de la colonia de Boris Lapin en Sukhumi se originó con la inoculación de sangre de pacientes con leucemia, ya que el STLV aislado de estos animales<sup>76</sup> tiene una homología mayor del 82% con HTLV-I. De la misma manera, se puede cuestionar el uso de los retrovirus murinos, aunque defectivos, como vectores para incorporar un nuevo gen en la terapia génica<sup>74, 75</sup>. El xenotransplante de órganos también sería objetado, ya que recientemente se ha comprobado que retrovirus endógenos de cerdo pueden transmitirse a células humanas en cultivo, y que además estos virus son capaces de rescatar un vector retroviral (virus de Moloney) adquiriendo resistencia a la lisis por complemento humano<sup>77</sup>.

## La década del 90

### Oncogenes, anti-oncogenes y apoptosis

Los oncogenes tendrían un efecto positivo sobre la proliferación celular normal. A partir de 1984, llamó la atención que tumores hereditarios como el retinoblastoma, el tumor de Wilms, y otros, estuvieran asociados a la falta o inactivación de los dos alelos de un gen determinado<sup>78</sup>. A estos genes ausentes o inactivados se los considera como anti-oncogenes o genes supresores de tumor, postulándose que su delección eliminaría "un freno" que mantenía la célula en el estado normal, con la consiguiente expansión clonal neoplásica. El concepto de antioncogen se ve apoyado por experimentos muy anteriores, inexplicables en su momento: la fusión de una célula normal con una neoplásica muchas veces daba origen a un híbrido normal<sup>79</sup>, lo que sugería que a la célula transformada le faltaba algo.

Se considera actualmente que un cáncer surge como consecuencia de una secuencia de alteraciones en el DNA genómico que involucra activación de oncogenes y delecciones de anti-oncogenes, lo que eventualmente llevaría a una proliferación celular anormal. Durante este proceso se produciría un desequilibrio entre la división celular y la muerte celular programada, o apoptosis, que puede llegar a determinar la tasa de crecimiento tumoral. Estamos acostumbrados a asociar a un tumor con un "aumento" de células, pero puede también considerarse como el resultado de una "disminución" de la muerte celular. Paradójicamente, algunos de los oncogenes que estimulan la división y proliferación de la célula, como *c-myc* por ejemplo, a su vez la conducen hacia la apoptosis, evitando así su transformación. Sin embargo, por el mismo juego homeostático de los diversos oncogenes, y anti-oncogenes y factores de crecimiento, el resultado puede apartarse de lo normal, impidiendo la apoptosis y permitiendo así la transformación neoplásica. Se ha demostrado que el oncogen *bcl-2* (*B-cell lymphoma-2*) puede ser considerado "el gen supresor de la muerte" ya que bloquea el camino hacia la apoptosis, inhibiendo en este sentido el efecto de *c-myc*<sup>80</sup>. Todos los linfocitos expresan la proteína *bcl-2*, la que se encuentra muy aumentada en linfomas B: esto se debería a la translocación t (14-18) que pone al gen

bcl-2 bajo el control de un gen promotor de la inmunoglobulina, aumentando su expresión<sup>81</sup>. Recientemente, se ha encontrado una situación semejante en la leucemia mieloide crónica, donde el cromosoma Philadelphia resulta de la translocación t (9-22) que a su vez activa los oncogenes *bcr-abl* que se comportan también como genes supresores de la apoptosis. En consecuencia, estos linfomas y leucemias se deberían inicialmente a la acumulación progresiva de células, lo que podría homologarse a la etapa de inmortalización celular como "primer evento" en la transformación por oncogenes en cultivos *in vitro*. Con el paso del tiempo, la concomitante expresión del oncogen *c-myc* en estos linfomas donde los linfocitos sobreviven más de lo normal, llevaría eventualmente a un "segundo evento" que completaría la transformación neoplásica; esta "colaboración" de *c-myc* con *bcl-2* ha podido ser demostrada *in vitro*. Esta progresión hacia la neoplasia se vería confirmada por el hecho de que linfomas B que surgen en pacientes transplantados suelen retroceder al suspender tempranamente la terapia inmunosupresora. Además, estos linfomas son muy sensibles a la terapia con cladribine, droga que actúa induciendo la apoptosis<sup>82</sup>.

Interesante es la historia del gen y de la proteína p53. Inicialmente considerado como oncogen fue luego categorizado como anti-oncogen; motivo de sólo 3 publicaciones sobre p53 en 1983 pasó a ser seleccionado como "la molécula del año" en 1993, con más de 4500 artículos sobre el tema en el último año. Se demostró que la función de p53 es la de "protector del genoma", ade-

más de la ejercida como anti-oncogen o supresor de tumor: se encuentra p53 mutado o ausente en la mayoría de los tumores estudiados<sup>83</sup>, dejando así a la célula desprotegida frente a los impactos oncogénicos. Ultimamente, se ha atribuido al anti-oncogen p16 el mismo comportamiento que a p53<sup>84</sup> y al oncogen MDM2 (*murine double minute-2*) el mismo que a *c-myc*<sup>85</sup>; seguramente, ambas listas contrapuestas seguirán aumentando. Finalmente, se vislumbra que la resistencia a drogas quimioterápicas está también mediada por mecanismos de inhibición de la apoptosis<sup>86, 87</sup>.

Por todo lo antedicho se llega a la noción de que la transformación neoplásica es una consecuencia de varios eventos génicos, como Vogelstein et al<sup>87</sup> lo han enfatizado a repetición, configurando así la actual teoría génica del cáncer (Fig. 6).

No hay que perder de vista que la transformación de una célula no significa el desarrollo de un tumor; lo más probable es que esa célula sea eliminada. Si es que sobrevive y forma un clon transformado, éste tendrá que afrontar todos los mecanismos inmunológicos que hacen a la relación tumor-huésped, y que fueron objeto del Simposio 1996 sobre "Reevaluación de la inmunidad tumoral"<sup>88</sup>. En un artículo muy reciente, Bailar y Gornik<sup>89</sup> insisten en que "la guerra contra el cáncer" iniciada en 1971 no ha terminado: según sus palabras, el efecto de los nuevos tratamientos es desalentador y no consigue afectar las tasas de mortalidad; invocan en consecuencia un vuelco hacia la prevención del cáncer en reemplazo de "falsas esperanzas en una curación universal".

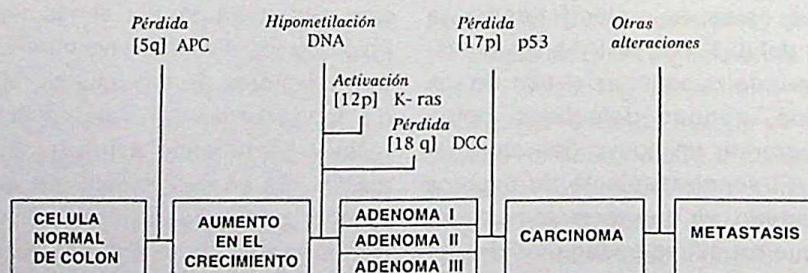


Fig. 6.- Un modelo genético para la tumorigénesis colorrectal: pérdida del gen APC (*adenomatous polyposis coli*) en cromosoma 5; hipometilación del DNA seguida de activación del oncogen K-ras en cromosoma 12 y pérdida del gen DCC (*deleted in colorectal cancer*) en cromosoma 18; pérdida o mutación del gen p53 en cromosoma 17; siguen otras alteraciones génicas responsables del desarrollo de metástasis (adaptado de Fearson y Vogelstein<sup>87</sup>).

## Este Simposio

El tema apoptosis ha tomado un auge inesperado en los últimos 10 años: se ha comprobado que la marcada estimulación de determinados linfocitos T por superantígenos conduce eventualmente a su destrucción por apoptosis. En el ratón, el superantígeno codificado por el retrovirus MMTV (*murine mammary tumor virus*) además de inducir la proliferación seguido de deleción de la subpoblación de los linfocitos T que lo reconocen, favorece el desarrollo de cáncer de mama. Esto es uno de los dos temas centrales de este Simposio en que el retrovirus MMTV es la vedette indiscutible. El desarrollo de este tema estará a cargo de la Dra. Isabel Piazzon de nuestro laboratorio y de nuestros invitados especiales, Dres. Hans Acha-Orbea y Susan Ross. Además, la Dra. Beatriz Pogo presentará datos que sugieren la presencia de una actividad retroviral semejante a la del ratón en mujeres con cáncer de mama; esto explicaría nuestros "antiguos" hallazgos en los sueros de estas enfermas.

A nivel personal, es una gran satisfacción comprobar que habiéndose iniciado nuestro laboratorio hace 40 años con "el virus de la leucemia murina (MuLV)" se llega hoy, después de múltiples ramificaciones, a investigar en profundidad "al virus del cáncer de mama murino (MMTV)"; ojalá puedan confirmarse las estrechas relaciones entre ambos virus.

La segunda parte de este Simposio está dedicada en cierto sentido a la etiología hormonal del cáncer de mama. La inducción de estos tumores con acetato de medroxiprogesterona fue un hallazgo inesperado en nuestro laboratorio mientras se investigaba el efecto de esta hormona sobre la fibroma-togénesis provocada por la implantación subcutánea de un cuerpo extraño (cilindro de vidrio). Los resultados obtenidos en los últimos 12 años serán presentados por la Dra. Claudia Lanari, mientras que el rol de los distintos factores de crecimiento estarán a cargo de la Dra. Patricia Elizalde. Finalmente, el Dr. José Russo nos dará una visión integral de la carcinogénesis mamaria.

Con estos dos enfoques del problema, el viral y el hormonal, se redondean los dos "pilares" de lo hallado en nuestro laboratorio completándose con un tercer "pilar" que fue objeto del Simposio 1996 sobre "Reevaluación de la inmunidad tumoral"<sup>88</sup>.

## Los descubrimientos sobresalientes

Es interesante hacer un balance de lo aprendido durante estas 4 décadas, destacando cómo a través de distintas hipótesis, la etiología del cáncer pasó de la *teoría viral* a la actual *teoría génica*, como resultado de los siguientes descubrimientos trascendentales:

- 1) en ratones y en aves, se encuentran leucemias y sarcomas inducidos por virus (Premio Nobel 1966, Rous);
- 2) el virus inductor de leucemia en el ratón es endógeno (teoría del oncogen);
- 3) la transcriptasa reversa permite la incorporación del virus al genoma (Premio Nobel 1979, Temin y Baltimore);
- 4) el retrovirus es sólo un vector del oncogen, el cual pertenece al genoma celular (Premio Nobel 1988, Bishop y Varmus);
- 5) se aisla el retrovirus oncogénico humano causante de la leucemia T del adulto, HTLV-I;
- 6) se aisla el retrovirus citolítico, lentivirus humano HIV, causante de la pandemia de SIDA;
- 7) se encuentran anti-oncogenes o genes supresores de tumor;
- 8) se enfatiza la homeostasis genética con diferenciación celular versus apoptosis;
- 9) se demuestra que la transformación neoplásica es la resultante de una cascada de eventos tales como errores de DNA no reparados, bloqueo de apoptosis, activación de oncogenes, deleción de antioncogenes, etc.;
- 7) se detectan HTLV-I/II en portadores sanos y en drogadictos en asociación con HIV;
- 8) se detectan secuencias MMTV-simil en suero de enfermas con cáncer de mama;
- 9) los retrovirus endógenos ocupan el 0,1% del genoma humano, ¿qué función tienen? Esta es la pregunta que más intriga a los retrovirologos en la actualidad.

No hay duda que hemos aprendido mucho en estos 40 años pese a que queda mucho por "descubrir" antes de ganar la guerra contra el cáncer.

**Agradecimientos:** Esta revisión junto con la del Simposio 1996 engloba los múltiples trabajos que llevaron a cabo más de 60 investigadores durante 40 años en la Sección Leucemia Experimental hoy División Medicina Experimental e Instituto Leucemia Experimental ILEX-CONICET. Para la realización de estos trabajos se contó con la ayuda del CONICET (Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas), de FUNDALEU (Fun-

dación para combatir la Leucemia), de la Fundación Roemmers, y de varias otras instituciones. A todos nuestro agradecimiento.

## Summary

### Retrovirus and cancer revisited

The discovery of RNA oncoviruses dates back to 1911 when Rous isolated the avian virus which is the cause of the sarcoma which bears his name and to 1936 when Bittner related the "milk factor" to the development of murine mammary cancer. During the 50s, the successive descriptions of virus-induced sarcoma-leukemias in mice led to the oncogene theory and gradually to the postulation of a viral origin of cancer. The discovery of the reverse transcriptase in 1970 led to the establishment of the Retroviridae family including both onco and lentiviruses. The decade of the 80s was marked by three fundamental discoveries which altered the concept of oncovirus: 1) oncogenes became established as part of the cellular genome converting retroviruses into occasional vectors of the oncogene; 2) as the T cell growth factor, interleukin-2, became available, the first human oncovirus, HTLV-I, was isolated and proved to be the cause of adult T cell leukemia; 3) HIV was isolated and classified as a lentivirus and as the cause of AIDS. A few years later the antioncogenes were discovered. Both oncogenes and anti-oncogenes were found to collaborate in the cell cycle, maintaining an equilibrium between proliferation and apoptosis. Today the *viral theory* has been replaced by the *gene theory* of cancer which postulates that neoplastic transformation is the result of a cascade of events which include uncorrected DNA errors, blocking of apoptosis, activation of oncogenes and deletion of anti-oncogenes. At the present time, the intriguing question for retrovirologists is the role played by endogenous retroviruses which in man occupy up to 0,1% of the cellular genome.

## Bibliografía

- Friend C. The coming of age of tumor virology: Presidential Address. *Cancer Res* 1977; 37: 1255-63.
- Ellerman V, Bang O. Experimentellen Leukamie bei Huhnern. *Zentr Bakteriol* 1908; 46: 595-609.
- Rous P. A sarcoma of the fowl transmissible by an agent separable from the tumor cells. *J Exp Med* 1911; 13: 397-411.
- Bryan WR. A reconsideration of the nature of the neoplastic reaction in the light of recent advances in cancer research. *J Natl Cancer Inst* 1960; 24: 221-51.
- Boveri T. Zur Frage der Entstehung maligner Tumoren. Jena: Verlag Gustav Fischer, 1914.
- Bittner JJ. Some possible effects of nursing on the mammary gland tumor incidence in mice. *Science* 1936; 84: 162-8.
- Gross L. "Spontaneous" leukemia developing in C3H mice following inoculation, in infancy, with AK-leukemic extracts, or Ak-embryos. *Proc Soc Exp Biol Med* 1951; 76: 27-32.
- Graffi A. Chloroleukemia of mice. *Ann NY Acad Sci* 1957; 68: 540-8.
- Friend C. Cell-free transmission in adult Swiss mice of a disease having the character of a leukemia. *J Exptl Med* 1957; 105: 307-18.
- Moloney JB. Biological studies on a lymphoid-leukemia virus extracted from sarcoma 37. *J Natl Cancer Inst* 1960; 24: 933-51.
- Gross L. Oncogenic viruses. 2º edition, New York: Pergamon Press, 1970.
- Sinkovics JG. Viral leukemias in mice. *Ann Rev Microbiol* 1962; 16: 75-100.
- Vogt PK. Peyton Rous: Homage and appraisal. *FASEB* 1996; 10: 1559-62.
- Lieberman M, Kaplan HS. Leukemogenic activity of filtrates from radiation-induced lymphoid tumors of mice. *Science* 1959; 130: 387-9.
- Kaplan HS. On the natural history of the murine leukemias: Presidential address. *Cancer Res* 1967; 27: 1325-38.
- Huebner RJ, Todaro GJ. Oncogenes of RNA tumor viruses as determinants of cancer. *Proc Natl Acad Sci* 1969; 64: 1087-94.
- Pasqualini CD, Holmberg EAD, Rabasa SL, Pavlovsky A. Immunity to Sarcoma 180 and the induction of a leukemia-like condition. *Cancer Res* 1961; 21: 387-9.
- Pasqualini CD, Holmberg EAD, Rabasa SL, Pavlovsky A. Leukemia induced by Sarcoma 180 and the development of reciprocal immunity. *Cancer Res* 1963; 23: 974-7.
- Holmberg EAD, Pasqualini CD, Arini E, Pavlovsky A, Rabasa SL. Leukemogenic effect of radioactive phosphorus in adult and fatally-exposed BALB mice. *Cancer Res* 1964; 24: 1745-8.
- Holmberg EAD, Vásquez C, Pasqualini CD, Pavlovsky A, Rabasa SL. Acellular passage of  $^{32}\text{P}$ -induced leukemia: an electron microscopic study. *Cancer Res* 1967; 27: 198-204.
- Saal F, Pasqualini CD, Rabasa SL. Acción leucémogena de los rayos X en ratones BALB; efecto de la esplenectomía. *Medicina (Buenos Aires)* 1970; 30: 365-70.
- Ferrer JF. Cell-surface and virion envelope antigens shared by radiation leukemia virus (RadLV) and other C-type viruses. *Int J Cancer* 1973; 12: 378-82.
- Braylan RC, Tkaczewski LZ, Colmerauer MEM, Pasqualini CD. Intracisternal viral particles in murine leukemias. *Medicina (Buenos Aires)* 1970; 30: 459-64.
- Temin HM, Mizutani S. RNA-dependent DNA polymerase in virions of Rous sarcoma virus. *Nature* 1970; 226, 1211-3.
- Baltimore D. RNA-dependent DNA polymerase in

- virions of RNA tumour viruses. *Nature* 1970; 226: 1209-11.
26. Pimentel E. Human oncovirology. *Biochim Biophys Acta* 1979; 560: 169-216.
  27. Pasqualini CD, Pavlovsky A, Holmberg EAD, Rabasa SL. Development of murine leukemia after inoculation of human lymphomas. *Cancer Res* 1968; 28: 788-92.
  28. Pasqualini CD. Comparative leukemia: of mice and men. *Medicina (Buenos Aires)* 1981; 41 (Supl): 199-206.
  29. Pasqualini CD. Etiología del cáncer: del ratón al hombre. *Medicina (Buenos Aires)* 1985; 45: 65-76.
  30. Pasqualini CD, Saal F, Braylan RC, Rabasa SL. Induction of leukemia in BALB mice by allogeneic AKR leukemic cells. *Int J Cancer* 1970; 5: 338-45.
  31. Saal F, Pasqualini CD, Rabasa SL. Study of the Gross antigen in BALB leukemias and tumors of different origin. *Cancer Res* 1971; 31: 23-7.
  32. Pasqualini CD, Sen L, Saal F, Schwartz L, Tkaczevski LZ. Tumor development in mice bearing a plastic cylinder and inoculated with human neoplastic cells. *JNCI* 1973; 51: 283-6.
  33. Pasqualini CD, Di Girolamo MTV, Segal A, Laguens RP. Antibodies cross-reacting with Gross virus detected in human leukemia and Hodgkin lymphoma. *Medicina (Buenos Aires)* 1980; 40: 289-94.
  34. Basombrío MA, Mayer AMS, Rivell C. An increased incidence of lymphoma in mice inoculated with human breast cancer extracts. *Arch Geschwulstforschung* 1977; 47: 679-84.
  35. Segal-Eiras A, Croce MV, Pasqualini CD. Antibodies cross-reacting with mouse retrovirus B and C in the sera of both leukemia-lymphoma and mammary cancer patients. *Arch Geschwulstforschung* 1983; 53: 322-7.
  36. Pasqualini CD. Comparative leukemia: From mouse to man. XII International Cancer Congress, Buenos Aires, october 1978.
  37. Basombrío MA. Viral immunity in murine leukemias. XII. International Cancer Congress, Buenos Aires, 1978. In: Advances in Medical Oncology, Research and Education. Vol. 1: Carcinogenesis. GP Margison (ed). New York: Pergamon, 1979; 71-81.
  38. Pasqualini CD, Di Girolamo MTV, Segal A, Laguens RP. Presence in human leukemia and Hodgkin disease of antibodies cross-reacting with Gross virus. IX International Symposium on Comparative Leukemia Research, Sukhumi, Georgia, USSR, 1979. In: Advances in Comparative Leukemia Research. Yohn, Lapin, Blakeslee (eds), Amsterdam: Elsevier North Holland, 1980; 273.
  39. Bergholz V, Kuksova M. Attempts to induce a leukemic process in monkeys with a human "leukemic agent". The result of seven years' observations on experimental monkeys. *Neoplasma* 1965; 12: 593-601.
  40. Lapin BA. Possible ways viral leukemia spreads among the Hamadryas Baboons of the Sukhumi Monkey Colony. In: Comparative Leukemia Research 1973; Leukemogenesis, Biblio. Haematol. No 40, Y Ito, RM Dutcher (eds) Tokyo: University of Tokio Press, 1975; 75-84.
  41. Pasqualini CD. Virus oncogénicos asociados a linfomas en primates incluyendo el hombre. *Sangre* 1980; 25: 667-72.
  42. Poiesz BJ, Ruscetti FW, Gazdar AF, Bunn OA, Minna JD, Gallo RC. Detection and isolation of type C retrovirus particles from fresh and cultured lymphocytes of a patient with cutaneous T-cell lymphoma. *Proc Natl Acad Sci* 1980; 77: 7415-9.
  43. Basombrío MA. Rechazo de tumores no virales por infección con el virus de sarcoma murino. *Medicina (Buenos Aires)* 1977; 37: 127-32.
  44. Basombrío MA, Mayer AMS, Pasqualini CD. Murine sarcoma virus pseudotypes used as immunogens against viral and chemical oncogenesis. *Cancer Res* 1977; 37: 1768-76.
  45. Basombrío MA. Immunity to Friend Virus Complex. Analysis of protection with a sarcoma virus pseudotype. *Arch Geschwulstforschung* 1980; 50: 309-16.
  46. Basombrío MA, Laguens RP. Active immunization against radiation-induced leukemia using a sarcoma virus pseudotype. *Int J Cancer* 1978; 21: 635-8.
  47. Basombrío MA. Genovese J. Bioensayo de neutralización para el virus de leucemia de Friend. *Medicina (Buenos Aires)* 1978; 38: 639-42.
  48. Mayer AMS, Basombrío MA, Pasqualini CD. Immunization against primary, transplanted and spontaneous murine leukemia using a live Moloney Sarcoma Virus vaccine. *Br J Cancer* 1980; 41: 966-75.
  49. Basombrío MA. Resistencia a re-infecciones por el *Trypanosoma cruzi* en ratones chagásicos. *Medicina (Buenos Aires)* 1981; 41 (Supl I): 232-6.
  50. Bishop JM. The molecular genetics of cancer. *Science* 1987; 235: 305-11.
  51. Varmus HE. Form and function of retroviral proviruses. *Science* 1982; 216: 812-20.
  52. Gallo RC, Sarin PS, Gelmann EP, Robert-Guroff M, Richardson E, Kalyanaraman VS, et al. Isolation of human T-cell leukemia virus in Acquired Immune Deficiency Syndrome (AIDS). *Science* 1983; 220: 865-7.
  53. Barré-Sinoussi F, Chermann JC, Rey F, Nugeyre MT, Chamaret S, Gruest J, et al. Isolation of a T-lymphotropic retrovirus from a patient at risk for Acquired Immune Deficiency Syndrome (AIDS). *Science* 1983; 110: 868-71.
  54. Rabasa SL. Premio Nobel de Medicina y Fisiología 1983: los transposones. *Medicina (Buenos Aires)* 1983; 43: 892-3.
  55. Slamon DJ, Kernion JB, Verma IM, Cline MJ. Expression of cellular oncogenes in human malignancies. *Science* 1984; 224: 256-60.
  56. Land H, Parada LF, Weinberg RA. Cellular oncogenes and multistep carcinogenesis. *Science* 1983; 222: 771-4.
  57. Weinberg RA. A molecular basis of cancer. *Scientific American* 1983; 249: 126-42.
  58. Bishop JM. Cellular oncogenes and retroviruses. *Ann Rev Biochem* 1983; 52: 301-86.
  59. Bishop JM. Molecular themes in oncogenesis. *Cell* 1991; 64: 235-8.
  60. Kalyanaraman Vs, Sarngadharan MG, Robert-Guroff M, Miyoshi I, Blayney D, Golde D, Gallo RC. A new subtype of human T-cell leukemia virus (HTLV-II)

- associated with a variant of hairy cell leukemia. *Science* 1982; 218: 571-3.
61. Uchiyama T. Human T cell leukemia virus type I (HTLV-I) and human diseases. *Ann Rev Immunol* 1977; 15: 15-37.
  62. Yamagishi K. Human T-lymphotropic virus type 1 in Japan. *Lancet* 1994; 343: 213-6.
  63. Gessain A, Barin F, Vernant JC, Gout O, Maurs L, Calendar A, de Thé G. Antibodies to human T lymphotropic virus type I in patients with tropical spastic paraparesis. *Lancet* 1985; 2: 407-10.
  64. Lairmore MD, Jacobson S, Gracia F, De BK, Castillo L, Larreategui M, et al. Isolation of human T cell lymphotropic virus type 2 from Guaymimi Indians in Panama. *Proc Natl Acad Sci* 1990; 87: 8840-4.
  65. Ferrer JF, Esteban E, Dube S, Basombrio MA, Segovia A, Peralta-Ramos M, et al. Endemic infection with human T cell leukemia/lymphoma virus Type IIB in Argentinean and Paraguayan Indians: epidemiology and molecular characteristics. *J Infect Dis* 1996; 174: 944-53.
  66. Levy JA, Hoffman AD, Kramer SD, et al. Isolation of lymphocytotropic retroviruses from San Francisco patients with AIDS. *Science* 1984; 225: 840-3.
  67. Duesberg PH. Retroviruses as carcinogens and pathogens: Expectations and reality. *Cancer Res* 1987; 47: 1199-1220.
  68. Moore PS, Chang Y. Detection of herpes-like DNA sequences in Kaposi sarcoma in patients with and without HIV infection. *N Engl J Med* 1995; 332: 1181-5.
  69. Rabkin CS, Biggar RJ, Horn JW. Increasing incidence of cancers associated with the human immunodeficiency virus epidemic. *Int J Cancer* 1991; 43: 692-6.
  70. Shiramizu B, Herndier BG, McGrath MS. Identification of a common clonal immunodeficiency virus integration site in human immunodeficiency virus-associated lymphomas. *Cancer Res* 1994; 54: 2069-72.
  71. Lower R, Lower J, Kurth R. The viruses in all of us: Characteristics and biological significance of human endogenous retrovirus sequences. *Proc Natl Acad Sci* 1996; 93: 5177-5184.
  72. Mager DL, Freeman D. HERV-H Endogenous retroviruses: Presence in the New World Branch but amplification in the Old World Primate Lineage.
  73. Urnovitz HB, Murphy WH. Human endogenous retroviruses: Nature, occurrence, and clinical implications in human disease. *Clin Microbiol Rev* 1996; 9: 72-99.
  74. Weiss RA. Retrovirus and human cancer. *Sem Cancer Biol* 1992; 3: 321-8.
  75. Pasqualini CD. El impacto de los retrovirus en la oncoinmunología: desde los oncogenes hasta los superantígenos. *Medicina (Buenos Aires)* 1993; 53: 469-72.
  76. Yakovleva L, Chikobava M, Lindzhiia L, Schatzl H, von der Helm K, Lapin B. Interrelation between morpho-immunological phenotype and presence of T-lymphotropic retroviral genome in DNA of primate peripheral T-cell malignant lymphoma. *Tumor Res, Japan* 1996; 31: 99-109.
  77. Patience C, Takeuchi Y, Weiss RA. Infection of human cells by an endogenous retrovirus of pig. *Nature Med* 1997; 3: 282-8.
  78. Knudson AG. Heredity, cancer, oncogenes and antioncogenes. *Cancer Res* 1985; 45: 1437-43.
  79. Harris H, Miller OJ, Klein G, Worst P, Tachibana T. Suppression of malignancy by cell fusion. *Nature* 1969; 223: 363-5.
  80. Korsmeyer S. Bcl-2 initiates a new category of oncogenes: regulators of cell death. *Blood* 1992; 80: 879-84.
  81. Pasqualini CD. Apoptosis y cáncer. *Medicina (Buenos Aires)* 1994; 54: 697-9.
  82. Beutler E. Cladribine (2-chlorodeoxyadenosine). *Lancet* 1992; 340: 952-6.
  83. Friend S. p53: A glimpse at the puppet behind the shadow play. *Science* 1994; 265: 334-6.
  84. Bonetta L. Open questions on p16. *Nature* 1994; 370: 180-2.
  85. Meltzer PS. MDM2 and p53. *J Natl Cancer Inst* 1994; 86: 1265-8.
  86. Duke RC, Ojcius DM, Young JD. Cell suicide in health and disease. *Scientific American* 1996; 262: 48-55.
  87. Fearon ER, Vogelstein B. A genetic model for colorectal tumorogenesis. *Cell* 1990; 61: 763-6.
  88. Pasqualini CD. Visión retrospectiva de la inmunidad tumoral. *Medicina (Buenos Aires)* 1996; 56 (Supl I): 3-12.
  89. Bailar III JC, Gornick HL. Cancer undefeated. *N Engl J Med* 1997; 336: 1569-74.

## LA PORTADA

**Marcia Schwartz. Vértigo.** Oleo sobre tela; 1,60 x 1,80 m.  
 Primer Premio, Salón Anual Manuel Belgrano, 1992.  
 Cortesía del Museo de Artes Plásticas Eduardo Sívori,  
 Gobierno de la Ciudad de Buenos Aires