

# **Virus Epstein Barr: primer oncovirus humano descubierto y su relación con el desarrollo de enfermedades hematooncológicas como el Linfoma de Burkitt.**

## **Epstein Barr virus: first human oncovirus discovered and its relationship with the development of hematooncological diseases such as Burkitt's lymphoma**

Luisa Alejandra Vindas Angulo <sup>(1)</sup>

<sup>(1)</sup>Laboratorio Clínico, Hospital San Juan de Dios, CCSS

### **Resumen**

El descubrimiento de la relación entre procesos infecciosos virales y el desarrollo de enfermedades oncológicas tiene más de un siglo de conocerse. Al inicio estos sólo fueron de interés para elucidar enfermedades que afectaban animales domésticos; sin embargo con el paso de los años se realizaron otras investigaciones que buscaban atribuirle un origen infeccioso a cierto tipos de cáncer en humanos. El virus del Epstein Barr es un oncovirus y su asociación con el Linfoma de Burkitt fue descubierta casi al mismo momento en el que este fue descrito por primera vez. Los genes que permiten la latencia de Epstein Barr son los principalmente relacionados con el desarrollo de ésta y otras patologías hematooncológicas.

**Palabras Clave:** Oncovirus, Epstein Barr, oncogenes, linfoma de Burkitt

### **Abstract**

The discovery of the relationship between viral infectious processes and the development of oncological diseases has been known for more than a century. At first, these were only of interest for elucidating diseases affecting domestic animals; however, over the years, other research was carried out that sought to attribute an infectious origin to certain types of cancer in humans. The Epstein Barr virus is an oncovirus and its association with Burkitt's lymphoma was discovered at about the same time it was first described. The genes that allow

the latency of Epstein Barr are those mainly related to the development of this and other hematological pathologies.

**Key Words:** Oncovirus, Epstein Barr, oncogenes, Burkitt's lymphoma

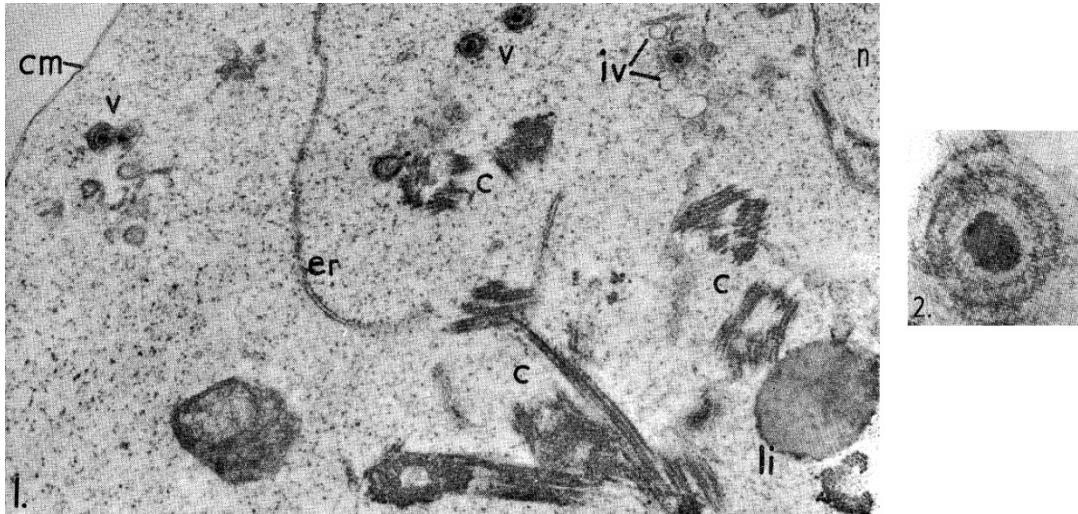
## **Introducción**

Siempre ha existido un gran interés en el estudio de las infecciones virales pues estos poseen la capacidad de infectar todo tipo de organismos, pueden considerarse omnipresentes y se relacionan con el desarrollo de muchas enfermedades humanas <sup>(1)</sup>. Actualmente los virus se han logrado clasificar según su potencial oncogénico y aquellos conocidos como oncovirus están implicados en aproximadamente 12% de todos los tipos de cáncer en humanos. Ahora, a pesar de que una gran mayoría de la población convive con alguno de ellos, no todos desarrollarán la enfermedad, pues para esto, debe darse la interacción entre factores virales, otros factores relacionados con el huésped y además con el ambiente <sup>(2)(3)</sup>.

Se reconocen siete oncovirus en humanos, entre estos se incluye el Epstein Barr Virus (EBV) <sup>(3)</sup>, el cuál a través de oncogenes virales y la síntesis de oncoproteínas puede interactuar con varias vías de señalización principalmente dedicadas al control del ciclo celular y la apoptosis. <sup>(2)(4)</sup>.

## **Descubrimiento del EBV**

En 1964 Anthony Epstein, Yvonne Barr y Bert Achong descubren el primer virus oncogénico humano, actualmente conocido como el virus del Epstein Barr. Unos años antes el médico inglés Denis Burkitt, quien residía en Uganda, había caracterizado una enfermedad maligna muy común entre los niños africanos, actualmente reconocida como el linfoma de Burkitt. Dadas las características de distribución geográfica de la enfermedad, Epstein decide utilizar linfoblastos de linfoma de Burkitt (LB) para hacer sus estudios e investigar sobre el posible origen infeccioso del padecimiento. Finalmente, en marzo de 1964 publica en The Lancet evidencia sobre la presencia de partículas virales por microscopía electrónica en estas células malignas. Ver figura 1 <sup>(5)(6)(7)</sup>



**Figura 1** Se muestra un linfoblasto cultivado derivado de un linfoma de Burkitt. Por microscopía electrónica se observa: (cm) membrana celular; (n) núcleo; (v) partículas virales completas; (iv) partículas virales inmaduras; (c) cristales; (li) cuerpos lipídicos; (er) retículo endoplásmico rugoso. A la derecha una imagen ampliada de la partícula viral. Tomado de <sup>(5)</sup>

El descubrimiento de Epstein marcó el inicio de una serie de investigaciones relacionadas a tratar de dilucidar la relación entre la infección, la latencia del virus Epstein Barr y el desarrollo de tumores. El linfoma de Burkitt es uno de los más estudiados, sin embargo, no solamente se hicieron estudios en este tipo de tumor, sino que también en linfoma de Hodgkin y otras neoplasias linfoproliferativas <sup>(8)</sup>.

En 1989 se le relaciona directamente con neoplasias linfoproliferativas en pacientes inmunocomprometidos y varios investigadores comienzan a descubrir y relacionar algunas proteínas del virus con el desarrollo de tumores. Para este año se publica un artículo en el que se identifica la expresión de la proteína nuclear de EBV, específicamente la número 2 (EBNA-2) y la proteína latente de membrana (MLP,) en linfocitos B de neoplasias linfoproliferativas de pacientes inmunocomprometidos. <sup>(9)</sup>

### **Oncoproteínas y desarrollo de cáncer**

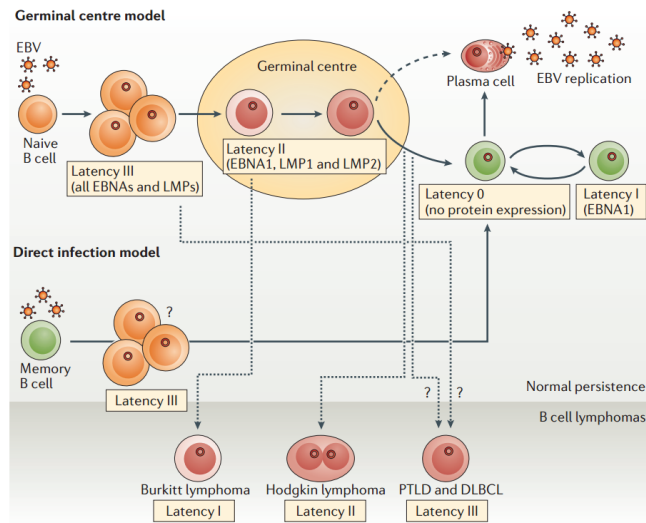
Después del descubrimiento del virus y su relación con los linfocitos, se realizaron varios experimentos donde se confirmaba la capacidad transformante del virus en células de cultivo. El EBV infecta y transforma células B en líneas celulares linfoblastoides inmortales (LCLs), potencia la expresión del CD226, una proteína que no se expresa en linfocitos B en condiciones normales y que contribuye a una agregación celular anormal que puede estar asociada con el desarrollo de tumores al contribuir en la interacción intercelular <sup>(10)</sup>. El virus Epstein Barr, continúa siendo el agente con mayor capacidad de transformación en

células de cultivo, convierte aproximadamente de un 3-10% de todas las células infectadas en una LCL de crecimiento permanente <sup>(7)</sup>.

La literatura relaciona principalmente a las proteínas responsables de la latencia viral con la tumorigénesis. Sin embargo, algunos otros autores sugieren que las proteínas del ciclo lítico viral también aportan a los tumores <sup>(11)(12)</sup>.

La latencia es una de las principales características relacionadas con el potencial tumorigénico del virus. El genoma latente del virus codifica 5 antígenos nucleares (EBNA), dos proteínas latentes de membrana (LMPs), ARN pequeño no codificante (EBER) y transcritos de la región BamHI-A conocidos como transcritos BART. <sup>(6)(13)(14)</sup>.

La infección primaria del virus establece tres estatus o programas de latencia diferentes, programa de latencia I, II o III, dependiendo de los genes y proteínas de latencia que exprese en ese momento <sup>(13)(7)</sup>. Ver figura 2



**Figura 2** Persistencia del virus en linfocitos B humanos, origen de linfomas asociados al EBV y programas de latencia. Tomado de <sup>(7)</sup>

Cuando hay neoplasias linfoproliferativas o bien cuando se induce la transformación in vitro de LCL se expresa el programa de latencia III, donde se presentan una mayor cantidad de genes de latencia (EBER1/2 RNA, EBNA- proteína líder (EBNA-LP), EBNA-2, EBNA-3A, B, C, EBNA-1, LMP-2A/B, LMP-1, BART). El linfoma de Hodgkin y el carcinoma nasofaríngeo (NPC)(también asociado a la infección con EBV) expresan el programa de latencia II: EBER1/2 RNA, EBNA-1, LMP-2A/B, LMP-1 (tipo IIa) o EBNA2 (tipo IIb), BART RNA). El LB expresa el programa de latencia I: (EBER1/2 RNA, EBNA-1, LMP

2A/B, BART RNA) <sup>(13)</sup>

En el cuadro #1 se menciona las principales funciones de las proteínas.

**Cuadro 1.** Papel de las proteínas de latencia de EBV. Traducido y modificado de <sup>(13)</sup>.

EBNA-1	Proteína de unión secuencia específica a elementos de ADN de EBV; proteína de unión no secuencia específica a cromosomas; transactivador de genes de latencia del virus o del huésped; responsable de la replicación del episoma, segregación y persistencia del genoma viral; involucrada en la degradación del p53 y oncogénesis.
EBNA-LP	Coactivador transcripcional de genes virales y celulares dependiente de EBNA-2; asociado a sitios cercanos a los puntos de inicio transcripcional; asociado con (co)factores transcripcionales celulares y EBNA-2; elimina los complejos represores situados sobre los sitios promotores o potenciadores; esencial en la transformación de células B mediada por EBV.
EBNA-2	Junto con EBNA-LP activan la transcripción de genes celulares y virales para la transformación; asociado a sitios de ADN localizados en regiones potenciadoras o intergénicas; asociado con (co)factores transcripcionales celulares y EBNA-LP; crítico en la transformación de células B mediada por EBV.
EBNA-3A	Coactivador de EBNA-2; disminuye la transcripción de cMyc y bloquea los efectos de EBNA-2, induce CDKN2 y citoquinas; induce arresto de G1 que es esencial en la transformación de las células B mediada por EBV
EBNA-3B	Coactivador de EBNA-2, prescindible para la transformación de las células B; supresor viral de tumores; aumenta CXCL10; su “knockout” induce tumores LDCGB- like.
EBNA-3C	Activa en forma conjunta con EBNA-2 a genes de CXCR4 y CXCL12; induce CDKN2, citoquinas; media la degradación de RB; atenúa la expresión de H2AX; promueve la proliferación celular; induce arresto de G1; esencial en la transformación de las células B por EBV.
LMP-1	Mimetiza la forma activa de CD40, principal oncogen de EBV; activa NF- $\kappa$ B, JNK la vía de p38; papel crítico en la transformación de células B mediada por EBV.
LMP-2A	Mimetiza la actividad constitutiva del BCR al activar la vía ERK/MAPK; bloquea la señal antígeno dependiente de BCR; induce linfomas B en condiciones transgénicas; es importante pero no esencial en la transformación de linfocitos B in vitro; confiere resistencia de las células B a inhibición por NF- $\kappa$ B y apoptosis.; suprime la diferenciación y promueve la propagación de y motilidad de las células epiteliales.

EBER	ARN más abundante; aumenta la formación de colonias e induce el crecimiento; confiere resistencia a apoptosis dependiente de PKR; induce citoquinas y modula la respuesta inmune innata.
miARNs	Transcripto de BART y BHRF1; se une a Bim, BRUCE, CXCL11, DICER, PUMA; sustenta las células latentes infectadas; interfieren con apoptosis.

### **EBV y linfoma de Burkitt**

El linfoma de Burkitt es una neoplasia muy agresiva clasificada por la Organización Mundial de la Salud como una neoplasia linfoide de células B maduras <sup>(15)</sup>.

Se asocia con la infección por EBV y es uno de los primeros tumores en demostrar la presencia de una traslocación con el oncogen cMyc. Es un linfoma muy agresivo con una capacidad de duplicación celular de 24-48 horas, considerado el tumor humano con el crecimiento más rápido <sup>(16)</sup>.

En África hay una alta prevalencia de linfoma de Burkitt, especialmente en niños y existe una región conocida como el cinturón del linfoma de Burkitt, que precisamente coincide con las regiones endémicas para Malaria <sup>(16)</sup>.

Se definen tres variantes en el linfoma de Burkitt, el endémico, más relacionado al EBV y a la región africana descrita anteriormente; el esporádico, que predomina en regiones donde no hay transmisión de malaria; y el relacionado a inmunosupresión principalmente por el virus de la inmunodeficiencia humana HIV <sup>(17)</sup>. Los tres son similares en morfología, inmunofenotipo y características genéticas, variando únicamente en el mecanismo patogénico que llevó al desarrollo tumoral <sup>(16)</sup>.

Tal como Epstein lo describió en 1964, el EBV se encuentra de forma persistente en estos tumores, por lo que su relación con el desarrollo de linfoma de Burkitt es bastante estrecha. A pesar de que el EBV produce una gran cantidad de proteínas de latencia, sólo EBNA-1 se expresa siempre en los linfomas de Burkitt. Una posible función del EBV en el linfoma de Burkitt es la resistencia a la apoptosis de las células B con una traslocación del cMyc, esto gracias a la expresión de las proteínas EBNA-1, BHRF1, transcritos EBER, por modificaciones epigenéticas y la represión de BIM por medio de LMP1<sup>(16)</sup>.

El EBV permanece de por vida en los huéspedes sanos en las células B de memoria, sin embargo, el origen de la célula tumoral que da origen a linfoma de Burkitt es controversial. Algunos sugieren que su origen es en el centro germinal y otros en las células B de memoria <sup>(16)</sup>.

El linfoma de Burkitt ocurre tanto en pacientes infectados por el EBV como en otros que no lo están, de manera que se cuestiona si la presencia del virus es estrictamente necesaria para la patogénesis de la enfermedad. El linfoma de Burkitt se define por la presencia de una traslocación descubierta en 1976 entre la región distal del brazo largo del cromosoma 14 y el

brazo largo del cromosoma 8 (t8;14), no importa si se trata de un linfoma de Burkitt endémico, esporádico o asociado a inmunosupresión. Años después se descubrió el oncogen Myc justamente en el punto de corte de la traslocación junto al gen de la cadena pesada de las inmunoglobulinas. Por lo que la transcripción del oncogen Myc pasa a ser controlada por los promotores de transcripción del gen de las inmunoglobulinas, potenciando su expresión (18).

El EBV puede jugar un papel indirecto en el desarrollo del LB, pues las proteínas de latencia que produce podrían encargarse de immortalizar los linfocitos B y si de alguna manera estos han sufrido la traslocación con el oncogen Myc, podría evitar que estas células B sean destruidas por apoptosis, o bien favorecer la aparición de eventos transformantes al permitir la permanencia de células B por más tiempo (18).

Otro mecanismo que relaciona al EBV con el desarrollo de tumores es la expresión de la enzima desaminasa de citosina inducida por activación (AID), presente en grandes cantidades en el centro germinal donde promueve la hipermutación somática y el cambio de clase durante la activación de las células B en respuesta a la inmunización y la infección. Su alta concentración promueve mutaciones en el ADN que pueden llevar a la generación de la traslocación entre el cMyc y el gen de las inmunoglobulinas. Esta enzima es indispensable en la producción de anticuerpos altamente específicos para los agentes infecciosos, pero además contribuye a la inestabilidad genética que podría desencadenar el desarrollo de tumores (19) (20).

Muchos estudios definen la relación entre el factor de transcripción NF- $\kappa$ B con la inflamación y el desarrollo de tumores. La expresión de AID se da vía este factor de transcripción, promoviendo la acumulación de alteraciones genéticas, y el NF- $\kappa$ B se ve promovido por algunas de las proteínas de latencia viral (21). Se ha visto que LMP1 puede inducir la transcripción de AID (22).

En las células normales, cuando hay sobreexpresión de cMyc las células se desvían hacia la apoptosis. Sin embargo las proteínas de latencia viral son anti apoptóticas, por lo que pueden permitir la tolerancia de la traslocación y eventualmente ocasionar un clon maligno (16).

## Referencias

1. Louten, J. Virus Structure and Clasiffication. En: Jeniffer Louten, editora. Essential Human Virology. Academic Press 2016. p 19-29. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-800947-5.00002-8>
2. Moore, P. S., & Chang, Y. Why do viruses cause cancer? Highlight of the first century of human tumor virology. Changes, 2012; 29(6), 997–1003. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1038/nrc2961>

3. Mui, U. N., Haley, C., & Tyring, S. K. Viral Oncology: Molecular Biology and Pathogenesis. *Journal of Clinical Medicine*. 2017; 6(12), 111. <https://doi.org/10.3390/jcm6120111>
4. Akram, N., Imran, M., Noreen, M., Ahmed, F., Atif, M., Fatima, Z., & Bilal Waqar, A. Oncogenic Role of Tumor Viruses in Humans. *Viral Immunology*. 2017; 30(1), 20–27. Disponible en: <https://doi.org/10.1089/vim.2016.0109>
5. Epstein, M. A., Achong, B. G., & Barr, Y. M. Virus Particles in Cultured Lymphoblasts From Burkitt'S Lymphoma. *The Lancet*. 1964; 283(7335), 702–703. Disponible en: [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(64\)91524-7](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(64)91524-7)
6. Young, L. S., & Rickinson, A. B. Epstein-Barr virus: 40 Years on. *Nature Reviews Cancer*. 2004; 4(10), 757–768. Disponible en: <https://doi.org/10.1038/nrc1452>
7. Young, L. S., Yap, L. F., & Murray, P. G. Epstein-Barr virus: More than 50 years old and still providing surprises. *Nature Reviews Cancer*. 2016; 16(12), 789–802. Disponible en: <https://doi.org/10.1038/nrc.2016.92>
8. Mueller, N., Evans, A., Harris, N., Comstock, W., Jellum, E., Magnus, K., Orentreich, N., Polk, F., Vogelmann, J. Hodgkin's disease and Epstein Barr virus. *N England Journal of Medicine* 1989; 320; 689-95.
9. Young, L., Alfieri, C., Hennessey, K., Evans, H., O'Hara, C., Anderson, K., ... Cohen, J. Expression of Epstein-Barr virus transformation - associated genes in tissues of patients with EBV lymphoproliferative disease. *New England Journal of Medicine*. 1989; 321(16), 1080–1085.
10. Grossman, L., Chang, C., Dai, J., Nikitin, P., Jima, D., Dave, S., Luftig, A. Epstein-Barr Virus Induces Adhesion Receptor CD226 (DNAM-1) Expression during Primary B-Cell Transformatio into Lymphoblastoid Cell Lines. *American Society for Microbiology. mSphere* 2017; 2:e00305-17. Disponible en: <https://doi.org/10.1128/ mSphere.00305-17>
11. Hong, G. K., Gulley, M. L., Feng, W., Delecluse, H., Holley-guthrie, E., & Kenney, S. C. Epstein-Barr Virus Lytic Infection Contributes to Lymphoproliferative Disease in a SCID Mouse Model Epstein-Barr Virus Lytic Infection Contributes to Lymphoproliferative Disease in a SCID Mouse Model. 2005; 79(22), 13993–14003. <https://doi.org/10.1128/JVI.79.22.13993>
12. Ma, S.-D., Hegde, S., Young, K. H., Sullivan, R., Rajesh, D., Zhou, Y., ... Kenney, S. C. A New Model of Epstein-Barr Virus Infection Reveals an Important Role for Early Lytic Viral Protein Expression in the Development of Lymphomas. *Journal of Virology*. 2011, 85(1), 165–177. Disponible en: <https://doi.org/10.1128/JVI.01512-10>
13. Kang, M., & Kieff, E. Epstein – Barr virus latent genes. 2015; 47(1), e131-16. Disponible en: <https://doi.org/10.1038/emm.2014.84>
14. Klein, G., Klein, E., & Kashuba, E. Interaction of Epstein-Barr virus (EBV) with human B-lymphocytes. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 2010; 396(1), 67–73. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2010.02.146>
15. Swerdlow, S. H., Campo, E., Pileri, S. A., Harris, N. L., Stein, H., Siebert, R., ... Jaffe, E. S. The 2016 revision of the World Health Organization classification of lymphoid neoplasms. *Blood*. 2016; 127(20), 2375–2391. Disponible eb: <https://doi.org/10.1182/blood-2016-01-643569>
16. Molyneux, E. M., Rochford, R., Griffin, B., Newton, R., Jackson, G., Menon, G., ... Bailey, S. Burkitt's lymphoma. *The Lancet*. 2012; 379(9822), 1234–1244. Disponible en: [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(11\)61177-X](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(11)61177-X)



17. Bornkamm, G. W. Epstein-Barr virus and the pathogenesis of Burkitt's lymphoma: More questions than answers. *International Journal of Cancer*. 2009; 124(8), 1745–1755. Disponible en: <https://doi.org/10.1002/ijc.24223>
18. Schmitz, R., Ceribelli, M., Pittaluga, S., Wright, G., & Staudt, L. M. Oncogenic mechanisms in Burkitt lymphoma. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*. 2014; 6(3), 1–14. Disponible en: <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a014282>
19. Stavnezer, J. Complex regulation and function of activation-induced cytidine deaminase. *Trends in Immunology*. 2011; 32(5), 194–201. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.it.2011.03.003>
20. Kuraoka, M., Holl, T. M., Liao, D., Womble, M., Cain, D. W., & Reynolds, A. E. Activation-induced cytidine deaminase mediates tolerance in B-cells. *Pnas*. 2011; 108(28), 11560–11565. Disponible en: <https://doi.org/10.1073/pnas.1102571108/-DCSupplemental.www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.1102571108>
21. Shimizu, T., Marusawa, H., Endo, Y., & Chiba, T. Inflammation-mediated genomic instability: Roles of activation-induced cytidine deaminase in carcinogenesis. *Cancer Science*. 2012 103(7), 1201–1206. Disponible en: <https://doi.org/10.1111/j.1349-7006.2012.02293.x>
22. Allday, M. J. *Seminars in Cancer Biology* How does Epstein – Barr virus (EBV) complement the activation of Myc in the pathogenesis of Burkitt' s lymphoma ?2009; 19, 366–376. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.semcancer.2009.07.007>.