

Excmo. Sr. Presidente.  
Excmos. Sres. Académicos.  
Señoras y Señores :

Vengo a ocupar la vacante que dejara el Excmo. Sr. D. José María de la Helguera Ortiz y el glosar brevemente su vida y su admirable dedicación a la Farmacia y a esta Academia constituye para mí una honrosa obligación.

D. José María de la Helguera y Ortiz nació en Villasana de Mena en la provincia de Burgos, el 3 de julio de 1889, graduándose de Bachiller en el Instituto de Santander el 21 de junio de 1904, estudiando la carrera de Farmacia en Madrid, donde se graduó de Licenciado el 19 de junio de 1909.

Al siguiente año cursó las asignaturas del Doctorado y obtuvo el título de Doctor en Farmacia en el año 1911, ingresando al año siguiente, por concurso de méritos, como profesor químico, en el Laboratorio Municipal de Madrid, donde estuvo poco tiempo, pues habiendo hecho oposiciones al Cuerpo de Farmacia del Ejército, ingresaba en éste, con el empleo de Farmacéutico Segundo, en 12 de mayo de 1911, prestando sus servicios en la Farmacia de Madrid número 3 y en la del Hospital de Palma de Mallorca.

Ascendió a Farmacéutico Primero el 30 de noviembre de 1913, sirvió en el Hospital de Valladolid y posteriormente en el de Bilbao.

Desde el año 1923 a 1935 fue Jefe del Laboratorio del Instituto Profiláctico de Bilbao, cargo que obtuvo por oposición; fue Director interino del Laboratorio Municipal de Bilbao, Inspector Farmacéutico de la Aduana de dicha capital y desde 1932 Jefe del Control Químico y Biológico de la Fábrica Española de Productos Químicos y Farmacéuticos (FAES), también de Bilbao. Allí el Dr. de la Helguera desarrolló una gran actividad científica y profesional, publicó

numerosos artículos científicos, entre ellos «Preparación de vacunas bacterianas», «Un nuevo método de diagnóstico biológico de la carne y de los órganos de caballo, aplicado a la represión de los fraudes alimenticios» y «Orinas rosadas de origen medicamentoso».

Durante los años de estancia en Bilbao alcanza los empleos de Farmacéutico Mayor el 30 de julio de 1926, y de Subinspector de Segunda en 1934.

Al estallar la guerra se encontraba en Bilbao y al ocuparse dicha ciudad se incorporó al ejército, siendo destinado a la Jefatura de Fabricación de Vizcaya. Fue ascendido a Subinspector Farmacéutico de Primera en 15 de junio de 1939 y nombrado, en 2 de agosto del mismo año, Inspector General de Farmacia en plaza de categoría superior.

En 1934 fue nombrado Académico correspondiente de la Real Academia de Farmacia, donde ingresó como numerario el 27 de junio de 1944, siendo el título de su discurso «Arsenóxido: contribución a su estudio», que fue contestado por D. Rafael Roldán Guerrero. En ese año publica «Cincuenta años al servicio de la Farmacia española» («El MM. Far.», t. V, 1944, pág. 395). Durante sus últimos años comparte su dedicación a la Farmacia militar con sus tareas en la Real Academia, con un interés extraordinario por todo problema científico y técnico relacionado con las actividades propias de la Farmacia.

Le fueron concedidas la Gran Cruz del Mérito Militar con distintivo blanco, la Cruz y Placa de la Orden de San Hermenegildo y la Cruz de Campaña (1936-1939).

Estos datos, muy escuetos necesariamente, no reflejan, sino muy levemente, la personalidad, la categoría humana, del General de la Helguera, que dedicó plenamente su vida a la Farmacia y prestigio a la profesión con su buen hacer y su prestancia y a quien me honro en rendir público homenaje y el más respetuoso recuerdo.

\* \* \*

He de expresar a todos los Académicos mi profundo agradecimiento por el honor que me han hecho y que recae, más que sobre mí mismo, en todo un grupo de trabajo, de amigos y colaborado-

res que han compartido conmigo tantos esfuerzos, tanta ilusión y tantas horas de laboratorio, durante muchos años. Estos compañeros forman parte de varias Secciones y Departamentos del Instituto «Jaime Ferrán» de Microbiología, y especialmente los de la Sección de Virus de Plantas. Pero sobre todo, he de agradecer a dos personas, don José María Albareda Herrera y don Lorenzo Vilas López, el haber hecho esto posible. Ellos han sido los maestros y mentores de varias generaciones de investigadores. En las épocas más difíciles de la postguerra, en una tarea necesaria, muchas veces ingrata por la falta de medios casi absoluta, una época que se puede calificar de romántica porque, en aquel entonces, conducía a un camino vacío de ganancias materiales, su consejo, su apoyo moral, todo un apostolado de la ciencia, pues es difícil convencer de la necesidad de emprender una carrera dura con compensaciones de tipo idealístico, en el mejor de los casos, consiguieron crear esas primeras generaciones de investigadores, base del posterior desarrollo del C. S. I. C. y en el que los farmacéuticos han tenido un papel destacado.

\* \* \*

El estudio de los virus ha llegado a tener tanta importancia que ha formado una nueva rama en la biología, la virología, de un rapidísimo desarrollo en los últimos veinticinco años, debido, sobre todo, a la gran cantidad de investigadores, procedentes de muy diversos campos científicos, tales como biólogos, farmacéuticos, médicos, veterinarios, bioquímicos, genéticos y microbiólogos, que se han dedicado a su estudio, atraídos, o mejor pudiéramos decir, fascinados, por las especiales características de estos agentes infecciosos, especialmente por la relativa simplicidad de los virus en su forma extracelular y la complejidad de su fase intracelular en sus extraordinarias relaciones con la célula huésped en su fase de replicación.

Debido a estas propiedades, los virus han llegado a ser los materiales idóneos y más eficaces para el estudio de problemas biológicos básicos, tales como la transferencia de información, las mutaciones, las investigaciones sobre el código genético y muchos otros aspectos de la Biología molecular. Actualmente, la teoría vírica del cáncer ha

aumentado, todavía más, el interés en el estudio de los mecanismos de la infección vírica.

Como agentes patógenos, los virus presentan un auténtico desafío a los médicos, veterinarios y especialmente a los farmacéuticos que han de ser los encargados de encontrar los medicamentos apropiados para curar o prevenir las enfermedades producidas por estos agentes patógenos.

Como veremos más adelante, es precisamente la específica manera de multiplicación de los virus, su asociación íntima con la célula que parasitan, lo que constituye una extraordinaria dificultad para poder atacarlos sin dañar irreparablemente al organismo que los soporta.

Se han encontrado virus parasitando todo género de animales, incluso aquellos virus que no producen enfermedades en ciertas especies, son potencialmente y a veces, muy eficazmente, los productores de enfermedades mortales en otras especies relacionadas, como por ejemplo, en el caso de la peste porcina africana, en que el virus se encuentra en estado latente en el cerdo salvaje de las regiones africanas habiéndose mantenido de esa forma no patógena en ellos durante tiempo inmemorial y al iniciarse la cría del cerdo doméstico en aquellas regiones, donde existen bacóqueros y poramóqueros, la infección, en forma muy virulenta, se desarrolló rápidamente en los cerdos domésticos pasando posteriormente a las zonas norteafricanas y de allí a algunos países europeos de la cuenca mediterránea, entre ellos España donde han constituido un grave problema económico y sanitario.

Se han encontrado también virus en las plantas superiores e inferiores, en los hongos, en las algas y en las bacterias.

La importancia cada día mayor de la incidencia de las enfermedades producidas por virus en el hombre, en los animales y en las plantas, se puede calcular en las pérdidas de vidas humanas, en millones de horas de trabajo perdidas al año, en epizootias de gran repercusión económica y en las pérdidas ocasionadas en las cosechas de los principales alimentos de origen vegetal. Todo esto hace que cada día sea más urgente encontrar las drogas apropiadas para combatir las enfermedades producidas por virus.

Pero es que además, los virus no ya como agentes patógenos, sino puramente biológicos, están realizando constantemente una fun-

ción ecológica importante, puesto que son capaces de transmitir información genética de un organismo a otro, creando así variaciones genéticas pequeñas cuyos resultados podemos apreciar, casi siempre, solamente cuando estas variaciones resultan nocivas para nuestro bienestar, como en el caso de la transferencia de genes resistentes a los antibióticos a bacterias antes no resistentes, mutaciones que, en la mayoría de los casos, somos incapaces de detectar y no podemos hacernos una idea clara de su trascendencia, de su verdadera incidencia en la biosfera.

He hecho un ligero esbozo de las capacidades de los virus y su influencia en los diferentes organismos que constituyen la biosfera y como ven, se trata de una cuestión muy compleja y sería una petulancia por mi parte atreverme a considerar todas y cada una de las interacciones que se presentan en este juego huésped-parásito que constituye la infección viral; por ello he de limitarme a algunas de las más fundamentales y de las que se puede desprender una idea general de las relaciones virus-huésped, como son la propia constitución de los virus y la manera de multiplicarse en la célula viva, que diferencia claramente estos agentes patógenos de todos los demás conocidos hasta ahora.

## E L V I R U S

Según Luria y Darnell (1968): «Los virus son entidades cuyo genoma está constituido por un ácido nucleico que puede ser DNA o RNA, y que es capaz de reproducirse dentro de las células vivas, empleando el aparato enzimático de las mismas para la síntesis directa de los viriones que contienen el genoma viral y lo pueden transferir a otras células.»

Los virus difieren de otros parásitos obligados intracelulares tales como las Rickettsias por ejemplo, en varios aspectos fundamentales:

- 1.º Las partículas de virus contienen un sólo tipo de ácido nucleico, que puede ser DNA o RNA.
- 2.º Las proteínas específicas del virus y codificadas por su genoma son sintetizadas por los ribosomas de la célula huésped.
- 3.º Los virus se multiplican por una síntesis independiente de sus

pártes constituyentes, las cuales, una vez formadas, se ensamblan para constituir nuevos viriones.

### C O M P O S I C I Ó N

Las partículas de virus se componen, esencialmente, de ácido nucleico rodeado de una capa de proteína que constituye la cápsida. La función de esta envoltura protéica es la de proteger el ácido nucleico de las influencias o los efectos de los agentes ambientales extracelulares, facilitar la entrada en las células que van a parasitar y, en el caso de muchos virus animales, principalmente, tomar parte importante en la iniciación de la síntesis del virus.

La estructura de las partículas de virus varía enormemente en complejidad de unos virus a otros.

Así, desde los llamados «viroides», compuestos solamente por un ácido ribonucleico de doble filamento y de peso molecular 80.000 Daltons, sin cubierta protéica y que fueron descubiertos en plantas, aunque también se han encontrado posteriormente en animales; pasando por la mayoría de los virus de plantas y muchos de animales que corresponden al modelo básico, estando formados por una sola molécula pequeña de RNA encerrada en una cápsida formada por muchas copias idénticas (subunidades) de una sola proteína, hasta otros virus, muy complejos, especialmente los virus animales de mayor tamaño, que poseen cápsidas formadas por, al menos, treinta proteínas diferentes más lípidos y glicoproteínas recubriendo un ácido nucleico de tamaño considerable.

Los bacteriófagos, por otra parte, conteniendo un genoma relativamente pequeño, tienen una curiosa envoltura muy especializada que no solamente les sirve para protección, sino que también contiene los mecanismos para fijarse sobre la pared de las bacterias y hacer que el ácido nucleico del virus penetre en ellas en forma de inyección.

Un tipo de virus que se sale del modelo general es el de los virus multiparticulados, que hasta ahora sólo se han encontrado en plantas. Estos virus tienen el genoma dividido en dos o más partes, cada una de ellas encapsulada en proteína y en los cuales los trozos de RNA están formando con la proteína partículas independientes, que

pueden ser del mismo o diferente tamaño y siendo necesaria la presencia de todas o la mayoría de estas partículas para producir la infección. La información genética del virus total está repartida, por tanto, entre varias partículas. Una de ellas contendrá la información para la formación de la proteína de las cápsidas, en otra la información para la replicación del RNA infectivo y en otras los RNA que codifican las proteínas, enzimas, etc., llamadas el factor de maduración. En algunas partículas, como en el caso del virus mosaico del bromo, una partícula puede contener dos trozos de RNA diferentes.

Este tipo de virus multiparticulado que hasta ahora sólo se ha encontrado en virus de plantas, es muy posible que también sea característico de muchos virus de animales y del hombre.

#### MULTIPLICACIÓN DE VIRUS RNA

Los virus, igual que todos los organismos capaces de multiplicarse, tienden a ese fin y para él pueden emplear diferentes vías y mecanismos, lo que constituye su mejor arma de supervivencia. Me limitaré a hablar de la multiplicación de virus RNA, para no extenderme con exceso. Voy a referirme primero a virus de plantas, pues es en lo que trabajamos principalmente.

La mayor parte de los virus de plantas pueden ser considerados como picornavirus, puesto que están formados por un genoma de RNA que tiene un solo filamento, encapsidado con subunidades de proteína para formar o bien una partícula nucleoprotéinica con simetría icosaédrica o una estructura en forma de bastoncillo, algunas veces flexuosa, con simetría helicoidal.

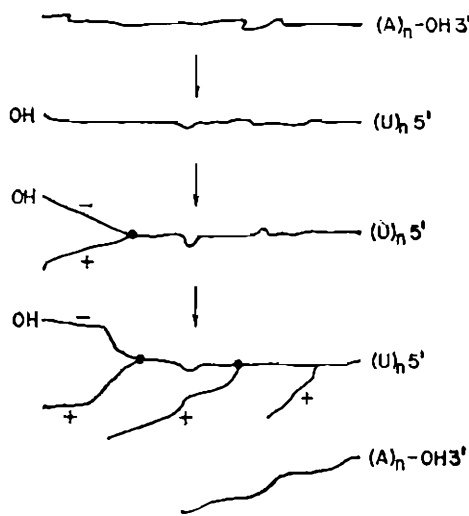
Estos pequeños virus se multiplican, dicho de una manera muy resumida, de la forma siguiente: una vez iniciada la infección y dentro ya de la célula, el RNA lineal del virus se libera de su cápsida y allí es traducido y replicado; para ello y dado que la célula carece del enzima apropiado, el genoma viral es portador de una secuencia que codifica la síntesis de una polimerasa dependiente del RNA o replicasa, que utiliza el filamento RNA parental del virus positivo «más» (+) como molde para producir un filamento complementario negativo «menos» (—) que sirve, a su vez, de molde para la formación de nuevos filamentos (+) que constituyen la progenie

de RNA. Estas moléculas de RNA se rodean de la proteína que va a formar la cápsida y que ha sido producida por traducción de la parte de genoma viral que codifica dicha proteína actuando como RNA mensajero.

El aislamiento de RNA de doble filamento llamado forma replicativa en el virus mosaico del tabaco y en otros virus de plantas, así como la replicasa, con pesos moleculares que varían de 120.000 a 160.000 Daltons, de tejidos infectados con el virus mosaico del bromus (Hadidi y Fraenkel-Conrat, 1973) y en otros virus, confirman el esquema expuesto para la multiplicación de estos virus.

Precisamente, un método sencillo y eficaz para el aislamiento de la forma replicativa de los virus RNA ha sido desarrollado recientemente por el Dr. Díaz Ruiz, de la Sección de Virus Vegetales del Instituto «Jaime Ferrán» de Microbiología, habiendo obtenido las formas replicativas de varios virus del grupo Cucumovirus.

Esta aparente sencillez de multiplicación oculta una gran complejidad todavía no bien explorada, pues aparecen filamentos (+) de diferentes longitudes, como se ve en el esquema siguiente, y no se sabe exactamente qué factor determina la longitud de cada RNA (+).



Esquema 1



Por otro lado, uno de los factores más tempranos de la infección es la interferencia en la síntesis de RNA y de proteína de la célula infectada, que depende, en su intensidad, del tipo de virus que se emplee y también del tipo de plantas, y cuyo mecanismo se desconoce.

La demostración de la existencia de un enzima, la llamada transcriptasa (una polimerasa RNA dependiente de RNA) en el virus de la estomatitis vesicular (Baltimore et col., 1970), fue la base de la comprensión de que existían otros mecanismos de replicación de los virus RNA y más tarde se encontró que existía un gran número de virus que se multiplicaban de esta forma, a los que ahora se les llama «virus de filamento negativo». Todos ellos como genoma poseen el filamento RNA complementario del RNA mensajero, y a la vez una polimerasa (transcriptasa RNA) capaz de copiar el genoma para formar múltiples RNA mensajeros.

Naturalmente, si el filamento negativo (—) es el que constituye el genoma viral, al contrario de lo que pasa con los picornavirus, es esencial que este filamento negativo sea transcrito antes de que pueda comenzar la traducción y por lo tanto, el enzima que permite la transcripción tiene que estar contenido de antemano en el virión. Esto se ha demostrado inoculando células con el RNA viral purificado, viéndose que no se produce infección (al revés de lo que pasa con los picornavirus), siendo necesario para que ésta se produzca la presencia de una de las proteínas que se encuentran en la cápsida junto con el RNA.

Utilizando como modelo de virus que se multiplican empleando una transcriptasa, los virus Rhabdo, que es un grupo de virus muy amplio donde existen virus que atacan a animales invertebrados, vertebrados e incluso al hombre, como el virus de la rabia, y a gran número de plantas y pueden ser transmitidos por insectos, vemos que los viriones son mucho más complejos que los de los picornavirus, estando formados por una envoltura constituida por una membrana de 7 a 10 nanómetros de grosor que, generalmente, está formada por el sistema membranoso de la célula huésped, bien de la membrana interna nuclear, cuando estos virus se ensamblan en el interior del núcleo de la célula, o bien del tonoplasto o del plasmalemma, cuando los viriones se ensamblan en el citoplasma. Sin embargo, esta membrana no se ajusta en su composición química a la de la membrana

celular, sino que es modificada por el virus ya antes de efectuar su envoltura, siendo la proteína normal de la membrana celular sustituida por la proteína M que es codificada por el genoma viral y, en la mayoría de los casos, también aparece otra proteína —que es una glicoproteína que forma unas espículas características en la superficie externa de la membrana modificada— observable por microscopía electrónica y que presta la mayor parte de sus características antigénicas y de hemaglutinación, etc., al virión.

Algunos enzimas de origen celular, probablemente unidos a la membrana normal o presentes en ella, se encuentran también en la envoltura del virus tales como una proteína-Kinasa (Straud y August, 1971), un nucleósido trifosfato fosfotransferasa y también ATPasa, GTPasa, UTPasa y CTPasa.

Dentro de esta envoltura se encuentra una sola molécula de RNA asociada con, al menos, tres proteínas virales denominadas N, L y NS. El nombre de N viene de nucleocápsida, proteína estructural que se encuentra en cantidad mayor que las demás y sirve para proteger al RNA. L, que se llamó así (de Large) porque se creía que era un dímero de la proteína N. Ahora se sabe que corresponde a la transcriptasa y sin ella el RNA viral no puede iniciar la infección, y la proteína NS (del nombre inglés «non estructural proteins», núm. 1), que no se sabe exactamente el papel que juega, pero es muy posible que sirva como clave para el reconocimiento por la nucleocápsida de los lugares en que está modificada la membrana celular por el virus y también para su unión a aquélla.

El ácido ribonucleico más las proteínas constituyen la nucleocápsida, formando un filamento helicoidal fuertemente enrollado hasta formar un cilindro con un extremo plano y otro hemisférico; esta nucleoproteína, que tiene forma de bala o bacilar cuando sus dos extremos terminan en hemisferios, al rodearse de la envoltura forma el virión maduro.

El proceso de infección constituye una serie de eventos de los que algunos ocurren simultáneamente y otros en una determinada secuencia. En realidad, aunque para mayor claridad de exposición se acuda a separar en varias fases bien definidas el período que comienza con la entrada del virus en la célula hasta la salida de nuevos viriones, hay que tener en cuenta, por ejemplo, que el proceso de

maduración es una reacción acoplada y simultánea con la de replicación y traducción\* y lo mismo sucede con otros de los acontecimientos que se producen durante la infección.

La primera fase de la infección es la entrada del virus en la célula, que en caso de los Rhabdo virus de plantas se efectúa generalmente por medio de un insecto vector cuyo estilete puede atravesar fácilmente la dura pared celulósica de la célula vegetal.

La segunda fase consiste en la separación de la envoltura viral de la nucleoproteína. Una vez la nucleoproteína libre en la célula, se realiza la tercera fase que es de transcripción y necesita de la transcriptasa que va en la proteína que rodea el RNA. Los productos de la transcriptasa se fijan a poliribosomas y están formados por dos ácidos ribonucleicos, uno de 285 S y otro de 120 a 165 S, cada uno de los cuales es complementario del RNA del virión, estos RNAs actúan como mensajeros y se traducen en cinco polipéptidos; dos de ellos, los M y G, emigran rápidamente hacia las membranas más próximas de la célula infectada y allí se fijan.

En la fase cuarta se produce la replicación de la descendencia del virión empleando como molde un filamento positivo creado por la transcriptasa y dando como resultado filamentos negativos que se encapsidan con las proteínas formadas anteriormente.

Dada la condición de que la nucleocápsida y la envoltura se forma separadamente, la última fase del proceso es el hecho de que ambos componentes se encuentran, para lo que hay que tener en cuenta que la célula no es una entidad inmóvil sino que en su seno existen movimientos, corrientes de diferentes tipos, orgánulos conductores, como el retículo endoplásmico, y una serie de fuerzas que hacen que los productos vertidos en el nucleoplasma o en el citoplasma se muevan por todo su ámbito y las nucleocápsidas ya formadas al entrar en contacto fortuitamente con zonas de la membrana celular modificadas previamente por la glicoproteína y proteína M del virus las «reconocen» y allí se acoplan formando el virión completo.

Peters (1975) ha expuesto la teoría de que el ensamblaje del ácido nucleico más las proteínas que constituyen su cápsida se efectúa directamente sobre la membrana celular modificada que le va a servir de envoltura, pero la parte morfológica del ensamblaje de estos virus se puede seguir por microscopía electrónica, en cortes ultrafinos de

células en diferentes fases de infección y según nuestras propias experiencias trabajando con dos grupos de virus, uno cuyos viriones se forman en el núcleo de la célula y el virus maduro sale al espacio perinuclear pasando de allí al retículo endoplásmico, virus Carnation clover mosaic y el virus red clover mosaic y otro grupo en que los viriones se forman en el citoplasma celular: mosaico del melón y mosaico de la alcachofa no descritos con anterioridad. En ambos casos hemos podido observar la formación de nucleocápsidas completas antes de su inserción en la membrana celular modificada (Rubio-Huertos y Bos, 1969; Vela y Rubio-Huertos, 1974; Rubio-Huertos y Peña, 1972); tampoco parece existir la polaridad necesaria para cumplir la hipótesis de Peters, pues se observan numerosas nucleocápsidas completas envolviéndose en la membrana modificada, por su eje más largo.

#### LOS VIRUS Y EL CÁNCER

Otra manera de replicación de virus RNA y probablemente la más interesante desde el punto de vista biológico y de la patología celular, es el de los retrovirus, que se caracterizan por poseer un enzima, la transcriptasa reversa, por la cual la información genética contenida en el genoma RNA del virus pasa a un DNA.

Los retrovirus cuando expresan su capacidad de transformar las células normales en tumorigenas, constituyen los virus tumorigenos RNA.

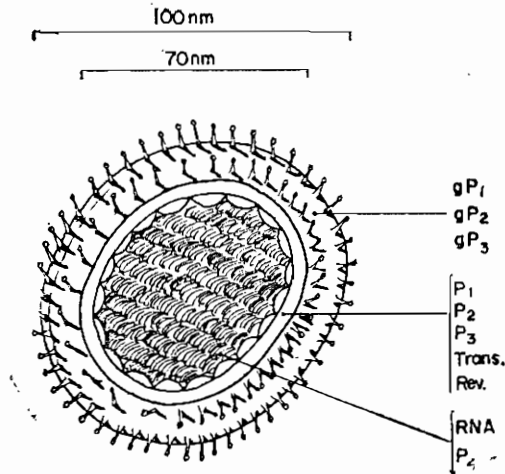
La existencia de un virus capaz de formar tumores en pollos fue descrita ya en 1911 por Rous, más adelante se vio que existe un gran número de virus RNA que frecuentemente causan tumores, generalmente sarcomas, como el descrito por Rous o leucemias en animales y que son incluso capaces de transformar cultivos de células humanas (caso de los sarcomas aviares).

Recientemente se han aislado partículas de tipo B en la leche humana, por lo que es posible que, por lo menos algunos cánceres de mama humanos sean producidos por virus RNA tumorales.

Al contrario de los papovavirus, que son virus tumorigenos con genoma DNA, los virus RNA que producen tumores son muy eficaces en la tarea de transformar cultivos de células normales en tumorigenas, produciendo, además, gran cantidad de viriones.

También, en contraste con otros tipos de virus, la infección por uno de estos virus raramente conduce a la destrucción de la célula y cuando esto ocurre, se puede atribuir a algún agente tóxico exógeno. En casos de infección de células con virus de leucemia, frecuentemente no aparecen signos de degeneración ni, aparentemente, de efectos nocivos en su fisiología y esto puede estar relacionado con el hecho de que en muchas células que no han sido nunca inoculadas y son aparentemente normales, se las pueda inducir por muy diversos medios a la producción de partículas virales muy semejantes a las de los virus tumorígenos, los A, B y C, que se distinguen por su tinción diferente en cortes ultrafinos al microscopio electrónico. Los del tipo A como los de la leucemia murina, presenta un nucleoide poco denso a los electrones; los del tipo B, como los que producen cáncer de mama en el ratón, se diferencian por poseer un nucleoide excéntrico y el tipo C, el más común, que posee un nucleoide denso a los electrones.

Los tres tipos de viriones tienen simetría hexagonal, están envueltos por una membrana, tienen un diámetro de unos 100 nanómetros y un nucleoide de 70 nanómetros de diámetro. En la membrana, además de lípidos, tiene al menos tres glicoproteínas, en el espacio



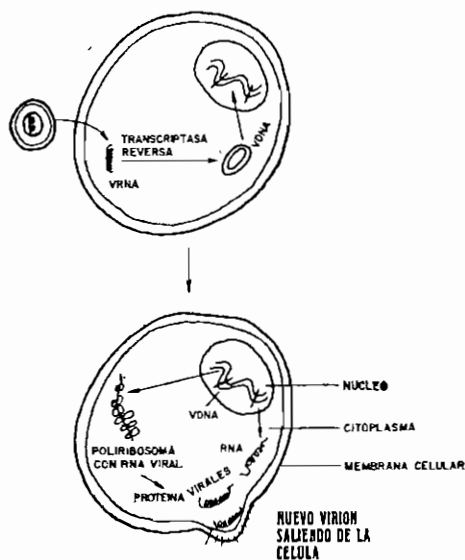
Esquema 2

entre la membrana y el nucleóide tiene dos proteínas (1 y 2) y formando ya parte del nucleóide, en la parte externa, las proteínas 3 y la transcriptasa reversa. El nucleóide, propiamente dicho, está formado por ácido ribonucleico de un solo filamento cuyo coeficiente de sedimentación principal es de 60-70 S unido a una cuarta proteína.

Existen dos períodos claramente definidos tras la infección de una célula por un retrovirus. El primer período, que dura unas horas, se caracteriza por la acción de la transcriptasa inversa (reversa) que produce el DNA empleando como molde el RNA viral y más tarde la integración de este DNA en el genoma celular como provirus.

En este período se puede observar por microscopía electrónica cómo los viriones penetran en la célula y alcanzan el núcleo de la misma antes de su desintegración y pase a su período de latencia.

El segundo período incluye la expresión del genoma integrado y la síntesis de viriones a partir de RNA fabricado por el DNA integrado, que será, por un lado, el que actúe como RNA mensajero formando las proteínas específicas del virus y por otro el RNA genoma del virión. En este período se aprecia por microscopía electró-



Esquema 3

nica la formación y expulsión de la célula de nuevos viriones, envolviéndose las partículas en membranas modificadas de la célula, generalmente del plasmalemma, pero también se puede formar en vacuolas intracitoplásmicas.

Entre las diferentes proteínas virales que se producen, parece existir una de ellas que sea capaz de cambiar las propiedades establecidas de desarrollo de la célula, es decir, de modificar los represores de la multiplicación celular o actuar como activadora de la misma y, en este caso, el retrovirus se convierte en un virus tumorigeno.

Algunas células pueden integrar el DNA viral a través del RNA del virus pero no pueden expresarlo, es decir, se queda allí como provirus o como parte de la célula, como un elemento normal que puede transmitir a su descendencia.

Los genes latentes, no expresados (no transcritos), pueden ser activados por ejemplo con yodo-deoxiuridina o bromodeoxiuridina y otras sustancias cancerígenas y por la acción de los rayos X.

La clave de la singular manera de multiplicación de estos virus es la transcriptasa reversa o inversa, que posee las propiedades de la mayoría de las DNA polimerasas: es un enzima dependiente de un «iniciador» que fabrica DNA en dirección 5'-3' empleando deoxiribonucleósidos trifosfatados como sustrato y tomando la dirección de un molde para determinar la secuencia de bases del producto. Este enzima difiere de las polimerasas DNA normales existentes en la célula, en que posee una estructura polipeptídica única, pues tiene asociada una ribonucleasa activa. La transcriptasa reversa del virus de la mieloblastosis aviar tiene un peso molecular de unos 170.000 daltons y puede separarse en dos polipéptidos, uno de 65.000 y otro de 105.000 daltons, de los cuales el primero contiene la actividad polimerizante del DNA y una ribonucleasa específica para los polímeros de híbridos DNA-RNA.

La función del polipéptido mayor, el segundo, es desconocida, pero sirve posiblemente para ayudar a la polimerización del DNA atacando a la estructura secundaria del RNA nativo y desprendiéndole del complejo RNA-DNA. En la transcriptasa reversa del virus de la leucemia murina sólo se ha identificado un polipéptido de 70.000 daltons de peso molecular.

El DNA actúa como el filamento (—) «menos» en la multiplica-

ción de los picornavirus, pero el poder unirse al genoma de la célula puede ser la causa de que sean sólo los retrovirus los únicos virus conocidos hasta ahora que pueden producir el cáncer.

La transformación de células por un retrovirus es un proceso altamente selectivo; cada tipo de virus oncogénico transforma un número muy limitado de tipos de células. Si asumimos que los genes transformantes de los virus son como el del virus del sarcoma de Rous, genes que no son necesarios para el crecimiento del virus, podemos pensar que cada tipo de virus transformante produce un tipo de proteína transformante específica que actúa, todavía no se sabe cómo, sobre el huésped directamente para producir la multiplicación incontrolada de la célula.

Como he dicho anteriormente, células que no han sido nunca inoculadas y son aparentemente normales pueden ser inducidas, por medio de sustancias químicas o por la acción de radiaciones, a la producción de partículas virales semejantes a las partículas C de los virus RNA tumorales.

Para este fenómeno existen tres explicaciones:

1. Un grupo de genes del complemento normal de la célula tiene la misma secuencia que un virus RNA tumorigeno y serían en ciertas condiciones los progenitores de los retrovirus (base de la hipótesis del protovirus de Howard y Temin).

2. Son genes integrados en el genoma normal por una infección ancestral por un retrovirus de las células germinales del antepasado que ha quedado integrado y permanece estable en el cromosoma.

3. Genes reintegrados en el cromosoma igual que en el apartado anterior, pero sin estar sometido a la acción de mutaciones lentas, puede, en el curso del tiempo, actuar como tal virus y efectuar nuevas infecciones y reintegraciones, conservándose así durante grandes ciclos.

El fenómeno antedicho y la explicación núm. 1 del mismo, junto con el conocimiento de la integración en el cromosoma celular como provirus de diversos virus como bacteriófagos y virus RNA tumorales, llevan a las diferentes teorías víricas del cáncer.



### Hipótesis del «protovirus» :

Temin (1971) y Howard y Temin, teniendo en cuenta la demostración de que el RNA podía ser transcrito en DNA por medio de un enzima, propusieron los protovirus como un mecanismo de transferencia genética entre células somáticas. El RNA de una célula pasa a una segunda célula, es transcrito en DNA, y éste se incorpora al cromosoma. Tal transferencia daría mayor variabilidad al genoma de las células somáticas, ya que esta información podría ser ampliada o colocada bajo un programa regulador diferente. En algunos casos, la información iría a células germinales que integrarían tal información y la podrían pasar a las próximas generaciones. El cáncer resultaría de una mutación en el provirus eliminando o alterando una función celular o por integrarse el provirus en el lugar disruptivo de otro gene.

Con esto los autores presentan como un hecho biológico general la transferencia de información RNA-DNA y no solamente en el caso de los virus RNA tumorales. De esta forma los protovirus podrían jugar un importante papel en la diferenciación celular, en la formación de anticuerpos y en la evolución, por la adquisición de nuevos materiales genéticos.

Sin embargo, por ahora no existen suficientes pruebas de que esto suceda siempre de esta manera.

Otra teoría basada en la ubicuidad aparente de los virus RNA tumorales y la naturaleza hereditaria de algunos virus de la leucemia, fue desarrollada por Huebner y Todaro (1969) por la que postulan que todas las células contienen genomas virales, a los que ellos llaman «virogenes», generalmente en estado de represión pero que con un estímulo apropiado pueden ser activados para producir virus. El virogene contiene, al menos, un cistrón que sería el «oncogéne» cuya expresión convertiría a la célula normal en una célula tumoral, incluso aunque otras partes del virogene continuasen reprimidas.

Estas teorías están también relacionadas con las que atribuyen a los virus un origen endógeno, es decir, que han salido y se han formado de la propia célula.

Darlington en su trabajo «Herencia, desarrollo e infección» pu-

blicado en 1944 con su teoría del «plasmagene», habla de los genes integrados. Los genes simples y los plasmogenes que serían responsables de la herencia citoplásmica y que, según él, podrían formar los plastogenes y en algún caso excepcional, formar los virus.

También nuestro querido compañero Román de Vicente Jordana en su teoría del Citoarjesis en 1955, definía los citoarjés como elementos que dominan, que mandan y regulan los procesos celulares y ya suponía que una mutación podía hacer pasar un argés normal a un argevirus, como él los denomina, con las características propias de un virus.

Los que presentaron alguna evidencia en su teoría de la formación endógena de los virus fueron Bawden y Pirie, investigadores ambos de virus de plantas. Y en aquellos años fueron combatidos duramente por los especialistas en virus animales que ahora han cambiado completamente, aceptando en general la teoría endógena de formación de virus y las implicaciones que tiene con la teoría vírica del cáncer.

En resumen, sobre la teoría del cáncer producida por virus y las pruebas que tenemos apoyando esta teoría podemos decir:

1.º Se conocen ya perfectamente muchísimos tipos de tumores en animales que están producidos por virus RNA y DNA, habiéndose demostrado en ellos los postulados de Koch, es decir, el aislamiento del agente etiológico en este caso un virus, su inoculación a animales sanos y la reproducción de la misma enfermedad en ellos. También en cultivos de tejidos se ha podido demostrar la transformación de células normales en tumorales por inoculación con ciertos virus específicos.

2.º La inoculación de un virus no tumorigeno a células sanas puede producir la aparición en éstas de viriones tumorigenos que son capaces de inducir a la transformación celular. También el tratamiento de células sanas por sustancias cancerígenas puede hacer que aparezcan en estas células partículas de virus tumorigenos.

Esto parece indicar que en los cromosomas de gran número de animales e incluso del hombre, existen secuencias heredadas o adquiridas de virus tumorigenos que están allí presentes como provirus

Grupo de virus	Genoma			Virus RNA		Envoltura	Transcriptasa	N.º de diferentes polipéptidos
	a	b	c	Simetría de la nucleocápsida				
Fagos esféricos .....	S, +	1		cúbica		-		2
Virus de plantas esféricos .....	S, +	1		cúbica		-		1
Virus de plantas filamentosos .....	S, +	2		helicoidal		-		1
Picornavirus (poliovirus) .....	S, +	2,6-2,8		cúbica		-		4
Togavirus .....	S, +	4		desconocida		+		3
Virus tumorígenos RNA .....	S, +	(10)		cúbica		+	reversa	7
Rhabdovirus .....	S, -	4		helicoidal		+		4-6
Paramixovirus .....	S, -	7		helicoidal		+		6
Myxovirus .....	S, -	(3-5)		helicoidal		+		6
Reovirus .....	D, (15)			cúbica		-		7

S. de un solo filamento; D. doble filamento  
 b. polaridad del filamento, los + son parecidos al m RNA  
 c. peso molecular  $\times 10^{-6}$  daltons. Los virus con genoma fragmentado tienen los números en paréntesis  
 Tomada de T. H. Pennington y D. A. Ritchie, 1975

y solamente son expresados por factores de tipo diverso que resumimos a continuación:

1. Acción ambiental, radiaciones ultravioletas, otras radiaciones, irritaciones locales continuadas.
2. Ingestión o contacto con sustancias tumorígenas.
3. Desarrollo del metabolismo produciendo sustancias mutagénicas.
4. Infección secundaria con un virus no tumorígeno, y
5. Envejecimiento de las células en la senectud de los organismos y con ello deficiencia en los sistemas de represión de los provirus que se expresarían como virus activos y tumorales.

Es precisamente a través de los virus como se llega a un punto de confluencia entre la teoría genética (herencia tumoral) y mutaciones, la inducción química por los agentes carcinógenos y la propia hipótesis de la infección viral.

Dejando este tema, no muy esperanzador por ahora, nos vamos a referir, por último, a lo que llamamos nosotros proteínas extrañas, tema todavía no bien conocido y que por eso creemos de interés.

#### PROTEÍNAS EXTRAÑAS EN LA INFECCIÓN POR VIRUS

En la multiplicación de los virus RNA hemos visto la formación de diferentes proteínas específicas que vienen codificadas por el genoma viral. Estas proteínas se dividen generalmente en dos clases, las proteínas estructurales, es decir, que forman parte fundamental en la estructura del virión, y las proteínas funcionales generalmente formadas por enzimas, que intervienen en la multiplicación del virus y formando todas ellas parte del virión maduro.

Sin embargo existen otras proteínas también codificadas por el genoma viral que no forman parte del virión ni se sabe qué papel puedan jugar en la multiplicación del mismo. Estas proteínas en algunos casos, aparecen en pequeña proporción, pero por ejemplo en muchos de los virus de plantas y en algunos de animales, se encuentran en tal cantidad, que muchas veces forman agrupaciones cristalinas o amorfas visibles en la célula por medio del microscopio

fotónico. De hecho, muchos de los famosos cuerpos de inclusión están formados en su mayor parte por proteínas de este tipo. Estos cuerpos de inclusión constituyen uno de los cambios más específicos inducidos por una infección viral dentro de la célula parasitada y consiste en la producción de cuerpos o estructuras microscópicas que difieren de cualquier estructura que existe en la célula normal. Estos cuerpos varían en forma y tamaño, estructura y composición y se encuentran situados o en el citoplasma o dentro del núcleo de la célula.

El estudio microscópico de estos cuerpos de inclusión que comenzamos en 1948 nos llevó a comprender la estrecha relación que existía entre el virus en sí y la célula y a intentar el poder ver esta relación por medio de la microscopía electrónica, pretendiendo entonces el tener una observación directa de lo que sucedía en la célula al ser infectada por un virus.

En aquellos años no se había desarrollado todavía la técnica de cortes ultrafinos para microscopía electrónica y nosotros empleamos un sistema propio consistente en teñir trozos de epidermis de hojas infectadas conteniendo cuerpos de inclusión y en el microscopio normal, a pequeño aumento, romper las células y extraer con una micropipeta dichos cuerpos de inclusión, llevándoles después a una rejilla-porta para microscopía electrónica donde hacíamos un sombreado antes de la observación. De esta forma pudimos ver que las inclusiones cristalinas, unas, como la de la estirpe aucuba del mosaico del tabaco, estaban formadas exclusivamente por partículas de virus, lo que fue confirmado en 1953 por Steere y Williams trabajando con la estirpe normal del mismo virus y empleando una técnica muy complicada que dio lugar, más tarde, al desarrollo del método de criocorrosión para microscopía electrónica, otras inclusiones cristalinas vimos que estaban formadas por pura proteína, como las de una estirpe del virus «bean yellow mosaic».

Las inclusiones de tipo amorfo encontramos que estaban formadas por elementos del citoplasma, partículas de virus y una proteína que no correspondía a las proteínas del citoplasma.

Esta técnica, como se pueden imaginar, era laboriosa y bastante burda, pero los resultados han sido confirmados más adelante al introducirse la técnica de cortes ultrafinos en microscopía electrónica. Con esta última técnica hemos podido ver que estas proteínas extra-

ñas tienen una forma característica para cada grupo de virus de plantas, según la clasificación actual, su estructura y forma específica tiene valor diagnóstico, por lo menos, para el grupo de virus y en algunos casos se puede establecer concretamente el virus específico, con sólo la observación por microscopía electrónica de los tejidos infectados.

Para poner algunos ejemplos, en los virus isométricos o de simetría cúbica, en el grupo caulimovirus aparece una proteína muy densa a los electrones en forma granular, que constituye la matriz de los cuerpos amorfos, y en la que se encuentran embebidas las partículas de virus. Esta proteína, según nuestras observaciones, aparece en el citoplasma en pequeños acúmulos y separadamente de las partículas virales formadas de novo, pero, en una fase posterior, se reúnen la proteína y los viriones formando un cuerpo ovoide muy denso a los electrones que constituye la inclusión.

En los virus anisométricos, de simetría helicoidal, es donde se dan los casos más espectaculares de la formación de este tipo de proteínas; así en el grupo tobamovirus, el virus mosaico del tabaco induce a la formación de cuerpos de inclusión amorfos, llamados cuerpos X por Goldstein (1924). Estas inclusiones están formadas por material citoplásmico, ribosomas, mitocondrias y retículo endoplásmico y una masa de túbulos de mayor tamaño que las partículas del virus que dan las reacciones de proteína por medios citoquímicos. Estos túbulos son característicos y específicos de este grupo de virus. En el grupo potex, caracterizado por poseer partículas de 480 a 580 nm de largo y 15 nm de grueso, en el virus tipo, el virus X de la patata, se encuentran cuerpos de inclusión amorfos que están formados por elementos del citoplasma, partículas de virus y unas laminillas muy finas orientadas en sentido paralelo unas de otras pero separadas por pequeñas zonas de citoplasma y algunas veces con viriones intercalados en esas zonas de citoplasma.

En el grupo Carla, cuyos miembros son los que poseen viriones de 620-690 nm de longitud y 15 nm de grosor, uno de los componentes del grupo, el virus «red clover mosaic» (virus mosaico del *Trifolium incarnatum*) induce la formación de grandes inclusiones cristalinas que están formadas exclusivamente de proteína. Hemos seguido la formación de estos cristales por microscopía electrónica

«encontrando que los cristales están constituidos por partículas esféricas de proteína de unos 12 nm de diámetro (Rubio Huertos y Bos, 1973) la cantidad de proteína que forma estos cristales es de tres veces mayor que la cantidad de virus purificado que se puede obtener de un peso dado de hojas de plantas infectadas.

Como último ejemplo les hablaré del grupo poty-virus constituido por virus que poseen partículas de 700 a 820 nm de largo y 15 de grosor, y son transmitidos por áfidos. Este grupo es muy amplio y sus miembros forman el 40 por 100 de los virus de plantas que se conocen actualmente.

Precisamente este grupo se caracteriza por la formación de estructuras proteínicas muy específicas constituidas por láminas de proteína que pueden formar diversas estructuras, tales como bandas muy densas a los electrones constituidas por una serie de estas láminas soldadas unas a otras, y rollos, con diferentes formas, cilindros ex-céntricos y rosetas (pinwheels). Estas formaciones las estudiamos en su estructura tridimensional con López-Abella en 1966, siendo este trabajo confirmado más tarde por Edwardson en los Estados Unidos. Estas formaciones son típicas de los virus de este grupo y su observación basta para diagnosticar el que el virus de que se trate pertenece al grupo Poty e incluso dentro del grupo se pueden diagnosticar subgrupos, basados en algunas diferencias de estas estructuras.

Dentro de este grupo, algunos virus forman inclusiones proteínicas en forma de placas y grandes prismas cristalinos dentro de los núcleos de las células infectadas, como por ejemplo, el virus «Severe etch», donde se encuentran grandes cristales formados por placas cuadrangulares o en un virus del guisante que estudiamos con el doctor Bos de la Universidad de Wageningen (Holanda), 1969, que forma grandes prismas cristalinos en forma radial, aumentando el tamaño de los núcleos pero sin que lleguen a romper la membrana nuclear constituyendo uno de los más espectaculares ejemplos de inclusiones intracelulares observados hasta ahora.

Todas estas proteínas se sabe que están codificadas por el genoma viral, pero no forman parte del virión. Al principio se pensó que podría ser un exceso de la proteína de la cápsida, pero en los virus estudiados se ha visto que serológicamente no está relacionada esta

proteína con la de la cápsida ni con ninguna otra proteína de la célula.

Los procesos bioquímicos suelen ser económicos, no es corriente que se forme una gran cantidad de una sustancia que no sirva al fin del proceso de que se trate; por ello uno de los interrogantes que presenta esta proteína y en tal cantidad es qué papel puede jugar en la multiplicación del virus o en la infección.

Se ha especulado sobre si será una proteína represora de alguna función celular nociva para la multiplicación del virus o un necesario coadyuvante para dicha multiplicación. Ultimamente se cree que es una proteína necesaria para la transmisión por los afídidos vectores, pues se ha visto que éstos son incapaces de transmitir el virus completamente purificado y necesitan de una proteína para cumplir esta función, pero no existe todavía una prueba concreta de que sea esta proteína específicamente la necesaria (Kassanis, 1975).

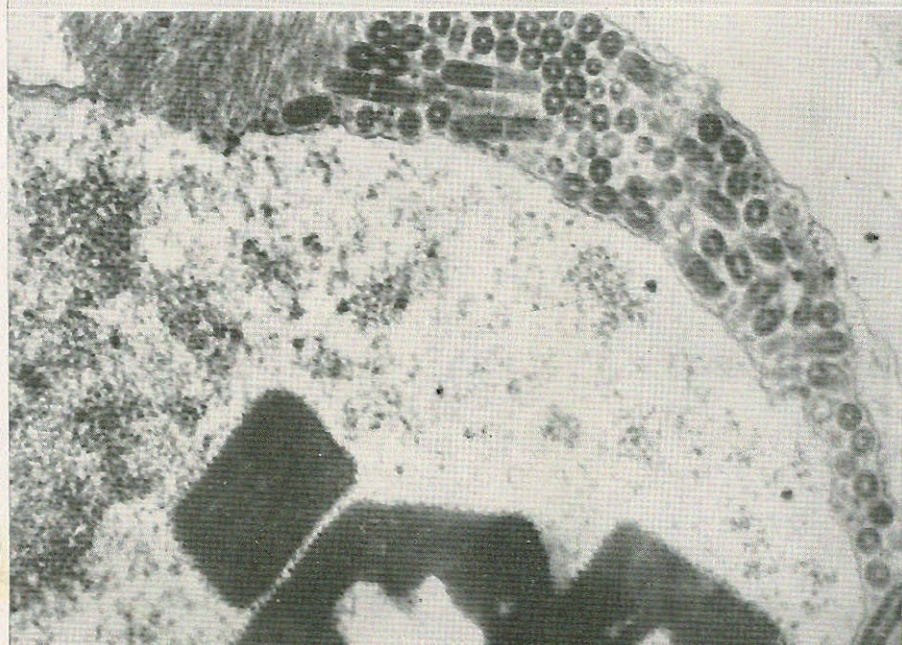
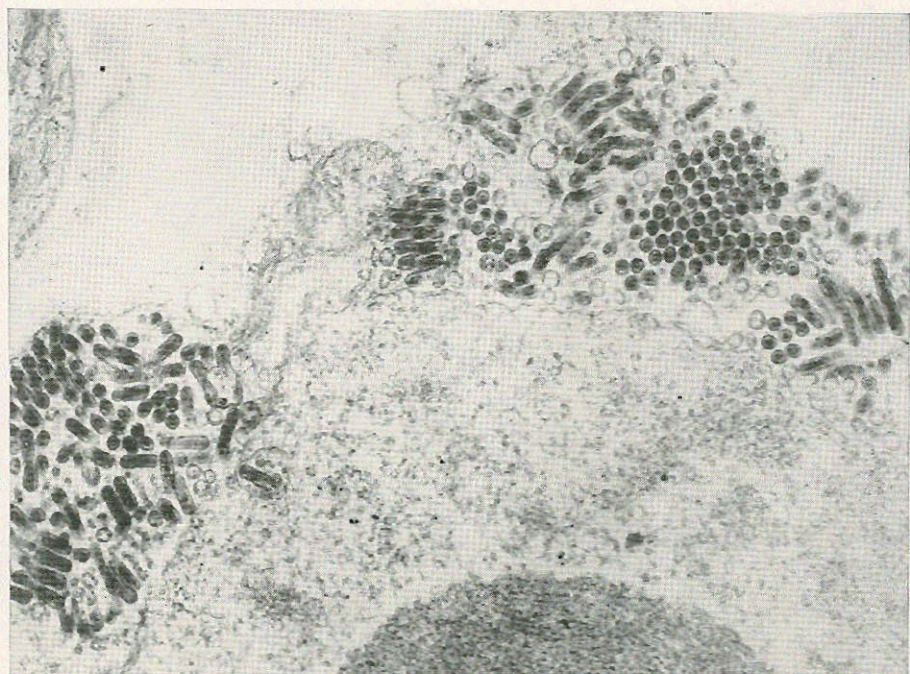
\* \* \*

Como ven Vds. en el estudio de los virus existen todavía muchas incógnitas, muchos problemas que habrán de irse resolviendo poco a poco, según avancen las técnicas, especialmente de biología molecular.

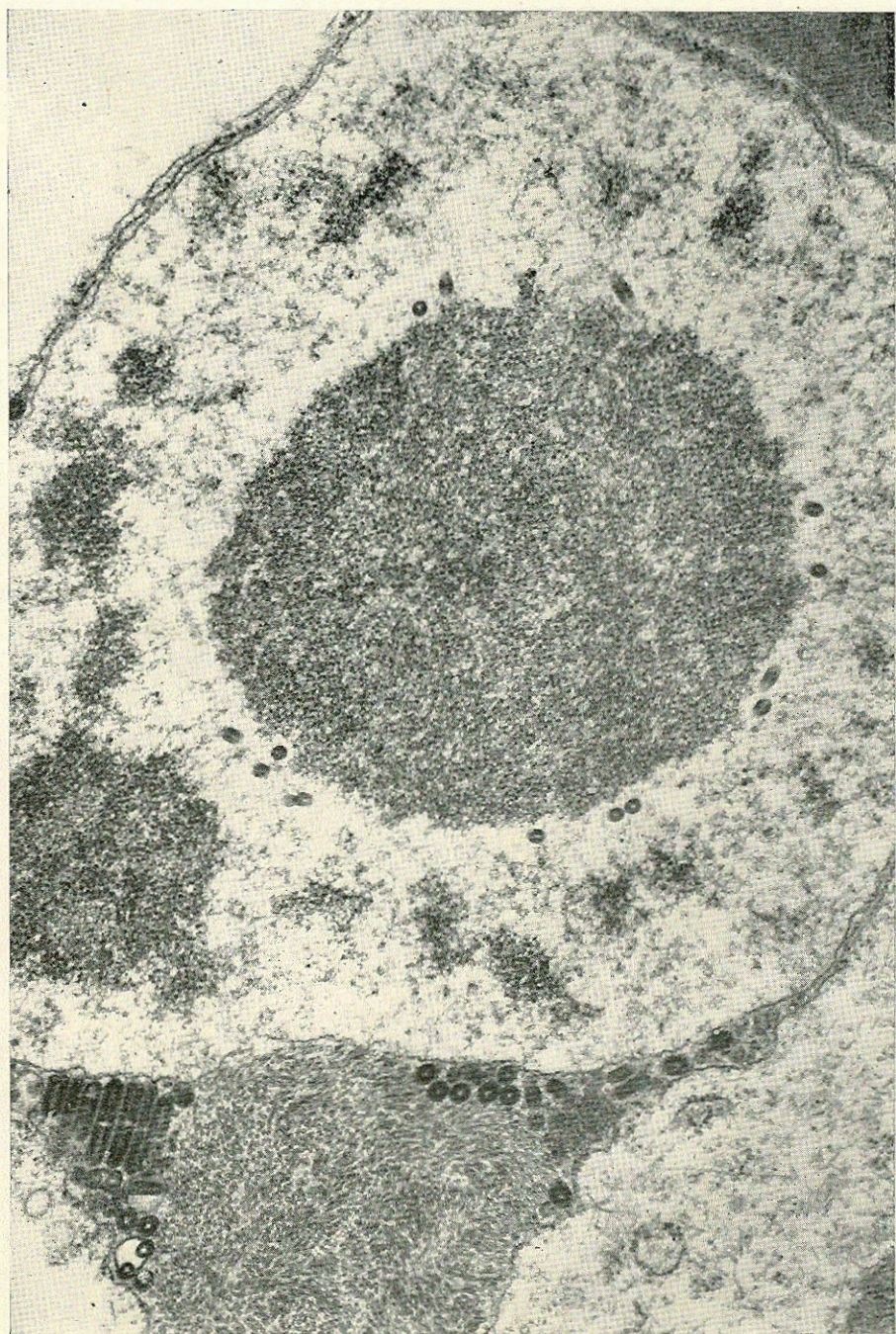
Si con este resumen muy limitado de las múltiples capacidades de los virus y su influencia en nuestro entorno e incluso en nosotros mismos he podido llamar la atención de los científicos ilustres que me escuchan sobre la importancia que el estudio de estos complejos fenómenos tiene y puede tener en el futuro para conseguir mejorar las condiciones de vida del hombre, tendré la seguridad de que mis palabras no han sido baldías.

He dicho.

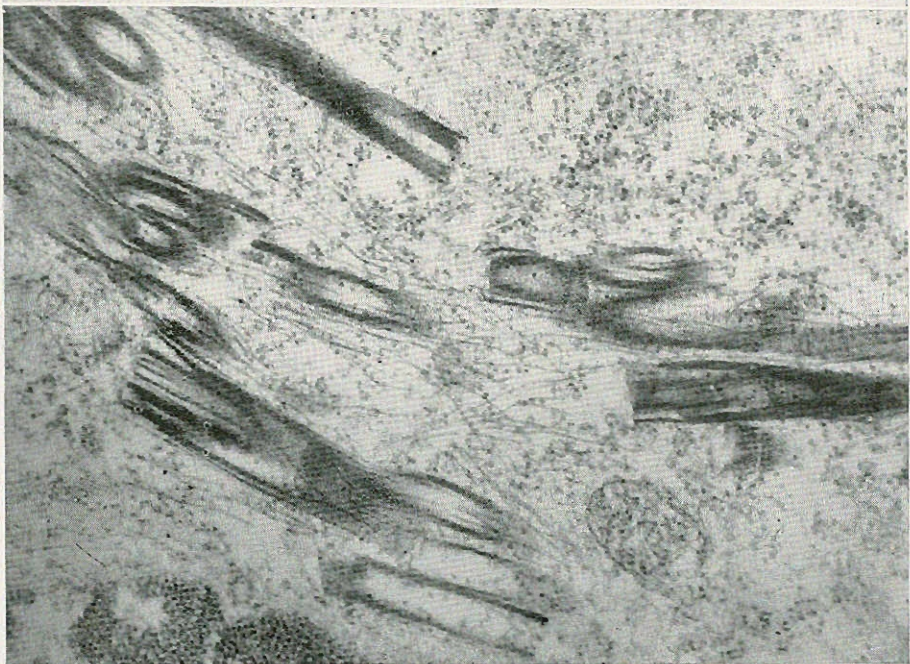
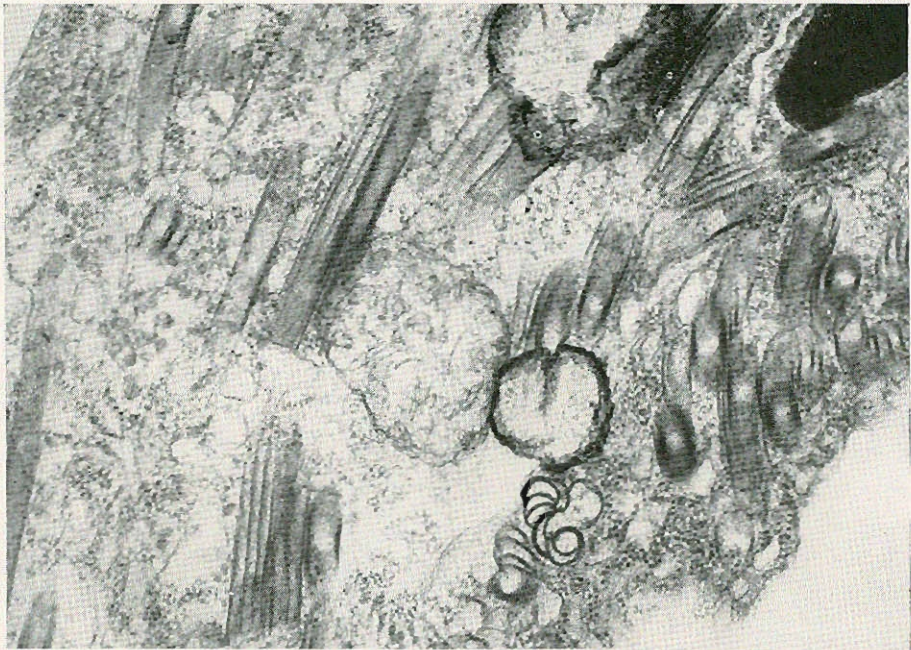












## BIBLIOGRAFÍA.

- BOS, L. and RUBIO-HUERTOS, M. 1969. *Light and electron microscopy of cytoplasmic and unusual nuclear inclusion bodies evoked by a virus from necrotic peas.* «Virology», 37, 377-385.
- DÍAZ MÚGICA, M. V. y RUBIO HUERTOS, M. 1969. *Microscopía electrónica de tejidos tumorales inducidos en «Phaseolus vulgaris» por «A. tumefaciens».* «Microbiol. Españ.», 22, 1-8.
- EMERSON, S. U. and WAGNER, R. R. 1972. *Dissociation and reconstitution of the transcriptase and template activities of vesicular stomatitis B and T virions.* «J. Virol.», 10, 297.
- FRANCKI, R. I. B. 1973. *Plant rhabdoviruses.* «Adv. Virus. Res.», 18, 257.
- FRANCKI, R. I. B. and RANGLES, J. W. 1973. *Some properties of lettuce necrotic yellow virus RNA and its in vitro transcription by virion-associated transcriptase.* «Virology», 54, 359.
- FRANCKI, R. I. B. and RANGLES, J. R. 1974. *Composition of the plant rhabdovirus lettuce yellows necrotic virus in relation to its biological properties, in «Negative Strand Viruses»* (R. D. Barry and B. W. J. Mahy, eds.). Academic Press, London.
- FUJISAWA, I., RUBIO-HUERTOS, M. and MATSUI, C. 1971. *Incorporation of Tymi-dine<sup>3</sup>H into Carnation etched ring virus.* «Phytopath.», vol. 61, págs. 681-684.
- FUJISAWA, I., RUBIO-HUERTOS, M. and MATSUI, C. 1972. *Deoxyribonucleose digestion of the nucleic acid from carnation etched ring virus.* «Phytopathology», 62, 7, 810.
- FUJISAWA, I., RUBIO-HUERTOS, M. and MATSUI, C. 1973. *Deoxyribonucleic acid in Dahlia mosaic virus.* «Phytopathology», vol. 64, 3, 287-290.
- GAY PRIETO, J., RUBIO-HUERTOS, M. and RODRÍGUEZ PÉREZ, P. et JAQUETI, G. 1963. *Sur la présence de particules virales dans la maladie de Duhring Brock.* «B. Soc. Française Der. Syphil.», 70, 3, 348-351.
- GAY PRIETO, J., RODRÍGUEZ PÉREZ, P., RUBIO-HUERTOS, M. and JAQUETI, G. 1964. *On the virus etiology of Keratoacanthoma.* «Acta-Derm. Venereol.», 44, 180-185.
- HARTLEY, J. W., ROWE, W. P. and HUEBNER, R. J. 1970. *Host-range restrictions of murine leukemia viruses in mouse embryo cell cultures.* «J. Virol.», 5, 221.
- HEHLMANN, R., KUFE, D. and SPIEGELMAN, S. 1972a. *RNA in human leukemic cells related to the RNA of a mouse leukemia virus.* «Proc. Natl. Acad. Sci. USA», 69, 485.
- HEHLMANN, R., KUFE, D. and SPIEGELMAN, S. 1972b. *Viral-related RNA in Hodgkins disease and other human lymphomas.* «Proc. Natl. Acad. Sci. USA», 69, 1727.
- HOWATSON, A. F. 1970. *Vesicular stomatitis and related viruses.* «Adv. Virus Res.», 16, 195.
- HUANG, A. S. and WAGNER, R. R. 1966. *Comparative sedimentation coefficients of RNA extracted from plaque-forming and defective particles of vesicular stomatitis virus.* «J. Mol. Biol.», 22, 381.

- HUEBNER, R. J. and TODARO, G. J. 1969. *Oncogenes of RNA tumor viruses as determinants of cancer*. «Proc. Natl. Acad. Sci. USA», 64, 1087.
- KAMEI, T., RUBIO-HUERTOS, M. and MATSUI, C. 1969. *Thymidine-<sup>3</sup>H uptake by X-bodies associated with Cauliflower mosaic virus infection*. «Virology», 37, No. 3, 506-507.
- KARA, J., MACH, O. and CERNA, H. 1971. *Replication of Rous sarcoma virus and the biosynthesis of the oncogenic subviral ribonucleoprotein particles («Virosomes») in the mitochondria*. «Biochem. Biophys. Res. Commun», 44, 162.
- LOWY, D. R., ROWE, W. P., TEICH, N. and HARTLEY, J. W. 1971. *Murine leukemia virus high-frequency activation in vitro by 5-iododeoxyuridine and 5-bromodeoxyuridine*. «Science» (Wash., D. C.), 174, 155.
- MANLY, K., SMOLER, D. F., BROMFELD, E. and BALTIMORE, D. 1971. *Forms of deoxyribonucleic acid produced by virions of the ribonucleic acid tumor viruses*. «J. Virol.», 7, 106.
- PENNINGTON, T. H. and RITCHIE, D. A. 1975. *Molecular Virology*. Chapman and Hall, in N. Y.
- RUBIN, H. and TEMIN, H. M. 1959. *A radiological study of cell virus interaction in the Rous sarcoma*. «Virology», 7, 75.
- RUBIO HUERTOS, M. 1962. *Ultrastructure of crystalline inclusions determined by two plant viruses*. Pontificia Academia Scientiarum.
- RUBIO HUERTOS, M. and GARCÍA HIDALGO, F. 1964. *Ultrathin sections of intranuclear and intracytoplasmic inclusions induced by Severe etch virus*. «Virology», 24, 84-90.
- RUBIO HUERTOS, M. 1966. *Electron microscopy of some aspects of intracellular plant virus infection*. Sixth International Congress for Electron Microscopy Kyoto, 157-158.
- RUBIO HUERTOS, M. y LÓPEZ ABELLA, D. 1966. *Ultraestructura de células de pimiento infectadas con un virus y su localización en las mismas*. «Microbiol. Españ.», 19, 77-86.
- RUBIO HUERTOS, M. 1968. *Further studies on ultrastructure of plants infected with Petunia ringspot virus*. «Protoplasma», 65, 465-476.
- RUBIO HUERTOS, M., CASTRO ROBLEDA, S., FUJISAWA, I. and MATSUI, C. 1972. *Electron microscopy of the formation of Carnation etched ring virus intracellular inclusion bodies*. «J. gen. Virol.», 15, 257-260.
- RUBIO HUERTOS, M. y PEÑA, A. 1972. *Un virus de tipo baciliforme en alcachofa («Cynara scolymus» L.)*. I. N. I. A. Ser. Prot. Veg., núm. 2, 123-137.
- RUBIO HUERTOS, M. and BOS, L. 1973. *Light and electron microscopy of red clover vein mosaic virus in pea («Pisum sativum»)*. «Neth. J. Pl.», 79, 94-103.
- SIEGEL, A. and HARIHARASUBRAMANIAN. 1974. *Reproduction of small plant RNA viruses*, en «Comprehensive Virology», vol. 2. Plenum Press. N. Y. and London.
- TEMAN, H. M. 1971. *The provirus hypothesis: Speculations on the significance of RNA-directed DNA synthesis for normal development and for carcinogenesis*. «J. Natl. Cancer Inst.», 46, III-VII.
- TEMIN, H. M. and BALTIMORE, D. 1972. *RNA-directed DNA synthesis and RNA tumor viruses*. «Adv. Virus Res.», 17, 129.

- TOORE, J. ed. 1973. *The molecular biology of tumor viruses*. Cold. Spring Harbor Laboratory.
- VALLADARES, Y. 1968. *Fisiopatogenia de la célula cancerosa desde el punto de vista de la genética bioquímica*. «Rev. Esp. Oncología», 15, 33-188.
- VEGA, J., GRACIA, O., RUBIO HUERTOS, M. and FELDMAN, J. M. 1976. *Transmission of a bacilliform virus of sowthistle: mitochondria modifications in the infected cells*. «Phytopath. Z.», 85, 7-14.
- VELA, A. and RUBIO HUERTOS, M. 1974. *Bacilliform particles within infected cells of «Trifolium incarnatum»*. «Phytopath. Z.», 79, 343-351.
- VICENTE (DE) JORDANA, R. 1955. *Nota preliminar sobre citoarjesis en hipótesis de los citoarjés*. «Ann. Edafología y Fisiol. Veg.», 15, 539-550.
- VICENTE (DE) JORDANA, R. 1957. *Acerca de la existencia de un sistema de defensa celular durante la fase de crecimiento: Citoarjesis e hipótesis de los citoarjés*. «An. Edafología y Fisiol. Veg.», 16, 387-456.

DISCURSO  
DE  
CONTESTACION

POR EL ACADÉMICO DE NÚMERO  
EXCMO. SR. PROF. DR. D. LOREN-  
ZO VILAS LÓPEZ.



Aquellos de los oyentes, de profesión ajena a la Biología, que acababan de escuchar el discurso del nuevo Académico, tal vez hayan notado alguna dificultad en seguir el hilo de la exposición de los apasionantes puntos virológicos que nos ha presentado. Y esta dificultad procede del empeño que ha tenido en incluirlos dentro de un marco de brevedad, que le agradecemos, pero que le ha impedido explicar o traducir la terminología virológica al romance diario, para lo que hubiera necesitado leernos un trabajo fundamental de virología escrito en castellano, en el que se hiciera el examen y traducción de los neologismos a la luz de los fenómenos que representan.

Replicar por copiar, expresarse por manifestarse, codificar por gobernar con clave, y otros verbos semejantes, no los usa el disertante por capricho, sino por atenerse al consenso de los especialistas, que, de este modo, identifican el verbo con su acción de modo unívoco, lo que no siempre se logra con traducciones mejores, aunque desconocidas en el lenguaje científico. Si esto hubiera hecho el Dr. Rubio, no se hubieran enterado los especialistas. He pensado repetidas veces en este fenómeno lingüístico y creo que no tiene remedio; los científicos de todo el mundo han optado por expresar sus ideas en inglés cuando quieren que les entiendan los de otras lenguas y tanto orientales como occidentales, como africanos, sufren, de rechazo, una invasión de barbarismos inevitables. La hegemonía del inglés procede de la victoria norteamericana en la última gran guerra, capitaneando el bando vencedor; Alemania vencida. Rusia imprevista, China dormida y Japón derrotado, poco podían hacer para acuñar neologismos. Los países latinos, con atisbos brillantes, no producen en la cantidad necesaria para imponerse. En España, me sobran los dedos de una mano para cotar el número de españoles que han aportado conocimientos nuevos sobre la estructura y funcionamiento de los virus, mientras que la misma tarea, en los países de habla española, la cumpliría con los de las dos manos. No



ha de extrañar, por consiguiente, que sea el habla inglesa la que se imponga. Los sustantivos virológicos aún se construyen mayoritariamente con raíces latinas y griegas, pero, esto es una concesión a normas tradicionales, cultivadas hoy, según mi opinión, más por presumir de una antigua nobleza cultural que por creer en un internacionalismo del latín, que sólo ha logrado la iglesia católica. Si no trabajamos en castellano, ¿cómo queremos que acepten palabras nuestras para expresar fenómenos que no hemos descubierto? Nadie duda que la «guerrilla» y el «torero» son palabras internacionales de nuestra invención y hasta la «siesta» y el «mañana» de la pereza se han hecho populares en el centro de Europa, aunque van siendo más fantasía que realidad actual.

He dicho que con los dedos de una mano contaba los virólogos españoles que han aportado novedades al conocimiento fundamental de los virus y he de añadir que el Dr. Rubio es uno de ellos, como hemos podido escuchar en su discurso, aunque lo haya dicho con sordina. También se permite el lujo de descubrir nuevos virus y de ponerles nombres, como hacen nuestros naturalistas con los macroseres. No tiene resonancia esta tarea en España, unas veces porque no son logros rentables de inmediato, otras porque los medios de difusión de las noticias no están preparados para contarlas y, algunas, tristemente, porque pequeñas pasiones hacen que unos grupos de científicos se empeñen en relegar a la sombra a los que juzgan sus competidores. Yo estudié ciencias naturales en el Bachillerato con un profesor de enseñanza privada cuya mano tiene escrita la clasificación de ciertos grupos de neurópteros en los principales museos del mundo. Su habitación de trabajo y hasta su habitación particular estaban llenas de cajas procedentes de Nueva York, Londres, Berlín, Tokio y otras ciudades. En España sólo le conocía el grupo oficial de la especialidad, que se apresuró a echar sobre su figura la cortina de humo que le ocultase. Tenemos en España buenos investigadores, no cabe duda, pero el buen pueblo no se entera, porque el sueldo de los investigadores no les permite mantener una oficina de relaciones públicas. Cuando la avalancha de alumnos que ahora invade nuestra Universidad haya durado unos cuantos años esta situación cambiará, porque en el buen pueblo que antes citaba habrá una significativa fracción que será capaz de comprender la ciencia,

de honrar a los profesores y de valorar a los investigadores. Para lograr esto hoy, hay que pedir un crédito de confianza a ese pueblo que no está capacitado para opinar sobre el caso; mañana, en cambio, lo harán espontáneamente, si es positivo el certificado de eficacia que justamente les pedirán a los que están manteniendo con sus tributos.

Estarán todos Vds. esperando que les relate cómo llegó el nuevo Académico a la posición científica que celebramos. Les diré, sibilina-mente, que su camino no ha sido fácil, ni difícil. No ha sido difícil porque tiene cualidades innatas de investigador, sin las cuales no se puede llegar muy lejos en estas tareas. Mucho se ha escrito sobre cuáles son estas cualidades, pero yo las resumiría en un «algo», mezcla de imaginación, sagacidad y realismo, que descubre una cantera donde los demás no vemos nada. Un discípulo de Cajal, que aún vive y ejerce su especialidad médica en su lúcida senectud, me contaba que le encargó Cajal la indagación de una estructura nerviosa que sospechaba debía de existir en determinado órgano. Pasó largo tiempo haciendo preparaciones microscópicas sin resultado alguno; aburrido, humillado, confesó a Cajal su fracaso. Este, sin inmutarse, pidió que le mostrase la última preparación hecha y al primer rastreo le felicitó, porque allí estaba lo que iba buscando. No consiste en mirar, sino en tener gracia para ver. No consiste en saberse todas las técnicas, sino en tener gracia para elegir la que va a servir o en idear la que se necesita, si no está en el manual. Esta gracia es la que posee el Dr. Rubio.

No ha sido fácil, porque la gracia natural ha de ser cultivada con inteligencia, esfuerzo y constancia, para alcanzar la primera línea y mantenerse en esta posición.

Empezó con una beca del Consejo Superior de Investigaciones Científicas para trabajar en Cambridge (Inglaterra) con Kenneth Smith, sobre virus de plantas. Hablo del año 1948 y en España no había nadie que entendiera del asunto; el fallo microbiológico era patente y el flamante farmacéutico que era el Dr. Rubio dio crédito a los que le aconsejaron y partió para Inglaterra sin una idea muy clara de la materia que tenía que aprender. Los trabajos de Smith le abrieron un horizonte que no ha abandonado en toda la vida. ¡Qué lástima que no haya dinero para enviar becarios «con gracia natural»

a los infinitos puntos del mundo científico en donde se hacen cosas que aquí no cultivamos! ¡Qué lástima que al volver los pocos que pueden ir no siempre encuentren aquí los medios necesarios para continuar!

En la técnica industrial, los grandes países se suelen valer del espionaje para capturar las ideas del competidor; nosotros hemos de desangrarnos económicamente con el pago de patentes. Pero, en la ciencia, no hay más espía posible, aunque ciertamente honorable, que el Becario. El dinero que gastamos hoy en Becarios científicos en el extranjero lo recuperaremos mañana con el ahorro de patentes técnicas. El Dr. Rubio fue una buena inversión. Hoy estamos en virología vegetal al mismo nivel que cualquier otra nación. Son ya varias las instalaciones que trabajan en España, aunque todavía se necesitan más, pero ésta es una cuestión de magnitud de inversión y no de conocimiento de la materia. El Dr. Rubio fue un adelantado. En virus de animales la situación era mejor, pues ya en la década de los años veinte aparecían trabajos del Dr. Eduardo Gallardo. La Sanidad Pública no permanecía ajena al apasionante tema de las enfermedades humanas causadas por virus y no se limitaba a las vacunaciones conocidas sino que investigaba sobre sus agentes.

El regreso de la estancia en Cambridge, representó para el doctor Rubio la aparición de las primeras dificultades. Adscrito a la Sección de Microbiología del Instituto de Edafología del Consejo Superior de Investigaciones Científicas tenía que empezar por procurarse el instrumental necesario, que no se adquiría por falta de consignación presupuestaria. La gracia tenía que suplir a las deficiencias, haciendo lo que podía resolver con su ingenio, llegando a poner en marcha técnicas rudimentarias que sorprendieron, por su eficacia, en el Instituto para el estudio de virus de bulbos, de Holanda.

Trabajó en Völkenrode (Alemania), antigua plaza fuerte de la aviación hitleriana, enseñando técnicas originales: pasó a Riverside (California) y completó la vuelta al mundo, desde este lugar, pasando por Japón, Hongkong, Manila y la India, derrochando el mismo ingenio para viajar casi sin dinero, que el aplicado a preparar sus investigaciones. Cuando la Sección de su destino pasó al Instituto «Jaime Ferrán» pudo ver colmados sus deseos, al poco tiempo, con la adquisición del primer microscopio electrónico del Centro de In-

vestigaciones Biológicas, con sus complementos de microtomos, sombreadores y equipo fotográfico, lo que le permitió hacer estudios estructurales de primera mano, poniéndose rápidamente en la primera línea que más arriba citábamos. Sus viajes ya no eran para aprender, sino para mostrar sus hallazgos, Congresos, Simposios, una mesa redonda en la Academia de Ciencias de Nueva York y hasta su presencia en la Universidad de Nagoya —en el Japón— para colaborar en la terminación de un trabajo que estaban haciendo unos colegas japoneses. Su historial declara 160 trabajos científicos, cuatro libros y dos colaboraciones en libros de autor múltiple. En un librito ruso sobre inclusiones, que cayó en mis manos, se le cita nueve veces; en los de virus vegetales del mundo occidental ya es inevitable. Como refrendo de su labor ha sido galardonado dos veces con el premio Franco de investigación, una en equipo y otra a título personal. Con este nuevo Académico y otros investigadores biólogos del Consejo de Investigaciones ya se va aliviando ese horrible vacío de nombres españoles en las citas de literatura biológica internacional. Ya era hora y esperamos que aumenten, si hay comprensión para la investigación fundamental. Repito que esto no lo sabe el pueblo llano, que se holgaría mucho de conocerlo.

Ya vamos viendo quién es nuestro nuevo colega. De sus logros biológicos no hemos dicho nada. Tampoco él dice casi nada en su discurso, porque, consciente de las tremendas incógnitas existentes en el campo de la virología, nos ha presentado las doctrinas más aceptadas en la actualidad, echando un velo sobre su trabajo, modestamente levantado en el capítulo sobre proteínas e inclusiones. Respetaré su posición y al oyente interesado le remitiré a la nutrida serie de publicaciones a que antes he aludido. Pero, no dejaré de hacerle coro en algunos puntos de su disertación, para mejor recordarlos.

En primer lugar la importancia de los virus vegetales, que si bien aumentan el valor de los tulipanes que vemos reproducidos en las guirnaldas de algunos cuadros flamencos del Museo del Prado, la verdad es que causan una gran merma en nuestra producción agrícola, cifrable fácilmente, por citar sólo dos ejemplos, en la disminución remolachera causada por los virus llamados amarillos y en la sangría anual de divisas para importar patata de siembra exenta de virus.

La lucha contra estos y otros virus debiera de ser motivo de honor para los agricultores españoles. Claro que es más fácil pedir primas para aliviar la mala producción. Que no se enfade nadie; si alguien se siente aludido, enmiédese y si no es así, enhorabuena.

En segundo lugar, la complejidad que se va descubriendo en algunos virus, a diferencia de la sencillez que a todos se les atribuyó al principio. La estructura de algunos bacteriófagos ya reveló que podían ser máquinas complicadas; el descubrimiento de la misión de algunas proteínas capsoméricas nos indica que no desempeñan el único papel de cobertura sino que sirven a un juego más complicado. La presencia de enzimas, como la transcriptasa, de acción perfectamente conocida, sugiere la de otros enzimas menos estudiados, pero causantes de una actividad de los virus desconocida anteriormente. La existencia de los virus multiparticulados o virus de rompecabezas, como les designo en clase, porque necesitan juntarse las diversas piezas que los componen y en su correcto orden, para que sean infectantes, es otra maravilla de la naturaleza. Deben ser temibles, cuando la naturaleza ha puesto tanta dificultad para su multiplicación.

Finalmente, el problema del cáncer en el hombre. Los médicos han observado que unas veces es de herencia y otras no, mientras no hay prueba de que sea contagioso. Estas circunstancias siempre me han llevado a admitir la teoría endógena de los virus del cáncer y la multiplicidad de los mismos, hasta el punto de que cada hombre tiene «su» cáncer, con virus dependientes de su particular constitución cromosómica, y que, por fortuna, no siempre se manifiesta. Las doctrinas que nos ha expuesto el Dr. Rubio van por este camino. El día que se haya comprobado cualquiera de ellas, será un día revolucionario para la ciencia biológica, porque no sólo se habrá explicado el cáncer, sino otros muchos misterios. Que parte de un cromosoma se independice para ser un ser vivo reproducible, está muy cerca de la generación espontánea. Que un virus vivo se integre en un cromosoma para volver a independizarse más tarde, está muy cerca de la resurrección de los seres. En tiempos modernos, después del milagro de Calanda, que reintegró a Miguel Pellicer su pierna que llevaba dieciocho meses enterrada (1), hemos tenido que bajar a la bio-

---

(1) LEANDRO AINA, *El milagro de Calanda*. Zaragoza, 1972.

logía molecular para ver algo parecido en el orden natural. La liofilización de bacterias le sume al investigador en la meditación sobre la conservación, que no reaparición, de la vida. ¿En dónde se esconde en una bacteria que permanece años liofilizada? En un metabolismo casi nulo, se me contestará. Prodigio singular, que nadie sabe explicar en este momento, le argüiremos.

Dejando ese mundo, en el que los investigadores se esfuerzan por quitarle ficción a la ciencia, volvamos a la realidad de nuestro momento. Esta es que el Dr. Miguel Rubio, Profesor de Investigación, se incorpora a nuestra Academia simbolizando en qué medida debe estar la Farmacia unida a la investigación fundamental para extraer las consecuencias de orden práctico que alimentan a la profesión farmacéutica, esperando que siga con entusiasmo y brillantez sus trabajos. A mí, que tan de cerca he seguido su vida y que admiro sus condiciones científicas y sus éxitos, me han encargado le dé la bienvenida, lo que hago como rito colectivo, pero también con la emoción personal de quien ve que los que en tiempo remoto fueron sus alumnos son hoy superiores al profesor.