

Papilomavírus humano: biologia viral e carcinogênese

Papillomavirus human: viral biology and carcinogenesis

Gláucia da Conceição Silva Souza¹
Elisvania Rodrigues da Silva²
Francisca Lopes dos Santos Macêdo³
Lázaro Rogério Carvalho Soares⁴
Veronésia Maria de Sena Rosal⁵
Maria Gabrielle de Lima Rocha⁶

Palavras-chave

Papillomaviridae
Carcinogênese
Proteínas oncogênicas
Neoplasias do colo do útero

Keywords

Papillomaviridae
Carcinogenesis
Oncogene proteins
Uterine cervical neoplasms

Resumo

O Papilomavírus humano (HPV) exerce um papel central na carcinogênese do colo uterino. Os mecanismos utilizados pelos HPVs de alto risco para influenciar o ciclo de divisão celular, levando-o à sua desregulação e, conseqüentemente, para a progressão de lesões, incluem fatores inerentes ao vírus e à sua inter-relação com a célula hospedeira. Tais interferências no metabolismo celular poderão causar modificações morfológicas e funcionais, promovendo o aparecimento de neoplasias. Compreendendo a importância do conhecimento dos processos biológicos e moleculares utilizados pelo HPV na carcinogênese para o diagnóstico precoce e na avaliação prognóstica da doença, o objetivo deste trabalho foi buscar na literatura científica a relação da biologia viral do HPV com o desenvolvimento do câncer de colo útero e novas descobertas.

Abstract

The Human papillomavirus (HPV) plays a central role in carcinogenesis of the cervix. The mechanisms used by high-risk HPVs to influence the cell division cycle taking it to its deregulation and consequently for progression of lesions include factors related to the virus and its interrelationship with the host cell. Changes in cellular metabolism can cause morphological and functional changes, promoting the appearance of tumors. Understanding the importance of knowledge of the biological and molecular processes used by HPV in carcinogenesis for early diagnosis and prognostic evaluation of the disease, the objective was to search the scientific literature regarding the HPV's viral biology to the development of cervical cancer and new discoveries.

Estudo realizado na Faculdade de Ciências Médicas – Belo Horizonte (MG), Brasil.

¹Biomédica no Medilab – Laboratório Médico – João Monlevade (MG), Brasil.

²Médica na Clínica de Urologia e Ginecologia (UROGIN) – Teresina (PI), Brasil.

³Médica na Maternidade Dona Evangelina Rosa – Teresina (PI), Brasil.

⁴Médica no Hospital Getúlio Vargas – Teresina (PI), Brasil.

⁵Psicóloga. Mestranda em Farmacologia Clínica pela Universidade Federal do Ceará (UFC) – Teresina (PI), Brasil.

⁶Doutora (PhD) em Ciências Farmacêuticas, Professora de Citologia Clínica pela Faculdade de Farmácia (UFMG) – Belo Horizonte (MG), Brasil.

Endereço para correspondência: Maria Gabrielle de Lima Rocha – Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas – Universidade Federal de Minas Gerais – Avenida Antônio Carlos, 662 – CEP 31270-901 – Belo Horizonte (MG), Brasil – E-mail: mariagabibr@gmail.com

Conflito de interesses: não há.

Introdução

A maioria das infecções por papilomavírus humano (HPV) são subclínicas e transitórias. Uma pequena porcentagem de casos progride para carcinoma invasivo do colo do útero, sendo o tipo de HPV e sua persistência, os fatores mais importantes para este comportamento biológico diferencial^{1,2}. Além de aspectos relacionados à própria infecção, como carga viral, frequência de integração, infecção única ou múltipla; fatores ligados ao hospedeiro, à imunidade, à genética e ao comportamento sexual parecem influenciar os mecanismos que determinam a regressão ou a persistência da infecção e também a progressão para lesões precursoras ou câncer³. A precocidade da atividade sexual, multiplicidade de parceiros e a frequência sexual são considerados fatores de risco para se infectar pelo HPV. A multiparidade, o tabagismo, a presença concomitante de outras doenças sexualmente transmissíveis (DSTs) e o uso de contraceptivos orais por longo período são considerados fatores de risco adicionais para o desenvolvimento de lesões e do câncer do colo do útero⁴.

A idade também interfere nesse processo, sendo que a maioria das infecções por HPV em mulheres com menos de 30 anos regride espontaneamente, ao passo que acima dessa idade a persistência é mais frequente⁴. Interferências no metabolismo celular poderão causar modificações, promovendo o aparecimento de biomarcadores que, uma vez identificados, serviriam para orientar o prognóstico de evolução da doença. Ciente da importância do entendimento do mecanismo da infecção pelo HPV para promover a prevenção do câncer, este estudo tem como objetivo de evidenciar na literatura a relação da carcinogênese e biologia viral do HPV com o desenvolvimento do câncer de colo útero.

Metodologia

Trata-se de uma revisão de literatura sobre a relação da carcinogênese e biologia viral do HPV com o desenvolvimento do câncer de colo do útero. Foram selecionadas, para estudo, publicações entre os anos 2000 a 2015, por intermédio de buscas utilizando os bancos de dados eletrônicos Bireme, Lillacs, Medline, PubMed e SciELO, utilizando as seguintes palavras chaves: “papilomavírus humano”, “carcinogênese HPV”, “biologia viral do HPV”, “infecção pelo HPV”, “câncer de colo do útero”, “oncoproteínas”. A proposta foi oferecer fundamentação para um conhecimento mais apurado sobre a relação da biologia viral do HPV com o desenvolvimento do câncer de colo útero, cujo grau de recomendação e nível de evidência D são obtidos por opinião desprovida de avaliação crítica, baseada em consenso, estudos que se enquadrassem nos descritores.

Comentários e discussão

O mecanismo molecular que permite a entrada do HPV na célula ainda não é muito bem entendido⁵. Parece ocorrer via endocitose, por vesículas cobertas por clatrina, sendo um processo lento e complexo que pode durar horas⁶. O desnudamento do vírus, no interior da célula, permite que o DNA viral seja transportado para o núcleo. Este vírus reconhece receptores específicos presentes apenas em células indiferenciadas. Por isso, a infecção se inicia na camada basal da epiderme, cujas células imaturas, chamadas de células basais, são expostas em decorrência da abrasão e consequente formação de microlesões na pele ou mucosa. O HPV também pode infectar as células de reserva do epitélio colunar endocervical, ou, ainda, as células metaplásicas ora presentes na região de junção escamo-colunar (JEC) do colo uterino⁷.

Após sua entrada, o DNA viral é direcionado ao núcleo celular e iniciando o processo de estabilização (Figura 1). Estudos em mulheres infectadas relatam que o baixo número de cópias virais (10–200 cópias por célula). Nas células basais, favorece a manutenção da forma episomal (circular), a qual é garantida também pela atuação dos genes E1 e E2⁸. Nessa fase, chamada de latente, o HPV se mantém em pequeno número, se replicando apenas quando a célula também se replica. O vírus pode permanecer assim no tecido por vários dias, ou até por anos, sem causar nenhuma alteração tecidual. Devido à baixa carga viral, sua transmissão é dificultada, mas não é impedida⁹. Nesta fase o diagnóstico da infecção por HPV só é possível utilizando-se métodos de biologia molecular.

Por não ser frequente o diagnóstico, sua transmissão acontece de forma livre. Entretanto, mesmo que o diagnóstico seja feito, atualmente, não existe nenhum tratamento que elimine o vírus do tecido, sendo a cura dependente exclusivamente do sistema imunológico⁷. Ainda sob a forma episomal, partículas virais começam a ser formadas independentemente do ciclo de divisão celular, aumentando, assim, em número.

Não se conhece, ainda, o evento responsável pela saída do vírus de seu estado de latência para a fase produtiva (Figura 1). É nesta fase que as lesões aparecem. As lesões intraepiteliais de baixo grau (LSIL) são lesões simples que, na maioria das vezes, regredem espontaneamente e podem ser provocadas tanto por vírus de alto como de baixo risco. Já as lesões classificadas como lesões intraepiteliais de alto grau (HSIL) são provocadas por vírus de alto risco e são consideradas como as lesões precursoras do câncer de colo uterino.

A formação das partículas virais está intimamente relacionada ao ciclo de maturação e diferenciação celular. A replicação do DNA ocorre dentro das células indiferenciadas e imaturas, sendo encapsulado nas células maduras. As partículas virais formadas,

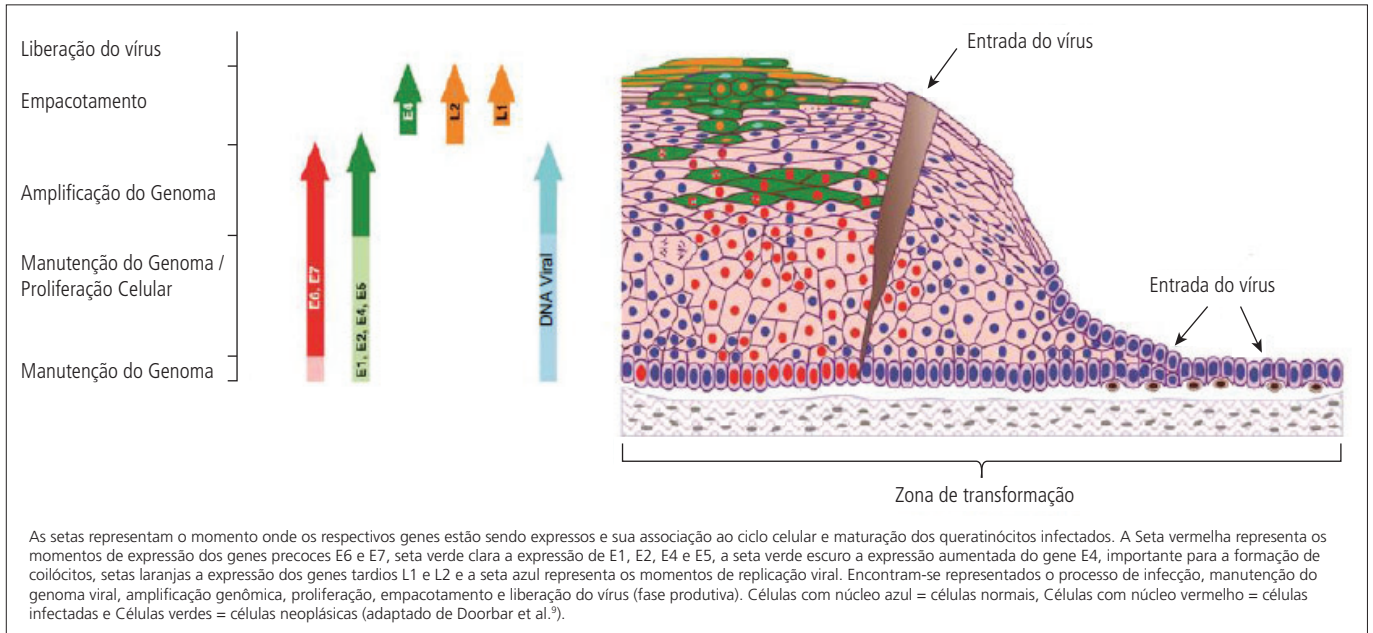


Figura 1 - Expressão gênica do Papilomavírus humano e sua relação com o processo de maturação celular

chamadas de virions, saem de dentro da célula e estão prontas para uma próxima infecção (Figura 1).

Para que o vírus consiga se replicar, proteínas virais como E1 e E2 começam a ser expressas. Estas proteínas são essenciais para a estabilização do DNA viral em longo prazo e controlam a expressão dos demais genes virais. O gene E4 codifica uma proteína associada à maturação viral e à alteração da matriz intracelular. E4 se associa com ceratinas do citoesqueleto da célula hospedeira, facilitando a montagem e maturação do vírus. E4 é expressa nas camadas diferenciadas do epitélio, em estágios tardios da infecção e tem sido colocalizada com a proteína L1⁹.

A região de E5 codifica uma proteína hidrofóbica que é capaz de interagir com várias proteínas transmembranas como os receptores do fator de crescimento epidérmico (EGFR) e o fator de crescimento derivado de plaquetas (PDGF), entre outros. Possui função sinérgica ao fator de crescimento epidérmico (EGF), estimulando a proliferação celular e impedindo a apoptose^{10,11}.

Células normais do epitélio escamoso estratificado param de se reproduzir à medida que começam a se diferenciar, um problema para o HPV, que precisa da DNA polimerase e dos fatores de transcrição que são apenas produzidos durante a divisão celular. Esse problema é resolvido pela atuação das oncoproteínas E6 e E7. Os genes E6 e E7 codificam proteínas que podem estimular a proliferação e a transformação das células hospedeiras, cooperando sinergicamente para a imortalização celular. A oncoproteína E7 é uma pequena fosfoproteína que se liga de forma eficiente à proteína do retinoblastoma (pRB) em seu sítio de ligação de fatores de transcrição, como membros da família E2F. Esta interação leva à liberação do fator de transcrição E2F do complexo repressor transcricional pRB/E2F, permitindo a estimulação da proliferação celular. E7 também é capaz

de associar-se a outras proteínas envolvidas na proliferação celular^{9,11} e imortalizar células por desregular mecanismos de apoptose¹².

A proteína E6 complementa o papel desempenhado por E7, evitando a indução de apoptose e a correção de possíveis erros que aparecem durante o processo de replicação do DNA^{9,13}. Esta oncoproteína é capaz de se associar à proteína p53 por intermédio de outra proteína celular, a proteína associada à E6 (E6-AP). Esse complexo se liga por sua vez à E3 ubiquitina ligase, resultando na ubiquitinação de p53 e subsequente degradação proteolítica. Outras vias de inativação de p53 constituem-se no sequestro da mesma no citoplasma pela proteína E6 viral¹³. Estes efeitos anulam as propriedades de p53 e interrompem sua habilidade de bloquear o ciclo celular e de induzir a apoptose. E6 também colabora na imortalização celular ativando a telomerase da célula hospedeira^{9,11,13}.

A expressão e atuação das proteínas oncogênicas do HPV são necessárias para o surgimento de lesões cervicais. Mutações adicionais geradas a partir da instabilidade genômica provocada pelas oncoproteínas são necessárias para a progressão maligna^{12,13}. À medida que a carga viral aumenta mais e mais proteínas vão sendo produzidas e acumuladas dentro da célula hospedeira⁹. Quando o nível intracelular de E1 é alto, replicações aberrantes começam a ocorrer e geram um complexo conjunto de fragmentos do genoma viral que são ativamente modificados, recombinados e degradados pela maquinaria celular do hospedeiro. Acredita-se que esses fragmentos subgenômicos assim gerados podem ameaçar a estabilidade do genoma viral, fazendo-o integrar¹⁴.

Durante o processo de integração do genoma viral ao genoma do hospedeiro, os genes E2 ou E1 são quebrados, perdendo assim sua funcionalidade. Como consequência, perde-se também o controle na expressão dos genes oncogênicos E6 e E7 e a estabilidade da

forma episomal⁹. Existem evidências de que o processo de integração é gradativo, havendo coexistência entre as formas episomais e integradas (forma mista). O genoma do HPV integrado permanece ativo e disponível à replicação e transcrição, sendo controlado pelas proteínas E1 e E2 produzidas pela forma episomal¹⁵.

O aumento do número de cópias do HPV integrado promove um aumento da quantidade das proteínas E6 e E7 disponíveis, promovendo instabilidade genômica. A atuação das proteínas oncogênicas, conjuntamente com as várias integrações virais, favorecem o processo de carcinogênese. Com a integração total das formas episomais, a replicação viral fica limitada à multiplicação celular, estabelecendo um ciclo produtivo incompleto (ciclo abortivo), em que partículas virais não chegam a ser formadas⁹.

Portanto, a carcinogênese é um processo de múltiplas etapas, onde mutações alteram a fisiologia celular, que, por sua vez, altera a morfologia das células, que, assim, alteram o funcionamento do tecido e, por consequência, do órgão. As alterações genômicas promovidas pelo HPV vão desde mutações pontuais até o silenciamento gênico ou ativação de proto-oncogenes, rearranjos gênicos e cromossomais e a perda de heterozigose. Mutações vão se acumulando até que a célula saia da normalidade e se transforme em neoplásica¹⁶.

Estudos têm demonstrado que a presença de infecção persistente por HPV de alto risco é o fator mais importante para a progressão maligna, mas, por si só, não é suficiente para que ela ocorra. Fatores intrínsecos ao hospedeiro, como a sexo, idade, resposta imune, presença de mutações, o hábito de fumar, estresse, uso de anticoncepcionais orais por longo espaço de tempo, paridade, presença de outras Doenças sexualmente transmissíveis (DSTs) — principalmente o herpes, a *Chlamydia trachomatis* e o vírus da imunodeficiência

humana (HIV) —, presença de múltipla infecção por HPV, além de fatores intrínsecos ao próprio vírus (como o tipo viral, variante, carga viral, frequência e local de integração), influenciam a probabilidade de se desenvolver lesões e estas progredirem para o câncer⁴.

De forma geral, a infecção acomete jovens no início da atividade sexual, sendo um fenômeno transitório em cerca de 80% dos casos. Estima-se que 20% das mulheres e 6% dos homens desenvolvem infecção persistente¹⁷.

Conclusão

O conhecimento acumulado, principalmente nas últimas décadas, sobre a biologia viral, a carcinogênese e a imunogênese do HPV permitiu desenvolver métodos de diagnóstico e modelos de vacinas que contribuem para que metas venham a ser alcançadas com êxito. Mas ainda há muitas perguntas sem respostas e mulheres morrendo por causa deste tumor.

Não se conhece, ainda, o que motiva a saída do vírus de seu estado de latência para a fase produtiva e não se entende com clareza a importância da carga viral nos mecanismos de persistência e integração. O entendimento da biologia viral pode contribuir para a descoberta de novos marcadores que auxiliem na identificação precoce das mulheres com real risco de desenvolvimento de câncer ou até mesmo serem utilizados como alvos para medicamentos que consigam frear a carcinogênese ou impedir a replicação viral. As potencialidades são grandes e como projeção para o futuro vale acreditar que a total compreensão do ciclo de vida do HPV e de seu mecanismo carcinogênico pode significar, um dia, a extinção do câncer de colo do útero.

Leituras suplementares

- Arias-Pulido H, Peyton CL, Joste NE, Vargas H, Wheeler CM. Human Papillomavirus Type 16 Integration in Cervical Carcinoma In Situ and in Invasive Cervical Cancer. *J Clin Microbiol*. 2006;44(5):1755-62.
- Cheung JL, Lo KW, Cheung TH, Tang JW, Chan PK. Viral Load, E2 Gene Disruption Status, and Lineage of Human Papillomavirus Type 16 Infection in Cervical Neoplasia. *J Infect Dis*. 2006;194(12):1706-12.
- Chow LT, Broker TR, Steinberg BM. The natural history of human papillomavirus infections of the mucosal epithelia. *APMIS*. 2010;118(6-7):422-49.
- Instituto Nacional do Câncer – INCA [internet]. Brasil: Controle do Câncer do Colo do Útero [updated 2015 October 15]. Available from: <http://www2.inca.gov.br/wps/wcm/connect/acoas_programas/site/home/nobrasil/programa_nacional_controle_cancer_colo_uterio/fatores_risco>
- Schelhaas M, Shah B, Holzer M, Blattmann P, Kuhling L, Day PM, et al. Entry of human papillomavirus type 16 by actin-dependent, clathrin- and lipid raft-independent endocytosis. *Plos Pathogens*. 2012;8(4):e1002657.
- Laniosz V, Dabdeen SA, Havens MA, Meneses PI. Human papillomavirus type 16 infection of human keratinocytes requires clathrin and caveolin-1 and is brefeldin A sensitive. *J Virol*. 2009;83(16):8221-32.
- Rosa MI, Medeiros LR, Rosa DD, Bozzeti MC, Silva FR, Silva BR. Papilomavírus humano e neoplasia cervical. *Cad Saude Publica*. 2009;25(5):953-64.
- Kadaja M, Isok-Paas H, Laos T, Ustav E, Ustav M. Mechanism of genomic instability in cells infected with the high-risk human papillomaviruses. *PLoS Pathogens*. 2009;5(4):e1000397.
- Doorbar J, Quint W, Banks L, Bravo IG, Stoler M, Broker TR, et al. The biology and life-cycle of human papillomaviruses. *Vaccine*. 2012;30 Suppl 5:F55-70.
- Cai Q, Lv L, Shao Q, Li X, Dian A. Human papillomavirus early proteins and apoptosis. *Arch Gynecol Obstet*. 2013;287(3):541-8.
- Yuan CH, Filippova M, Duerksen-Hughes P. Modulation of apoptotic pathways by human papillomavirus (HPV) mechanisms and implications for therapy. *Viruses*. 2012;4(12):3831-50.
- Nguyen CL, Munger K. Human papillomavirus E7 protein deregulates mitosis via an association with nuclear mitotic apparatus protein 1. *J Virol*. 2009;83(4):1700-7.
- Howie HL, Katzenellenbogen RA, Galloway DA. Papillomavirus E6 proteins. *Virology*. 2009 Feb 20;384(2):324-34.
- Männik A, Runkorg K, Jaanson N, Ustav M, Ustav E. Induction of the bovine papillomavirus origin “onion skin” – type DNA replication at high E1 protein concentrations in vivo. *J Virol*. 2002;76(11):5835-45.
- Kadaja M, Sumerina A, Verst T, Ojarand M, Ustav E, Ustav M. Genomic instability of the host cell induced by the human papillomavirus replication machinery. *EMBO J*. 2007;26(8):2180-91.
- Rivoire W, Corleta HVE, Brum IS, Capp E. Biologia molecular do câncer cervical. *Rev Bras Saude Mater Infant*. 2006;6(4):447-51.
- Giuliano AR1, Tortolero-Luna G, Ferrer E, Burchell AN, de Sanjose S, Kjaer SK, et al. Epidemiology of Human Papillomavirus Infection in Men, Cancers other than Cervical and Benign Conditions. *Vaccine*. 2008;26 Suppl 10:K17-28.