

24

BIOLOGIA DO VÍRUS DO PAPILOMA

CHARLES JULIAN LINDSEY
RITA DE CASSIA STOCCO DOS SANTOS

Capítulo 24

BIOLOGIA DO VÍRUS DO PAPILOMA: SUA IMPORTÂNCIA EM PROCESSOS ONCOGÊNICOS E SUA RELAÇÃO COM CO-FATORES AMBIENTAIS

*CHARLES JULIAN LINDSEY
RITA DE CASSIA STOCCO DOS SANTOS*

INTRODUÇÃO

Os estudos da carcinogênese e dos mecanismos de oncogênese adquirem importância crescente pelo impacto cada vez maior que as doenças resultantes provocam na saúde das populações humanas. Dentre os fatores etiológicos envolvidos, os vírus têm sido evidenciados como de grande importância, atuando principalmente nos grandes aglomerados populacionais. Os vírus da papilomatose humana (HPV, vírus do papiloma humano) têm sido relatados como precursores biológicos de tumores humanos ou envolvidos com o processo da transição da célula displásica para neoplásica. Os vírus do papiloma compõem um pequeno grupo de vírus de DNA, caracterizado por induzirem a formação de verrugas, ou papilomas, numa grande variedade de organismos, incluindo o homem, sendo amplamente distribuído entre os mamíferos (bovinos, ovinos, caprinos, equinos, murinos, suínos, entre outros). Estas lesões são em geral benignas, podendo porém se desenvolver e se transformar em tumores malignos. Por outro lado, alguns papilomas podem regredir naturalmente.

Em humanos, o vírus do papiloma (HPV) é capaz de provocar infecção clínica e subclínica de maneira específica em mulheres e homens por transmissão sexual. Cerca de 80 tipos diferentes de HPV já foram isolados de lesões benignas e malignas, classificados em alto, médio e baixo risco em dependência de sua associação mais direta ou não com o processo neoplásico.

Nos últimos anos, muitos progressos foram feitos quanto ao conhecimento da organização física do genoma destes vírus, graças à disponibilidade das enzimas de restrição, técnicas de clonagem, a Reação em Cadeia pela Ação da Polimerase e procedimentos de sequenciamento de ácidos nucleicos. Estudos que permitiram uma maior compreensão da função e das características genéticas destes vírus foram possíveis somente após sua clonagem em plasmídeos ou bacteriófagos. O desenvolvimento de novas técnicas de biologia molecular possibilitou a detecção de diferentes vírus do papiloma por diferentes laboratórios. Tais estudos levaram à verificação de que, por exemplo, cerca de 15% das mulheres assintomáticas, sexualmente ativas, são descritas como possíveis portadoras de HPV. Destas mulheres, aquelas com infecções persistentes apresentam risco elevado de

câncer cervical uterino, patologia de importância devido a se constituírem uma das causas mais relevantes de morte entre o sexo feminino.

O presente capítulo é busca discutir e salientar alguns aspectos referentes às interações entre o vírus do papiloma (principalmente HPV) e a célula hospedeira no desenvolvimento dos processos neoplásicos, com ênfase nas interações entre genomas virais e hospedeiros.

ASPECTOS CLÍNICOS

Todos os HPV induzem proliferação epitelial, resultando em lesões benignas, que podem evoluir para lesões pré-neoplásicas e posteriormente sofrer transformações que conduzem a neoplasias. Considerados como específicos aos tecidos epiteliais, a literatura tem recentemente acumulado crescentes evidências de que o vírus possa se instalar em estado de latência em células mononucleares do sangue.

Dentre as lesões benignas e pré-neoplásicas, caracterizam-se as chamadas “verrugas” e os papilomas com características clínicas específicas:

- Verruga comum: distribuída pelas palmas das mãos e punhos, apresentando hiperqueratose e acantose;
- Verruga plantar: distribuídas pelas plantas dos pés, apresentando hiperqueratose e acantose;
- Verruga plana: distribuída pela face e mãos, apresentando hiperqueratose e acantose;
- Epidermodisplasia verrucosa generalizada: com distribuição mais ampla, apresentando hiperqueratose, hipergranulose, acantose moderada e com células hiperplásicas;
- “Condiloma acuminatum”: afetando a mucosa genital e anal e com acentuada acantose;
- “Verruga plana cervical”: afetando a região cervical e apresentando acantose e coilocitose;
- “Condiloma plano”- afetando a região genital e com incidência mais elevada de malignização;
- Papiloma de laringe juvenil e adulto- afetando laringe e traquéia e apresentando acantose e coilocitose;
- “Hiperplasia epitelial focal” afetando a mucosa oral e apresentando acantose.

Dentre as lesões neoplásicas, encontramos os Carcinomas, sejam “carcinoma *in situ*” ou carcinomas invasivos, salientando a importância dos carcinomas cervicais, pela sua morbidade e mortalidade. Dentro dos objetivos deste capítulo, discutiremos alguns aspectos referentes ao câncer do colo uterino.

O câncer do colo uterino é o segundo mais freqüente em mulheres, com maior prevalência nos países em desenvolvimento, salientando a importância de fatores de risco (como tabagismo) e a deficiência de sistemas públicos de saúde para prevenção. O aumento da incidência do câncer cervical tem sido verificado em mulheres jovens, principalmente portadoras de lesões precursoras, embora as lesões pré-neoplásicas possam ser

diagnosticadas por métodos citológicos, colposcópicos e histológicos (Figura 24.1). O papilomavírus humano (HPV) é descrito como de importância fundamental no desenvolvimento da neoplasia cervical, dependendo do tipo viral, carga viral, ciclo de vida intracelular e integração com o genoma da célula hospedeira. A prevenção depende da detecção precoce do vírus e esta tem sido desenvolvida com métodos de biologia molecular.



Figura 24.1: Colpofotografia - Condiloma acuminado - grande direito vulva.

” Métodos de Detecção Viral por Biologia Molecular:

Os principais métodos para detecção viral, utilizados em sistemas diagnósticos são:

- “**Captura híbrida**” que envolve hibridização entre genomas virais e sondas genéricas,- “**Reação em Cadeia pela Ação da Polimerase**”, que envolve amplificação de segmentos específicos de DNA;
- “**Sequenciamento de Ácidos Nucleicos**”, que envolve determinação da sequência de bases do genoma do agente contaminante ou do hospedeiro;
- “**Determinação de Padrões de Digestão por Enzimas de Restrição**” que envolve métodos de verificação da distribuição de sítios de digestão de restrição (ver capítulo 04 - Genética Molecular).

” Co-fatores ambientais possíveis de estar atuando em sinergismo com os vírus do papiloma em processos oncogênicos:

A ação viral tem sido discutida em sinergismo com fatores ambientais como fatores sociodemográficos, reprodutivos e de comportamento sexual, com ênfase ao tabagismo, considerado o principal fator de risco evitável para mortalidade por câncer e uma verdadeira epidemia, principalmente entre jovens. O tabagismo parece ter um efeito carcinogênico direto no colo uterino, com alterações demonstradas no DNA das células epiteliais cervicais, e presença de substâncias consideradas carcinogênicas, como a nicotina e cotinina, no muco cervical de pacientes fumantes. Tais substâncias têm efeitos mutagênicos relacionados com a indução e progressão da lesões neoplásicas. Entre os co-fatores investigados que poderiam influir no processo

carcinogênico incluem-se: múltiplos parceiros sexuais, início precoce de atividade sexual, alta paridade, tabagismo, longo tempo de uso de contraceptivos, deficiências nutricionais (especificamente ácidos fólico e retinóico), doenças sexualmente transmissíveis, como clamídia ou tricomonas. Agentes químicos presentes por exemplo no fumo, podem levar a mutações em oncogenes e em genes supressores de tumor em células infectadas por HPV, levando a célula, tornada displásica pela ação viral, à neoplasia.

Apesar da alta incidência do câncer mamário em todo o mundo, os mecanismos etiológicos ainda não são completamente compreendidos. Recentemente, genes correlacionados foram descritos explicando a alta frequência de recorrência familiar da patologia. A relação com o HPV (especificamente de certos tipos virais) tem sido discutida, juntamente com co-fatores ambientais, como por exemplo tabagismo ou clínicos associados, como hormônios esteróides, descritos como elementos que aumentam a transcrição de proteínas virais.

No aspecto de interações com fatores ambientais, desde os trabalhos pioneiros de Olson e cols.(1959, 1965), os vírus da papilomatose bovina (BPV) têm sido verificados como de importância como modelo experimental para o estudo de sinergismo entre co-fatores e o vírus do papiloma. Neoplasias em sistema vesical urinário e em trato digestivo superior em bovinos estão etiológicamente associadas a agentes químicos oncogênicos, resultando em patologias que causam prejuízo econômico elevado no Brasil e outros países. Alguns co-fatores ambientais já foram identificados, como a samambaia, nativa de pastagens de solos ácidos, **Pteridium aquilinum**, consumida pelos animais em épocas de seca. Curiosamente, esta mesma espécie faz parte da dieta de algumas populações humanas, como prato típico regional e tem sido descrita relacionada à formação de tumores do trato digestivo nos consumidores, independentemente de outros co-fatores ambientais .A relação entre o BPV e a samambaia, enquanto co-fator oncogênico tem sido estudada: o tipo 4 (BPV4) está relacionado à carcinogênese de trato digestivo superior, sendo porém detectado apenas em papilomas, mas não nos tumores, sendo considerado como não necessário para a progressão tumoral.

ASPECTOS CITOGENÉTICOS RELACIONADOS COM O VÍRUS DO PAPILOMA

Alterações citogenéticas em células neoplásicas são extensamente descritas, mas são as alterações primárias aquelas de maior relevância, uma vez que com a progressão do tumor, surge uma instabilidade cromossômica generalizada. A alteração primária está relacionada ao processo de malignização, havendo inúmeros relatos como por exemplo as translocações entre o cromossomo 8 e o 14 no linfoma de Burkitt, entre o cromossomo 9 e 22 nas leucemias mielóides, ou rearranjos do cromossomo 1 em tumores de mama. Em alguns casos, a alteração citogenética pode ser diretamente correlacionada com a patogênese tumoral, como nas leucemias e no linfoma de Burkitt, onde a localização citogenética de oncogenes, alterada pelo rearranjo cromossômico leva a sua ativação. Em

outros casos, por outro lado, não se tem ainda certeza de qual seria o mecanismo inicial, como nos relatos sobre papilomas cutâneos, em que poucas alterações são verificadas e de maneira poli-clonal, como alterações do cromossomo 7. Deleções, duplicações ou translocações podem levar à alteração da regulação gênica, inibindo ou ativando genes relacionados com a malignidade, ou seja os oncogenes e os genes supressores de tumor. Estudos experimentais em que queratinócitos cervicais são infectados por HPV mostraram alterações citogenéticas em vários pares cromossômicos, com descrições mais particulares envolvendo o par 10. Por outro lado, quando o cromossomo 10 normal é transferido para células de linhagens imortalizadas por HPV (16 ou 18) verifica-se uma diminuição da expressão do gene codificante da oncoproteína viral E7. Oncoproteínas de HPV têm sido correlacionadas com clastogenicidade, especificamente aquelas do HPV 16, em diferentes níveis: através do aumento da ploidização ou da frequência de aberrações cromossômicas em linfócitos cultivados provenientes de pacientes com lesões uterinas. Nos relatos referentes à imortalização de queratinócitos por HPV 18, alteração preferencial do cromossomo 3 é descrita, envolvido com rearranjos com outros pares, sendo os rearranjos envolvendo os cromossomos 1 e 3 os mais comuns em lesões cervicais. A origem das alterações cromossômicas referentes à ação das oncoproteínas de HPV pode estar relacionada à ativação de telomerasas celulares quando da integração do genoma viral ao genoma da célula hospedeira, alto nível de associações teloméricas descritas em linhagens estabelecidas de epitélio ovariano, transformadas por oncoproteínas E6 e E7. O aumento das associações teloméricas verificadas em sangue periférico de pacientes afetadas por tumores de mama e de útero é associado com aumento de instabilidade cromossômica já descrito em linfócitos periféricos de pacientes afetadas pelos dois tipos de câncer. A fragilidade cromossômica também tem sido discutida em linfócitos de pacientes com câncer cervical, conjuntamente com alterações de ciclo celular.

A etiologia das aberrações cromossômicas relacionadas ao vírus do papiloma humano (HPV) pode estar relacionada a sua integração ao genoma hospedeiro e tem sido discutida e investigada: o genoma do HPV 16 é descrito como integrado a ponto específico do cromossomo 13, no locus do gene supressor de tumor do retinoblastoma, e esta situação é comparada a outras em que o genoma do mesmo vírus pode ser identificado em forma episomal. Os genomas do HPV16 e do HPV18 já foram relatados como integrados próximos a sítios frágeis. Em nossa pesquisa utilizamos como material biológico os linfócitos de sangue periférico e como técnica de abordagem a verificação do nível de aberrações cromossômicas estruturais. Nossos dados mostraram:

- 1) Níveis significativamente elevados de aberrações cromossômicas estruturais nos linfócitos cultivados de sangue periférico de animais afetados por hematúria enzoótica, expostos à samambaia das pastagens que poderiam indicar efeitos clastogênicos dos princípios ativos da samambaia, como já descrito “in vitro” e “in vivo”;

- 2) Aumento significativo dos níveis de aberrações cromossômicas em linfócitos de sangue periférico de animais que foram inoculados com sangue de animais afetados pela hematúria enzoótica, mantidos em dieta sem samambaia e também em seus descendentes, mostrando portanto, clastogenicidade na ausência do co-fator samambaia;
- 3) Aumento do nível de associações teloméricas em linfócitos periféricos de pacientes afetadas por tumores mamários HPV positivos (Figura 24.2).

Os dados de literatura discutem que em lesões benignas ou pré-neoplásicas o vírus se encontra em estado episomal, enquanto em lesões malignas, o genôma se encontraria integrado. A associação de técnicas de citogenética molecular a técnicas de análise de aberrações cromossômicas virá a esclarecer este aspecto ainda obscuro do ciclo viral (Figura 24.3).

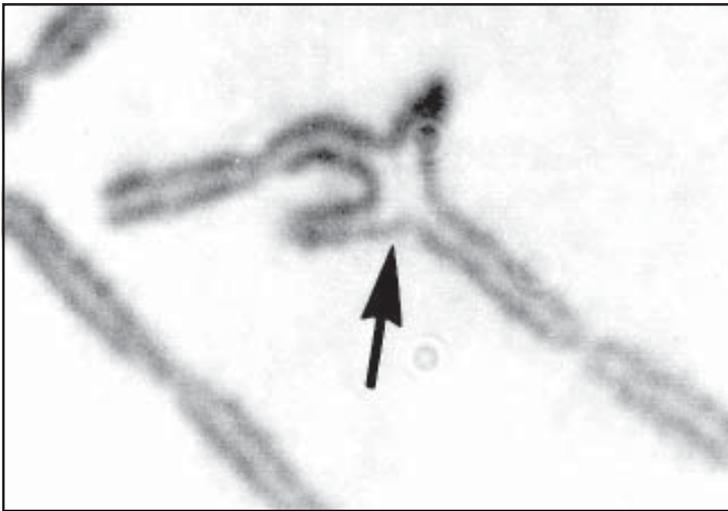


Figura 24.2: A seta indica rearranjo por associação e recombinação da região telomérica em placa metafásica de linfócito, obtida através de cultura temporária de amostra de sangue periférico de paciente afetada por tumor mamário.

BPV COMO MODELO EXPERIMENTAL PARA ESTUDOS DE TRANSMISSÃO

O estudo da ação sinérgica entre o BPV (papiloma vírus bovino) e a samambaia em bovinos constitui um excelente modelo experimental para pesquisa em mecanismos de oncogênese, uma vez que uma das maiores dificuldades nesta área reside na obtenção de sistemas isolados onde os fatores etiológicos podem ser bem caracterizados e avaliados. De fato, verificamos em bovinos, que apresentam tumores de bexiga (hematúria enzoótica) ou tumores do aparelho digestivo (“caraguatá”): uma interação do vírus do papiloma bovino (BPV2 e BPV4) com agentes carcinogênicos e imunossupressores encontrados na samambaia, **Pteridium aquilinum**, presença do vírus BPV2 nas amostras de sangue de animais infectados experimentalmente analisadas, detectada por PCR e com sequenciamento específico, mostrando transmissão horizontal; presença de BPV2 e BPV4 em amostras de leite, colostro e fluidos corporais de animais afetados pela doença, e em animais inoculados com sangue de animais doentes e seus descendentes, evidenciando a transmissão viral vertical, sendo estes os primeiros estudos a demonstrar a transmissão horizontal e vertical desses vírus em mamíferos (Figura 24.3).

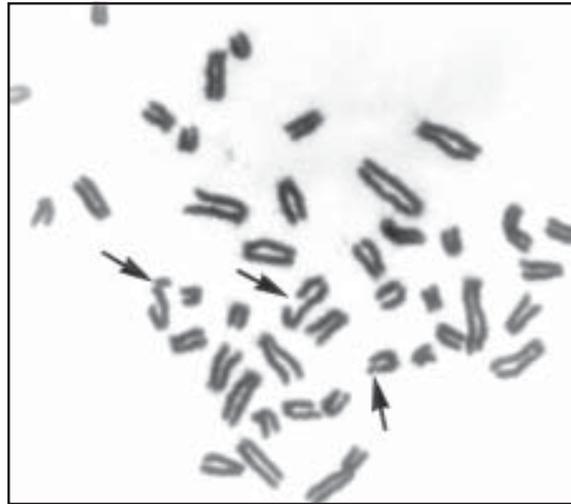


Figura 24.3: Placa metafásica de linfócito de sangue periférico de bovino afetado por hematúria enzoótica onde as setas indicam aberrações cromossômicas estruturais tipo quebras.

ESTRUTURA MOLECULAR DOS VÍRUS DO PAPILOMA

O genoma de diversos vírus do papiloma são descritos como uma molécula de DNA circular de fita dupla, com cerca de 55nm de diâmetro, complexada com histonas e estruturada em nucleossomos, encontrando-se encapsulada em uma estrutura composta por 72 subunidades organizadas em estruturais icosaédricas com peso molecular médio de $5,0 \times 10^3$ KD, correspondendo a aproximadamente 8.000pb, podendo se apresentar com ambas cadeias de DNA ligadas covalentemente, em forma altamente espiralizada (*“supercoiled”*), ou com uma interrupção em uma das cadeias, em configuração mais relaxada em círculo aberto (*“open circle”*). Ao longo do genoma desta classe viral estão distribuídas cerca de dez regiões codificadoras denominadas “ORFs” (*“open reading frames”*) que são classificadas como “Early” (E, transcrição precoce) e “Late” (L, transcrição tardia) e regiões não codificadoras, onde se incluem as longas regiões de controle (LCR). Nas “LCR” está localizada a região de origem de replicação do DNA viral e a região regulatória (URR) (Figura 24.4). Apesar destas regiões serem bastante homogêneas em seus tamanhos, em sua localização genômica e em suas funções, as seqüências nucleotídicas são extremamente particulares para cada tipo viral e apresentam uma característica que é comum a todos os vírus do papiloma: apresentar os genes em uma só fita do DNA viral. As regiões codificadoras são transcritas primeiramente, logo após a infecção celular pelo vírus, que tem localização preferencial no núcleo da célula hospedeira, podendo seu genôma estar integrado ao genôma hospedeiro ou em forma livre ou epissomal. Seus transcritos estão envolvidos na replicação, regulação de transcrição e transformação celular. As regiões codificadoras L (“Late”) que expressam mais tardiamente proteínas constituintes do capsídeo viral estão relacionadas com o processo de infecção celular. A classificação dos tipos virais é feita através da comparação das seqüências específicas de nucleotídeos do genoma viral e, segundo os critérios do Comitê de Nomenclatura do Vírus do papiloma (PNC), esta classificação deve ser realizada por comparação das seqüências das regiões codificadoras E6, E7 ou L1, sendo que os novos tipos virais somente são

reconhecidos quando a comparação das sequências destas regiões apresentam homologia menor que 90%.

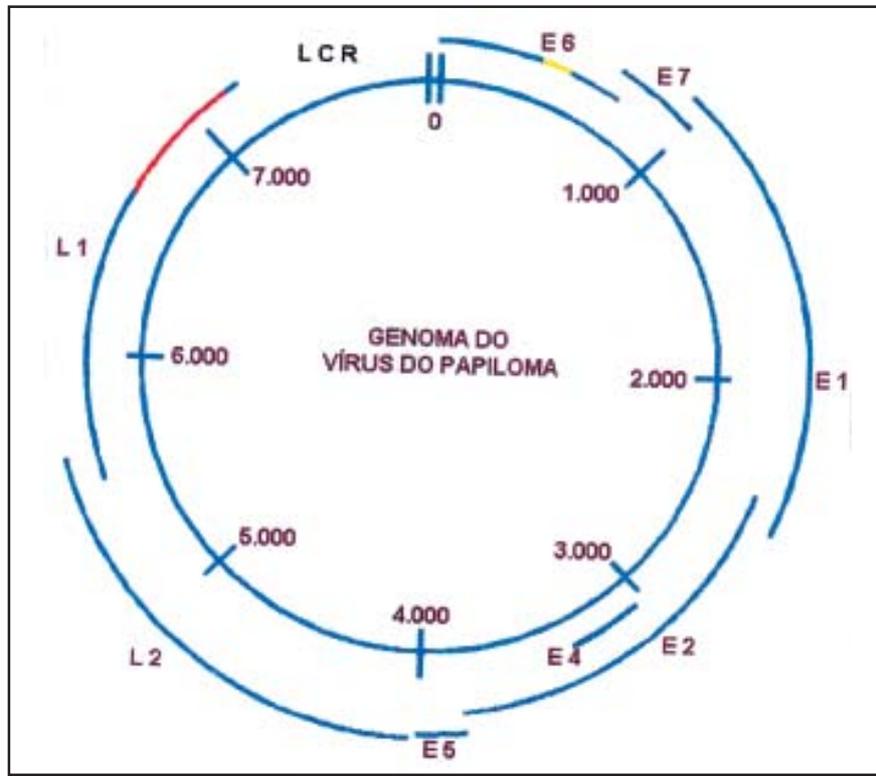


Figura 24.4: Representação de um genoma genérico do vírus do papiloma. A linha contínua representa o DNA viral. A numeração interna se refere ao número das bases. As linhas externas se referem às regiões codificadoras “Early” (E) e “Late” (L).

Região “Early”(E)

E7,E6,E5 - Transformação
E1 - Replicação Epissomal
E2,E4- TransAtivadora/Trans-Repressora

Região “Late”(L)

L1 - Capsídeo maior
L2 - Capsídeo menor
LCR- Região não codificadora

Os produtos de “PCR” são obtidos a partir das regiões L1 e E6 através dos seguintes “primers”:

MY09/MY11-Região L1, nucleotídeo 6580-7050(vermelho)

PR1A/PR1B-RegiãoE6, nucleotídeo 421-541(amarelo)

LOCALIZAÇÃO DO VÍRUS DO PAPILOMA

O epitélio pode não ser o único sítio de localização dos vírus do papiloma, tendo sido encontrado o DNA do vírus do papiloma em linfócitos de bovinos com ou sem lesões de papilomatose, sugerindo que os linfócitos poderiam ser sítio de latência do vírus do papiloma. O DNA do vírus do papiloma humano também já foi detectado em células sanguíneas de mulheres portadoras de infecção urogenital e câncer cervical por HPV, assim como pacientes afetadas por tumores mamários e portadoras de lesões pré-neoplásicas HPV positivas. Recentes investigações referentes aos mecanismos de transmissão vertical e horizontal do vírus do papiloma em bovinos, revelaram a presença do BPV-2 em linfócitos de sangue periférico desses animais ao mesmo tempo que, exames citogenéticos detectaram

aumento do número de aberrações cromossômicas nestas mesmas amostras (Figura 24.3). Estes dados reforçam a hipótese de que os linfócitos atuam realmente como sítio de latência viral, além de sustentarem que o sangue pode se tratar de um importante veículo da transmissão horizontal e vertical do vírus do papiloma bovino (BPV) e talvez humano. Pode-se considerar que outros líquidos corpóreos ricos em linfócitos possam atuar como importantes veículos da transmissão do vírus do papiloma bovino. Outro fator importante é que quando este vírus infecta uma célula, ele permanece na forma episomal, podendo se integrar ao DNA desta célula e iniciar seu ciclo de reprodução o que culminaria no aparecimento de lesões do tecido no qual esta célula se encontra, caso contrário este vírus permanece latente e, se tal fato ocorrer em um tecido que está circulando no organismo hospedeiro esse vírus, mesmo na forma latente poderia ser encontrado em diferentes pontos desse organismo e não especificamente em determinados tecidos lesados. Em estudos por hibridização em “*dot blot*” de 16 amostras controles e 17 amostras de sêmen de parceiros regulares de mulheres comprovadamente infectadas com papilomavírus humano (HPV), objetivando verificar a transmissão do HPV via sêmen, pode-se verificar que todas as mulheres foram HPV DNA positivas, as amostras de sêmen de seus parceiros, da mesma forma que as amostras controles, foram negativas sugerindo que o HPV não é transmitido via sêmen. Em estudos em amostras de material uretral, urina e sêmen de setenta homens, parceiros regulares de mulheres HPV DNA positivas, tanto o PCR quanto o “*dot blot*” de 100% das amostras de sêmen foram eficientes para a detecção do material genético do HPV, o que não foi observado com relação aos “*swabs*” e amostras de urina, sugerindo ser o sêmen o melhor material para análise.

A presença de seqüências de DNA e RNA do vírus do papiloma humano tipos 16 e 18 foi estudada em 24 amostras de plasma seminal e espermatozóides tendo sido encontradas seqüências E6 e E7 do DNA do gene e produtos de transcrição do vírus do papiloma tipo 16 em 2 e 0 amostras de “plasma seminal”, respectivamente e em 6 e 2 amostras de espermatozóides, respectivamente. Para o HPV tipo 18, foram encontradas as seqüências de DNA do gene e produtos de transcrição, respectivamente, em 8 e 2 amostras de líquido seminal e em 11 e 5 amostras de espermatozóides, respectivamente. Os resultados sugerem que, além de infectar células espermáticas humanas, certos genes do HPV são expressos ativamente em células espermáticas infectadas, levando-as a se comportarem como vetores ou transportadores para a transmissão do HPV entre parceiros durante o contato sexual e para os fetos através da fecundação dos óvulos, ou ambos. Apesar da alta incidência de infecção uro-genital, não tem sido demonstrada a presença de vírus em células germinativas e, embora o vírus tenha sido encontrado no sêmen, usualmente eles são encontrados no líquido seminal e não em associação com os espermatozóides, ficando a contaminação intra-útero em dependência da possibilidade do vírus penetrar ou não no ovócito antes ou no momento da fecundação ou, se o embrião jovem possa ser invadido pelo vírus no ambiente uterino. Estudos experimentais em bovinos vieram a demonstrar a transmissão vertical do vírus do papiloma, bovino (especificamente BPV2) através da detecção do vírus em bezerro nascido de fêmea infectada (Figura 24.5). As técnicas

bacteriológicas e virológicas são difíceis de serem trabalhadas para se determinar, com segurança, se o embrião está contaminado ou não. Têm sido usadas algumas técnicas específicas como ultramicroscopia, imunocitoquímica e autoradiografia, que podem ajudar a mostrar tanto o agente patogênico como o antígeno produzido pelo vírus. Métodos clássicos em bacteriologia e virologia como culturas de embriões ou de homogêneos, por exemplo, não são suficientemente sensíveis para identificar, com segurança, viroses intra ou extracelulares (Figura 24.6). O aprimoramento de novas técnicas de amplificação, sequenciamento e hibridização *in situ* tem favorecido a identificação segura de material genético do vírus, como no caso da detecção em modelo bovino citado.

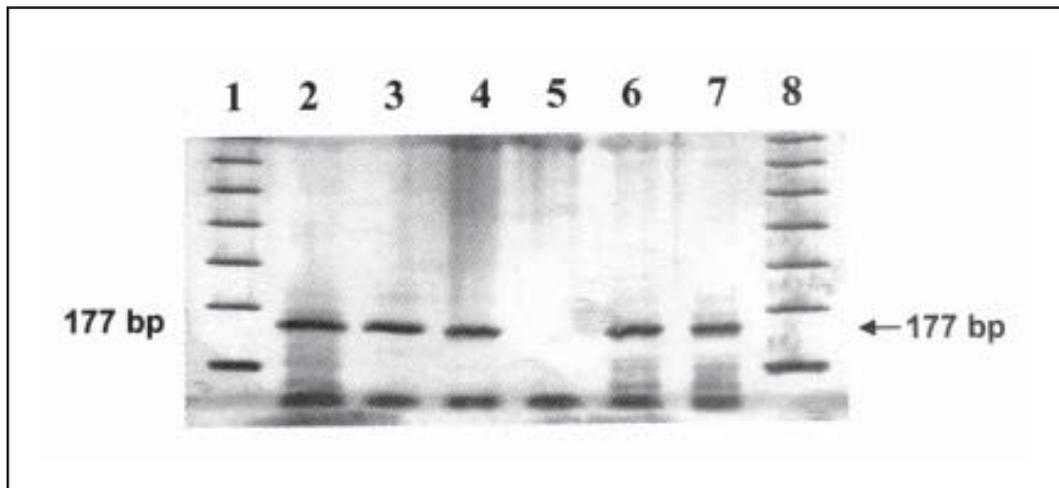


Figura 24.5: Identificação do BPV2 em linfócitos periféricos de bovinos inoculados por sangue de animais afetados por hematúria enzoótica, através de análise por “PCR”: as colunas 1 e 8 são ocupadas por marcadores de Peso Molecular; a coluna 5 é controle negativo e a coluna 7 é controle positivo (DNA do vírus); colunas 2,3,4 e 6 amostras dos animais inoculados.

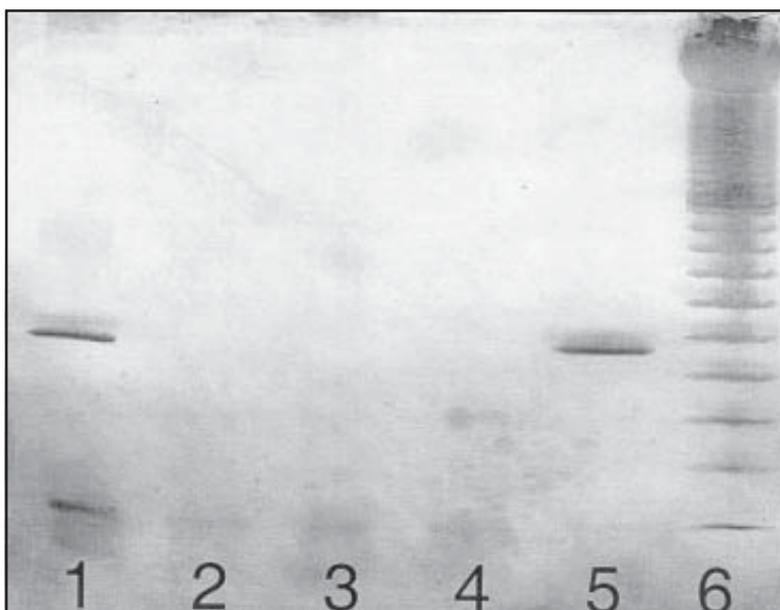


Figura 24.6: Amplificação por “PCR” de DNA de HPV extraído de linfócitos periféricos de paciente afetada por “condiloma acuminado” com “primers” de consensus MY09-My11. **1**-Fração de linfócitos; **2**-Fração de hemáceas; **3**- Fração de hemáceas; **4**-Controle negativo; **5**-Controle positivo; **6**- Marcador de peso molecular (100pb)

CONSIDERAÇÕES FINAIS

As descobertas sobre a estrutura, ciclo de vida e interações com a célula hospedeira descritas para os vírus da papilomatose, HPV ou BPV, vêm demonstrar que sua relação com os processos oncogênicos é muito mais complexa do que supunha. Os conceitos sobre a ação oncogênica viral discutiam a integração do genoma viral no genoma hospedeiro tendo como consequências a ativação de oncogenes celulares e a transformação maligna. As evidências referentes à ação do HPV (ou outros vírus do grupo) têm trazido a visão de que a ação viral é muito mais ampla. Esta ação se inicia no processo infeccioso, onde proteínas celulares, como a integrina, vêm a atuar como “receptores virais”, agindo diretamente na entrada do vírus na célula. Posteriormente, as oncoproteínas virais transcritas, segundo sua sequência programada, “E” ou “L”, têm capacidade de interferir com proteínas envolvidas no controle do ciclo celular, como ciclinas, p53 e RB (proteínas codificadas por genes supressores de tumor), ou p21. Estas interações vão resultar em alterações no controle do ciclo celular, levando a célula a alterar seu destino e muitas vezes à transformação e imortalização. O papel dos fatores ambientais nestes processos torna-se de difícil entendimento devido à possibilidade de múltiplas ações, como por exemplo na diminuição da capacidade imunológica ou gerando mutações em sequências específicas do genoma envolvidas com os sistemas de reparo. Outro aspecto ainda não totalmente esclarecido é a relação entre o estado do vírus no núcleo hospedeiro e a indução de malignização. A relação das oncoproteínas virais com o sistema de regulação da enzima telomerase, alterando a manutenção das regiões teloméricas, leva a importantes questionamentos sobre os fenômenos de fragilidade cromossômica verificados em células infectadas e a relação entre a progressão das lesões cromossômicas e o processo de transformação celular. Sem dúvida, a sua associação com patologias de tão grande relevância em saúde pública e suas características de interação com o genoma hospedeiro tornam o vírus do papiloma de interesse cada vez mais intenso.

A presente discussão traz elementos novos que irão moldar o futuro do nosso conhecimento sobre a biologia dos vírus do papiloma e os mecanismos correlacionados em oncogênese. A detecção do vírus em pacientes com neoplasias e principalmente nas portadoras de lesões pré-neoplásicas trará reflexos a curto prazo para o diagnóstico da infecção viral e na prevenção e aconselhamento em câncer.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1) ALMEIDA.M.E. Detecção e Sequenciamento dos Vírus do Papiloma Bovino Tipos 2 e 4 (BPV2 E BPV4) em líquidos corpóreos de Bovinos. Dissertação de Mestrado- UNIFESP – 1998;
- 2) BRISSON, J.; Morin, C.; Fortier, M.; Roy, M.; Bouchard,C.; Leclerc, J.; Christen, A. Cuimont, C.; Penault, F.; Meisels, A . Risk factor for cervical intraepithelial neoplasia: difference between low and high-grade lesions. *Am J Epidemiol*, v.140, p.700-10, 1994;
- 3) BURGER, M.P.M; Hollena, H; Peters, W.J;. Schröder, F.P.; Quint, W.G.
- 4) Epidemiological evidence of cervical intra-epithelial neoplasia without the presence of human Papillomavirus. *B J Cancerv.* 73, p. 831-6, 1986;
- 5) BURGER, M.P.M.; Hollena, H; Gouw, A.S.H.; Pieters, W.J.L.M.; Quint, W.G.V. Cigarette smoking and human Papillomavirus in patients with reported cervical cytological – Ano?????????????;
- 6) CAMPO, M.S.; Jarret, W.F.H.; O’ Neil, B.W.; Smith, K.T. Association of Bovine papillomavirus type 2 and braken fern with bladder cancer in cattle. *Cancer Res*, v. 52, p. 6898 - 6904, 1992;
- 7) CAPALASH, N.; Sobti, R.C. Spontaneous genomic fragility and cell cycle progression in lymphocytes of patients with cervical carcinoma. *Cancer Genetics & Cytogenetics*, v. 88, p. 30-34, 1996;
- 8) CARVALHO,C. Avaliação da possível presença do vírus do papiloma bovino (BPV) em gametas de bovinos. Monografia- Especialista - Biologia Molecular - UNITAU, 45p.-1999;
- 9) ELUF-NETO, J.; Booth, M.; Muñoz, N.; Bosch, F.X.; Meijer, C.J.L.M.; Walboomers, J.M.M. Human Papillomavirus and invasive cervical cancer. *Br J Cancer*, v.69, p. 114, 1994;
- 10) ERKIZAN, V.; Atabey, N.; Yorukoglu, K.; Sakizli,M.; Kirkali, Z.. Human papillomavirus prevalence in bladder cancer. 16th International Papillomavirus Conference: 489, 1997;
- 11) FRANCO,E.L. Epidemiology of HPV infection and cervical neoplasia : an update. 16th International Papillomavirus Conference: 49, 1997;
- 12) HASHIDA ,T. & Yamamoto, S. Induction of chromosome abnormalities in mouse epidermal keratinocytes by human papillomavirus type 16 E7 oncogene. *Journal of General Virology*, v.72, p.1569-1577, 1991;
- 13) HEIM, S. & Mitelman, F. Cancer cytogenetics Chromosomal and molecular genetic aberrations of tumor cells.2nd edition. John Wiley & Sons, Inc., 1995, 536p;
- 14) KRISTIANSEN, E.; Jenkins, A.; Holm, R. 1994. Coexistence of episomal and integrated HPV16 DNA in squamous cell carcinoma of the cervix. *J. Clin Pathol*, v.47, p. 253-256, 1994;
- 15) LAI,Y.M.; Yang, F.P.; Pao, C.C. Human papilomavirus deoxyribonucleic acid and ribonucleic acid in seminal plasma and sperm cells. *Fert. Steril.*, v.65, p.1026-1030, 1996;
- 16) MARK, H.F.; Santoro, K.; Campbell, W.; Hann, E.; Lathrop, J. Integration of human papillomavirus sequences in cervical tumor cell lines. *Ann. Clin. Lab.*, v. 26, p. 147-153, 1996;

- 17) MONTGOMERY, K.D.; Tedford, K.L.; McDougall, J.K. Genetic instability of chromosome 3 in HPV- immortalized and tumorigenic human keratinocytes. *Genes Chromosomes Cancer*, v.14, p.97-105, 1995;
- 18) MOURA, J.W.; Stocco Santos, R.C.; Dagli, M.L.Z.; D'Angelino, J.L.; Birgel, E.H.; Beçak, W. Chromosome aberrations in cattle raised on bracken fern pasture. *Experientia*, v.44, p.785-788, 1988;
- 19) ODA, D.; Bigler, L.; Mao, E.J.; Disteché, C.M. 1996. Chromosomal abnormalities in HPV -16- immortalized oral epithelial cells. *Carcinogenesis*, v.17, p. 2203-2008, 1996;
- 20) OLSON, C.; Pamukcu, A.M.; Brobst, D.F.; Kowalczyk, T.; Satter, E.J.; Price, J.M.. A urinary bladder tumor induced by a bovine cutaneous papilloma agent. *Cancer Research*, v.19, p. 779-782, 1959;
- 21) OLSON, C.; Pamucku, A.M.; Brobst, D.F. Papilloma-like virus from bovine urinary bladder tumors. *Cancer Research*, v. 25, p.840-849, 1965;
- 22) PARK, T.W.; Fujiwara, H.; Wright, T.C.. Molecular biology of cervical cancer and its precursors. *Cancer*, v.76, p. 1902-1903, 1995;
- 23) PEREIRA, S.R.M.; Lindsey, P.C.; Souza, I.E.; Lopes, F.; Lindsey, C.J.; Pignatari, A.C. HPV diagnosis by clinical examination, cytology, colposcopy and histopathology compared with molecular analysis by PCR and hybridization assay. 16th International Papillomavirus Conference, p. 274., 1997;
- 24) PEREIRA, S.R.M.; Person, O.C.; Buratinni, M.; Cunha, D.C.; Pignatari, A.C.; Lindsey, P.C. Epidemiological factors and diagnosis of HPV infection in women submitted to biopsies of the genital tract. 16th International Papillomavirus Conference, p.442, 1997;
- 25) PIZA, A.M.; Almeida, M.E.; Lindsey, C.J.; Stocco Santos, R.C.; Beçak, W. Bovine Papillomavirus BPV2 e BPV4 in milk and urine of infected cows. 16th International Papillomavirus Conference, p.285, 1997;
- 26) POPESCU, N.C.; DiPaolo, J.A. Preferential sites for viral integration on mammalian genome. *Cancer Genet Cytogenet* v.42, p.:157-171, 1989;
- 27) SANTOS, R.C.; Brasileiro-Filho, G. & Silva, M.E. Tumorigenicity of boiling water extract of bracken fern (*Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn). *Ciência e Tecnologia de Alimentos* v. 12, p. 72-76, 1992;
- 28) STOCCO DOS SANTOS, R.C.; Ferraz, O.; Castro, N.; Pinto, J.; Santelli, G.; Beçak, W. Chromosome aberrations in cattle inoculated with blood of hematuric bovines. Seventeenth International Congress of Genetics, p.213, 1993;
- 29) STOCCO DOS SANTOS, R.C.; Ferraz, O.P.; Castro, N.H.C.; Vianna, E.K.G.; Pinto, J.R.; Romano, M.A.; Santelli, G.M.M.; Beçak, W. Chromosome aberrations related to bovine papillomavirus transmission. II^o Congresso Latinoamericano y 3^o de mutagenesis, carcinogenesis y teratogenesis ambiental, 1994;
- 30) STOCCO DOS SANTOS, R.C.; Ferraz, O.P.; Santos, R.C.; Marliere, C.A.; Galvão M.A.M.; Beçak, W. Oncogenesis induced by viral transmission through inoculated blood: an experimental model. *Bras .J. Genetics* v. 19, p.: 255, 1996;
- 31) STOCCO SANTOS, R.C.; Lindsey, C.J.; Ferraz, O.P.; Pinto, J.R.; Mirandola, R.S.; Benesi, F.J.; Birgel, E.H.; Pereira, C.A.B.; Beçak, W. Bovine Papillomavirus transmission and chromosomal aberrations and

- experimental model. 16th International Papillomavirus Conference, p. 314, 1997;
- 32) STOCCO DOS SANTOS, R. C.; Lindsey, C.J.; Ferraz, O. P.; Pinto, J.R.; Mirandola, R.S.M.; Benesi, F.J.; Birgel, E.H.; Pereira, C.A.B. Bovine papillomavirus transmission and chromosomal aberrations: an experimental model. *J. Genetics Virology* v.79, p.2127-2135, 1998;
 - 33) VILLA, L.L.; Rahal, P.; Caballero, O.; Termini, J.; Sobrinho, S.; Ferreira, M.L.B.; Pinto, L.; Galan, M.; Santos, M.; Leme, M.S.; Franco, E.L.; Rohan, T.E.; Ferenczy, A. Epidemiology of persistent Human Papillomavirus (HPV) and risk of Cervical intraepithelial neoplasia. Ludwig Institute for Cancer Research Scientific Report p.:258-259, 1997;
 - 34) VILLA, L.L. Human papillomaviruses and cervical cancer. *Adv. Cancer Res* v. 71, p.: 321-341, 1997;
 - 35) WAN, T.S.; Chan, L.C.; Ngan, H.Y.; Tsao, S.W. 1997. High frequency of telomeric associations in human ovarian surface epithelial cells transformed by human papilloma viral oncogenes. *Cancer Genet Cytogenet* v.95, p. 166-172, 1997.