

HPV de Alto e Baixo Risco para Câncer: Toda Regra Tem sua Exceção

RESUMO

Os papilomavírus são agentes causadores de hiperproliferações epiteliais, conhecidas como verrugas, em uma grande gama de vertebrados. Na espécie humana, alguns tipos de HPV são etiológicamente relacionados ao câncer cervical em mulheres, câncer de pênis em homens, e carcinomas anais e de orofaringe em ambos os sexos. O uso de métodos moleculares levou à descrição de cerca de 150 tipos de HPV em nossa espécie, e estudos epidemiológicos de larga escala permitiram determinar o risco oncogênico da maioria destes HPV. Na prática clínica, os HPV são hoje divididos em alto e baixo risco oncogênico. Os de baixo risco são causadores de verrugas genitais (condilomas) e displasias de baixo grau, enquanto os de alto risco causam as lesões precursoras (neoplasia intraepitelial cervical) que culminam no câncer de colo de útero. É importante ressaltar que tanto os tipos de baixo quanto os de alto risco estão presentes de forma totalmente assintomática com frequência. Existem descrições raras de HPV de alto risco oncogênico causando lesões benignas, assim como o oposto, ou seja, HPV de baixo risco oncogênico causando lesões malignas. Não está claro o papel do hospedeiro e da variabilidade intratípica viral no desenvolvimento destas lesões atípicas no aspecto virológico. A análise molecular dos HPV isolados destas lesões poderá elucidar mecanismos bioquímicos e celulares responsáveis pela proliferação descontrolada de queratinócitos nas displasias e neoplasias genitais.

Palavras-chave: papilomavírus humano, HPV, verrugas genitais, carcinomas, displasias, DST

A infecção por HPV (papilomavírus humano) pode ser totalmente assintomática, ou ainda, causar distúrbios proliferativos benignos, como verrugas cutâneas, papilomas laríngeos e condilomas, mas também neoplasias malignas. Evidências moleculares sugerem que o HPV está implicado etiológicamente em uma parcela dos casos de câncer afetando vagina, vulva, ânus, pênis, além de carcinomas de mucosa oral, orofaríngea e laríngea^(1,2), e virtualmente é necessário para a ocorrência de 100% dos casos de câncer cervical^(3,4). Cerca de 40 tipos de HPV infectam a região anogenital e podem ser classificados em HPV de baixo risco oncogênico (HPV 6, 11, 40, 42, 43, 44, 55) e de alto risco oncogênico (HPV 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58 e 59). Os tipos de HPV 26, 53, 66, 67, 68, 70, 73 e 82 são classificados como genótipos de provável alto risco⁽⁵⁾. Esta divisão está baseada em grandes estudos epidemiológicos tipo caso-controle⁽⁶⁾. A classificação taxonômica, baseada em dados parciais de sequências da região L1 dos papilomavírus, também reflete esta divisão, embora haja divergências entre a filogenia estabelecida por sequenciamento e aquela estabelecida por similaridade fenotípica/clínica⁽⁷⁾. Os HPV de baixo risco oncogênico estão agrupados nas espécies $\alpha 1$, $\alpha 8$ e $\alpha 10$, enquanto os de alto risco se concentram nas espécies $\alpha 5$, $\alpha 6$, $\alpha 7$ e $\alpha 9$ ⁽⁸⁾.

Os HPV 16 e 18 juntos são responsáveis por 70% dos casos de câncer cervical e são os dois tipos de HPV mais frequentes em todas as regiões geográficas, tanto nas infecções assintomáticas^(9,10) quanto nos casos de câncer cervical^(11,12). Em contrapartida, os tipos de HPV de baixo risco oncogênico, isolados em mais de 90% dos condilomas, são os HPV 6 e 11^(13,14). No entanto, alguns grupos de pesquisa observaram a presença de tipos de HPV de baixo risco oncogênico em lesões de alto grau^(11,15-17), assim como a presença de HPV de alto risco oncogênico em lesões benignas já foi descrita^(13,14). Brown *et al.* observaram HPV de alto risco oncogênico em amostras de *condylomata acuminata* provenientes tanto de pacientes HIV-positivo como HIV-negativo, mas sempre em associação a HPV de baixo risco oncogênico⁽¹⁸⁾. O estudo multinacional HIM (*HPV in Men*) observou seis casos em que só foi possível isolar HPV de alto risco oncogênico das lesões verrucosas, sendo, entre estes, o HPV-16 o mais frequente⁽¹⁴⁾. Resultados similares foram encontrados por Chan *et al.*⁽¹³⁾, que estudaram condilomas

em homens e identificaram cinco casos em que somente o HPV de alto risco oncogênico foi detectado, sendo o HPV-16 novamente o mais frequente.

Reciprocamente, HPV de baixo risco oncogênico foram encontrados em lesões de alto grau⁽¹⁹⁾, mas sempre em concomitância a HPV de alto risco oncogênico. Nestes casos, é extremamente difícil atribuir causalidade a um determinado genótipo de HPV porque os métodos moleculares utilizados para genotipagem de HPV em geral não preservam a arquitetura tecidual, impedindo-se de determinar quais tipos de HPV encontrados na lesão estão de fato envolvidos no processo de carcinogênese, ou se apenas um determinado genótipo está envolvido no câncer e o(s) outro(s) tipo(s) de HPV está(ão) causando apenas uma infecção genital assintomática. Raríssimos casos de câncer cervical em que o único tipo de HPV isolado era o de baixo risco oncogênico, como os HPV 6 e 11, já foram descritos^(11,15-17). Um estudo realizado com pacientes com câncer cervical, no Quênia⁽¹⁵⁾, identificou dois casos, em mulheres não infectadas pelo HIV, nos quais só foi possível isolar HPV 11 e 40. O estudo retrospectivo, realizado por De Sanjosé *et al.*⁽¹¹⁾, analisou 10.575 amostras de câncer cervical, no período de 1949 a 2009, provenientes dos cinco continentes, e observou a ocorrência de 16 casos positivos somente para HPV de baixo risco oncogênico. Recentemente, nosso grupo descreveu⁽¹⁷⁾, em uma paciente infectada pelo HIV, um caso de câncer cervical metastático associado ao HPV-11, sendo este tipo de HPV identificado tanto na amostra proveniente do tumor primário no colo do útero quanto na amostra proveniente da metástase em linfonodo cervical.

No processo de carcinogênese mediado pelo HPV, as proteínas virais E6 e E7 desempenham papel central. Observações iniciais mostraram que a proteína E7 é capaz de ligar-se à forma subfosforilada da proteína supressora de tumor pRb, inativando-a, enquanto a E6 liga-se à p53, acelerando sua degradação proteolítica. No entanto, a afinidade dessas proteínas virais pelos produtos dos genes supressores de tumor varia de acordo com o potencial oncogênico do HPV^(20,21). A capacidade de degradação da p53 pela proteína E6 parece estar presente somente nos HPV pertencentes às espécies 5, 6, 7, 9 e 11 do gênero *Alpha-papillomavirus* e pode estar associada à ausência de aminoácido básico na posição 31 de E6. HPV que

não degradam a p53, como por exemplo, HPV 6 e 11, possuem lisina ou arginina nessa posição⁽²²⁾. No caso reportado recentemente por nosso grupo⁽¹⁷⁾, a transformação maligna associada ao HPV-11 levou-nos a sequenciar o gene E6 do isolado, pois acreditávamos que mutações nesse gene poderiam ter levado a um ganho de função semelhante ao dos HPV de alto risco oncogênico. No entanto, o sequenciamento do gene E6 do isolado mostrou alta similaridade com sequências de referência de HPV-11, e nenhuma mutação que pudesse ser associada a este ganho de função foi encontrada.

Além da diferença na capacidade de inativação dos produtos dos genes supressores de tumores, a persistência e a tendência a progressão das lesões também podem diferir de acordo com a variante do vírus, mesmo para os mesmos tipos HPV de alto risco oncogênico. As variantes de HPV-16 asiática-americana (AA) e africana (Af) apresentam risco de desenvolver câncer cervical três vezes maior do que o apresentado pela variante europeia (E). As variantes não europeias do HPV-18 são identificadas com maior frequência nos tecidos de câncer e lesão de alto grau⁽²³⁻²⁵⁾. Variantes do HPV-33 (C7732G) e do HPV-58 (C632T e G760A) foram associadas a um risco aumentado para desenvolvimento de câncer cervical^(26,27) em comparação aos “protótipos” dos mesmos HPV 33 e 58.

Pesquisadores que analisaram a região regulatória (URR) dos PV, que contém os sítios de ligação dos fatores de transcrição (TFBS), ou seja, os elementos responsáveis pelo controle da expressão das proteínas precoces, observaram que parte dos TFBS é comum a todos os PV, e parte é tipo-específica^(28,29). Esses estudos levaram à conclusão de que alterações no comportamento replicativo e na capacidade oncogênica de diferentes variantes que pertencem a um mesmo tipo de PV podem ser atribuídas a mutações pontuais na URR^(30,31). Na região codificante, a análise de sequências genéticas da ORF5 de HPV mucosotrópicos permitiu a separação destes em quatro famílias filogeneticamente distintas, obedecendo à correlação da capacidade de gerar desordens proliferativas benignas e malignas⁽³²⁾.

Em conclusão, os dados anteriormente citados indicam que variantes de HPV verificadas em diferentes regiões genômicas (aqui mencionamos URR, E5 e E6) apresentam distintas capacidades transformantes. Sabe-se que a manifestação clínica de uma doença infecciosa é o resultado do binômio agente-hospedeiro, e certamente as manifestações atípicas aqui abordadas podem resultar não apenas de isolados do HPV com atividade biológica anômala, mas também de características do hospedeiro, dentre estas a mais óbvia é o estado imunológico, pois estas manifestações atípicas são de fato mais frequentes em pacientes imunossuprimidos. É possível que a conexão entre imunodeficiência e comportamento das lesões induzidas por HPV se dê através de mecanismos de regulação intra e intercelular da atividade dos oncogenes virais. A deficiência em tipos celulares como os macrófagos e outras células apresentadoras de antígeno na mucosa infectada, e a baixa produção de citocinas antiproliferação, como TNF- α e TGF- β , poderia permitir a transformação celular por oncoproteínas virais de fraca atividade transformante, como E6 e E7, dos HPV 6 e 11⁽³³⁾.

No entanto, mesmo nestes pacientes, os HPV de alto risco oncogênico são os que estão comumente associados às lesões de alto grau, e não há qualquer explicação convincente do porquê um HPV de alto risco levaria à formação de lesões hiperproliferativas verrucosas (condilomas) em imunossuprimidos. O sequenciamento do genoma completo dos HPV envolvidos em séries de casos atípi-

cos (HPV de baixo risco em lesão de alto grau e vice-versa), bem caracterizados, e a comparação com os mesmos tipos isolados de lesões “convencionais” poderão ajudar a responder esta intrigante questão.

Conflito de interesses

Não há conflito de interesses a declarar.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. World Health Organization/International Agency for Research on Cancer. Human Papillomaviruses. 2007;90.
2. D'Souza G, Kreimer AR, Viscidi R, Pawlita M, Fakhry C, Kach WM et al. Case-Control Study of Human Papillomavirus and Oropharyngeal Cancer. *N Engl J Med*. 2007;356(19):1944-56.
3. Franco EL, Rohan TE, Villa LL. Epidemiologic evidence and Human Papillomavirus infection as a necessary cause of cervical cancer. *JNCI*. 1999;91(6):506-11.
4. Walboomers JMM, Jacobs MV, Manos MM, Bosch FX, Kummer JA, Shah KV et al. Human Papillomavirus is a necessary cause of invasive cervical cancer worldwide. *J Pathol*. 1999;189(1):12-9.
5. Bouvard V, Baan R, Straif K et al. A review of human carcinogens-part B: biological agents. *Lancet Oncol*. 2009;10:321-2.
6. Muñoz N, Bosch FX, De Sanjosé S, Herrero R, Castellsagué X, Shah KV et al. Epidemiologic Classification of Human Papillomavirus types associated with cervical cancer. *N Engl J Med*. 2003;348(6):518-27.
7. Bravo IG, De Sanjosé S, Gottschling M. The clinical importance of understanding the evolution of papillomaviruses. *Trends in Microbiology*. 2010;18(10):432-8.
8. De Villiers EM, Fauquet C, Broker TR, Bernard HU, Hausen H. Classification of papillomaviruses. *Virology*. 2004;324(1):17-27.
9. Bruni L, Diaz M, Castellsagué X, Ferrer E, Bosch FX, De Sanjosé S. Cervical human papillomavirus prevalence in 5 continents: meta-analysis of 1 million women with normal cytological findings. *J Infect Dis*. 2010;202(12):1789-99.
10. DeSanjosé S, Diaz M, Castellsagué X, Clifford G, Bruni L, Muñoz N et al. Worldwide prevalence and genotype distribution of cervical human papillomavirus DNA in women with normal cytology: a meta-analysis. *Lancet Infect Dis*. 2007;7(7):453-9.
11. De Sanjosé S, Quint WG, Alemany L, Geraets DT, Klaustermeier JE, Lloveras B et al. Human papillomavirus genotype attribution in invasive cervical cancer: a retrospective cross-sectional worldwide study. *Lancet Oncol*. 2010;11(11):1048-56.
12. Li N, Franceschi S, Howell-Jones R, Snijders PJF, Clifford GM. Human Papillomavirus type distribution in 30,848 invasive cervical cancers worldwide: variation by geographical region, histological type and year of publication. *Int J Cancer*. 2011;128:927-35.
13. Chan PK, Luck AC, Luk TN, Lee KF, Cheung JL, Ho KM et al. Distribution of human papillomavirus types in anogenital warts of men. *J Clin Virol*. 2009;44(2):111-4.
14. Anic GM, Lee J-H, Stockwell H, Rollison DE, Wu Y, Papenfuss MR et al. Incidence and Human Papillomavirus (HPV) type distribution of genital warts in a multinational cohort of men: the HPV in men study. *J Infect Dis*. 2011;204:1886-92.
15. De Vuyst H, Gichangi P, Estambale B, Njuguna E, Franceschi S, Temmerman M. Human papillomavirus types in women with invasive cervical carcinoma by HIV status in Kenya. *Int J Cancer*. 2008;122(1):244-246.
16. Clifford GM, Howell-Jones R, Franceschi S. Judging the carcinogenicity of human papillomavirus types by single/multiple infection ratio in cervical cancer. *Int J Cancer*. 2011;129(7):1792-4.
17. Oliveira CM, Aguiar LS, Genta MLN, Alves VAF, Levi JE. HPV-11 associated metastatic cervical cancer. *Gynecologic Oncology Reports*. 2012;2:18-19.
18. Brown DR, Schrieder JM, Bryan JT, Stoler MH, Fife KH. Detection of multiple human papillomavirus types in Condylomata acuminata lesions

- from otherwise healthy and immunosuppressed patents. *J Clin Microbiol.* 1999;37(10):3316-22.
19. Clifford GM, Gonçalves MA, Franceschi S. HPV and HIV Study Group. Human papillomavirus types among women infected with HIV: a meta-analysis. *AIDS.* 2006; 20(18):2337-2344.
 20. zur Hausen H. Papillomavirus and cancer: from basic studies to clinical application. *Nature Reviews.* 2002;2(5):342-50.
 21. Ghittoni R, Accardi R, Hasan U, Gheit T, Sylla B, Tommasino M. The biological properties of E6 and E7 oncoproteins from human papillomaviruses. *Virus Genes.* 2010;40(1):1-13.
 22. Fu L, Van Doorslaer K, Chen Z, Ristriani T, Masson M, Travé G et al. Degradation of p53 of Human Alpha papillomavirus E6 proteins shows a stronger correlation with phylogeny than oncogenicity. *PLoS One.* 2010;5(9):e12816. doi:10.1371/journal.pone.0012816.
 23. Hildesheim A, Schiffman M, Bromley C, Wacholder S, Herrero R, Rodriguez A et al. Human papillomavirus type 16 variants and risk of cervical cancer. *J Natl Cancer Inst.* 2001;93(4):315-318.
 24. Xi LF, Kiviat NB, Hildesheim A, Galloway DA, Wheeler CM, Ho J et al.. Human papillomavirus type 16 and 18 variants: race-related distribution and persistence. *J Natl Cancer Inst.* 2006;98(15):1045-1052.
 25. Sichero L, Ferreira S, Trottier H, Duarte-Franco E, Ferenczy A, Franco EL et al.. High grade cervical lesions are caused preferentially by non-European variants of HPV 16 and 18. *Int J Cancer.* 2007;120(8):1763-8.
 26. Chan PK, Lam CW, Cheung TH, Li WW, Lo KW, Chan MY et al. Association of human papillomavirus type 58 variant with the risk of cervical cancer. *J Natl Cancer Inst.* 2002;94(16):1249-53.
 27. Khouadri S, Villa LL, Gagnon S, Koushik A, Richardson H, Ferreira S et al. Human papillomavirus type 33 polymorphisms and high-grade squamous intraepithelial lesions of the uterine cervix. *J Infect Dis.* 2006;194(7):886-894.
 28. Villa L, Schlegel R. Differences in transformation activity between HPV-18 and HPV-16 map to the viral LCR-E6-E7 region. *Virology.* 1991;181(1):374-7.
 29. García-Vallvé S, Iglesias-Rozas JR, Alonso A, Bravo IG. Different papillomaviruses have different repertoires of transcription factor binding sites: convergence and divergence in upstream regulatory region. *BMC Evolutionary Biology.* 2006;6:20.
 30. Rose B, Steger G, Dong X, Thompson C, Cossart Y, Tattersall M et al. Point mutations in SP1 motifs in the upstream regulatory region of human papillomavirus type 18 isolates from cervical cancers increase promoter activity. *J Gen Virol.* 1998;79:1659-63.
 31. Hubert WG. Variant upstream regulatory region sequences differentially regulate human papillomavirus type 16 DNA replication throughout the viral life cycle. *J Virol.* 2005;79(10):5914-5922.
 32. Bravo IG, Alonso A. Mucosal Human Papillomaviruses Encode Four Different E5 Proteins Whose Chemistry and Phylogeny Correlate with Malignant or Benign Growth. *J Virol.* 2004;78(24):13613-26.
 33. zur Hausen H. Papillomaviruses causing cancer: evasion from host-cell control in early events in carcinogenesis. *JNCI.* 2000;92:690-8.

CRISTINA M OLIVEIRA¹ & JOSÉ EDUARDO LEVI²

¹ Doutora em Moléstias Infecciosas, Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo. Laboratório de Virologia do Instituto de Medicina Tropical da Universidade de São Paulo.

² Doutor em Microbiologia, Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo. Laboratório de Virologia do Instituto de Medicina Tropical da Universidade de São Paulo.

Endereço para correspondência:

JOSÉ EDUARDO LEVI

Laboratório de Virologia, LIM 52

Instituto de Medicina Tropical da Universidade de São Paulo

Rua Dr. Enéas de Carvalho Aguiar 470, 2º andar

São Paulo, SP – CEP: 05403-000

Tel.: (11) 3061-8666 Fax: (11) 3061-8680

E-mail: dudilevi@usp.br

Recebido em: 09.02.2012

Aprovado em: 15.02.2012