

Papilomavírus humano e carcinogênese: uma abordagem molecular da oncogênese viral

Human papillomavirus and carcinogenesis: a molecular approach to viral oncogenesis

Carlos Alberto de Carvalho Fraga¹
Marcos Vinícius Macedo de Oliveira²
Amanda Cardoso de Oliveira Silveira³
Ludmilla Regina de Souza⁴
Agostinho Gonçalves Viana⁵
Alfredo Maurício Batista De-Paula⁶
André Luiz Sena Guimarães⁷

Resumo: A infecção pelo Papilomavirus Humano - HPV, do inglês “Human Papillomavirus” inicia-se quando as partículas virais penetram no núcleo das células epiteliais da camada basal de epitélios de revestimento, cujos queratinócitos em diferenciação replicam e transcrevem apenas genes precoces. O aumento da replicação, da transcrição e formação do capsídeo viral ocorrem apenas em células localizadas nas camadas mais superficiais do epitélio. Quando as oncoproteínas E6 e E7 do HPV de alto risco são co-expressadas, há um efeito adicional nas anormalidades centrossômicas e divisões celulares, com participando do processo de inativação de genes supressores de tumor. Entretanto, somente as oncoproteínas E6 e E7 não são suficientes para promoverem a transformação maligna de células humanas. Embora a relação entre Carcinoma de Células Escamosas Bucal (CCEB) e o HPV, ainda não seja bem definida, evidências recentes indicam o HPV na participação da etiologia desta lesão.

Palavras-chaves: HPV. Ciclo celular. Carcinogênese. Carcinoma de células escamosas.

Abstract: Human Papillomavirus (HPV) infection begins when viral particles penetrate in the nucleus of the basal layer epithelial cells of epithelial lining, where differentiating keratinocytes replicate and transcript only early genes. The increase of viral capsid replication, transcription and formation just happens in cells which are located in the most superficial layers of the epithelium. The expression of E6 and E7 proteins of high-risk HPV has additional effect in the centrosomics abnormalities and cell division, thus participating in the inactivation process of the suppressor tumour genes. However, only E6 and E7 oncoproteins are not enough to promote the malign transformation of human cells. Although the relationship between Oral Squamous Cell Carcinoma (OSCC) and HPV is not well defined, some evidences indicate the HPV presence in the ethiology of this disorder in addition to other known risk factors.

Key words: HPV. Cell cycle. Carcinogenesis. Squamous cell carcinoma.

-
- 1 Doutorando. Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde - Unimontes.
 - 2 Doutorando. Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde - Unimontes.
 - 3 Mestre. Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde - Fiocruz.
 - 4 Doutoranda. Programa de Pós-Graduação em Biologia Molecular - UnB
 - 5 Mestre. Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde - Unimontes.
 - 6 Doutor. Programa de Pós-Graduação em Patologia - UFMG.
 - 7 Doutor. Programa de Pós-Graduação em Farmacologia Bioquímica e Molecular - UFMG

FRAGA, C. A. C.; OLIVEIRA, M. V. M.; SILVEIRA, A. C. O. S.; SOUZA, L. R. S.; VIANA, A. G.; DE-PAULA, A. M. B.; GUIMARÃES, A. L. S.

INTRODUÇÃO

A proposta desse trabalho foi realizar uma revisão de literatura, discutindo os mecanismos pelos quais este grupo de vírus atua no processo da gênese de neoplasias malignas, abordando as principais interações entre as proteínas virais com moléculas relacionadas ao ciclo celular.

Analisando-se as taxas de mortalidade das macrorregiões do Brasil, o câncer, em geral, é encontrado em diferentes situações, incluído entre as primeiras causas de morte, ao lado das doenças do aparelho circulatório, causas externas, doenças do aparelho respiratório, afecções do período perinatal e doenças infecciosas e parasitárias. O Carcinoma de Células Escamosas (CCE) é a neoplasia maligna mais comum na cavidade bucal, representando, aproximadamente, 90% dos tumores malignos da boca.

O Carcinoma de Células Escamosas de Boca (CCEB) é considerado agressivo por estar associado a uma acentuada morbidade e alta taxa de mortalidade, com uma sobrevida menor que 50% em longo prazo. Isto pode ser explicado pelo fato do CCEB ser um processo amplo, que ocorre em toda a cavidade bucal, levando a ineficiência quando se emprega uma modalidade de tratamento restrito à lesão (DE PAULA et al., 2009).

Embora o papel do fumo na etiologia do CCEB esteja bem estabelecido na literatura, este não é o único fator etiológico desta doença. Recentemente, tem se destacado o possível papel dos vírus da família Papillomaviridae, principalmente o subtipo 16, e o CCEB. Evidências sugerem que a infecção por certos tipos de HPV pode levar a alteração na função e expressão da proteína P16. Além do mais, o HPV 16 está relacionado com a hipermetilação do gene P16.

Os Papilomavírus humano - HPV, do inglês "Human Papillomavirus" são vírus de DNA que infectam os queratinócitos de epitélio de revestimento ou de mucosa de revestimento, podendo induzir distúrbios do crescimento e/ou da diferenciação celular, tais como, hiperplasia ou neoplasias benignas e malignas (CHANG et al., 1991; DE VILLIERS,

1989; SCULLY et al., 1988). As oncoproteínas E6 e E7 do HPV de alto risco podem inativar produtos dos genes envolvidos na repressão do crescimento e divisão celular. Esses vírus têm um importante papel na gênese de neoplasias malignas (MUNGER et al., 2002), como o Carcinoma de Células Escamosas de Colo de Útero (CCECU) (PETE et al., 2002). Recentemente, têm sido observadas associações do HPV de alto risco com o CCE em outros sítios, como por exemplo, o Carcinoma de Células Escamosas de Orofaringe (CCEO) (D'SOUZA et al., 2007). De forma geral, nos CCE que acometem a região de cabeça e pescoço, o DNA viral é encontrado em cerca de 35% dos casos, sendo que destes, 40% apresentaram infecção pelo HPV-16 (MCKAIG et al., 1998).

REVISÃO DE LITERATURA

O HPV é um pequeno vírus de DNA não-envelopado, com "vírion" de, aproximadamente, 55 nm de diâmetro. Apresenta DNA circular de fita dupla, com cerca de 8000 pares de bases (pb) e 10 Open Reading Frames (ORFs), exibindo tropismo por células epiteliais (MUNGER et al., 2002). O Comitê Internacional de Taxonomia de Vírus considera HPV uma família taxonômica distinta, Papillomaviridae (DE VILLIERS et al., 2004).

O genoma do HPV pode ser dividido em três regiões principais: região longa de controle (LCR), região precoce (E) e região tardia (L), sendo as duas últimas regiões separadas por um local de poliadenilação. A LCR é um segmento de, aproximadamente, 850 pb, correspondente à 10% do genoma, não apresenta função codificante e contém a origem de replicação (ORI), bem como os locais obrigatórios da transcrição (BERNARD, 2002). A região precoce corresponde a mais de 50% do genoma, onde se localizam seis ORFs responsáveis pela codificação das proteínas (E1, E2, E4, E5, E6 e E7) envolvidas na regulação da replicação e do ciclo de vida viral (DANOS et al., 1982). A região tardia corresponde a uma região codificante que traduz as proteínas individuais e as proteínas estruturais (L1 e L2) do capsídeo viral (DUENSING et al., 2004).

O HPV tem a particularidade de se manter na forma de plasmídeos e se associar a histonas celulares, conduzindo a estruturas mini-cromossomos quando o genoma se encontra no núcleo da célula hospedeira (TUREK et al., 1996). Os vírus classificados como de baixo risco de transformação maligna não possuem a capacidade de integrarem seu material genético ao da célula hospedeira e, portanto, não imortalizam queratinócitos humanos. Quanto aos de alto risco, esses são capazes de se integrarem ao genoma e imortalizam queratinócitos (SUMMERSGILL et al., 2000; ZUR HAUSEN, 1996).

Cerca de 200 subtipos de HPV já foram identificados, sendo considerados de alto risco o HPV 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 58, 59, 68, 73, e 82, e, os de baixo risco, o HPV 6, 11, 40, 42, 43, 44, 54, 61, 70, 72, 81, CP6108 (Bosch et al., 2002). Mais de 99% dos Carcinomas de Células Escamosas Cervical (CCEC) e 20% dos Carcinomas de Células Escamosas Bucal (CCEB) foram associados com subtipos de HPV de alto risco (MUNGER et al., 2002).

Oncoproteínas do HPV de importância na carcinogênese

A infecção pelo HPV inicia-se a partir do momento em que as partículas virais penetram no núcleo das células epiteliais da camada basal, cujos queratinócitos em diferenciação replicam e transcrevem apenas genes precoces. O aumento da replicação, da transcrição e da formação do capsídeo viral ocorrem apenas em células localizadas nas camadas mais superficiais do epitélio (HUH et al., 2005).

O processo de infecção pelo HPV pode ser compreendido através do entendimento das funções das proteínas virais E1, E2, E4, E5, E6 e E7.

Proteína E1: A proteína E1 é necessária na iniciação e alongação do DNA viral. Possuindo pa-

pel de helicase, interage positivamente com a DNA polimerase α , a primase e as single strand base (SSBs) da célula hospedeira (Stubenrauch et al., 2000). A atividade da proteína E1 é regulada pelos processos de degradação protéica pós-transcricional, ubiquitinação e sumoilação (Rangasamy et al., 2000). Dentre as proteínas expressas pelo HPV, sabe-se que a ORF, tanto da L1 quanto da E1, é a mais conservada entre os diferentes subtipos do HPV (ZUR HAUSEN, 1996).

Proteína E2: A síntese de um novo genoma viral inicia-se na ORI, que é regulada principalmente pelas proteínas virais E1 e E2. Acredita-se que a E2 previna a condensação do DNA na ORI. Ambas as proteínas, depois de ligadas, interagem com a maquinaria celular de replicação do DNA viral e com a expressão dos genes virais (de Villiers et al., 1994; Zur Hausen., 1996). Além disso, E2 interage positivamente com co-reguladores desse processo transcricional (HOU et al., 2000).

Proteína E4: A proteína E4 é originada de transcritos de RNA viral, formados por um mecanismo de “splicing” entre a ORF E1 e a ORF E4 (ZUR HAUSEN, 1996). Apesar de sua função, ainda, não estar bem definida, a proteína E4 não é requisitada para a transformação ou persistência do plasmídeo, sendo encontrada exclusivamente nos epitélios infectados e diferenciados (DOORBAR et al., 1986).

Proteína E5: São proteínas hidrofóbicas estimuladoras do crescimento em células infectadas com HPV, principalmente quando associadas ao gene E7, embora seja uma proteína de atividade de transformação fraca. A proteína E5 tardia, no entanto, tem reduzido a degradação de receptores de fatores de crescimento (PIM et al., 1992). A ORF que codifica E5 é frequentemente deletada em câncer cervical, sendo dispensáveis para a manutenção da malignidade na carcinogênese (ZUR HAUSEN, 1996).

FRAGA, C. A. C.; OLIVEIRA, M. V. M.; SILVEIRA, A. C. O. S.; SOUZA, L. R. S.; VIANA, A. G.; DE-PAULA, A. M. B.; GUIMARÃES, A. L. S.

Proteína E6: A oncoproteína E6 em subtipos de HPV de alto risco expressa primeiramente anormalidades nucleares como consequência da persistência de cinases, além de estimular a enzima telomerase (DUENSING et al., 2004; KLINGELHUTZ et al., 1996). As anormalidades centrossômicas somente são expressas depois de um período prolongado de alterações (BUNZ et al., 1998; COURSEN et al., 1997). Tem como principal função ligar-se à proteína supressora de tumor TP53, destinando-a a degradação por ubiquitinação, e, dessa forma, bloqueando os genes associados ao fenômeno apoptótico. Esse mecanismo contribui para a instabilidade genômica (Figura 1).

Proteína E7: A oncoproteína E7 em HPV de alto risco, também, predispõe ao acúmulo de anormalidades cromossômicas, à indução de anormalidades nos centrossomos, nos mecanismos de supressão tumoral e ao desenvolvimento de aneuploidias, contribuindo para a progressão maligna. A similaridade com a proteína E6 sugere um relacionamento evolutivo entre essas duas proteínas (DUENSING et al., 2004). O alvo mais conhecido da E7 é a proteína retinoblastoma (pRb), além das proteínas p107, p130 e p600 (DUENSING et al., 2000; HUH et al., 2005). Quando a célula recebe estímulo para se dividir, as ciclinas do tipo D ligam-se às quinases CDK4 e CDK6, que, agindo sobre a fosforilação da proteína pRb, são reguladoras da divisão celular. A pRb hipofosforilada se liga ao fator transcricional E2F e impede a ligação deste ao DNA (FREGONESI et al., 2003). A pRb mutada ou ligada a oncoproteínas virais não se liga ao E2F, permitindo que esse fique livre e estimule continuamente a

multiplicação celular (SANTAROSA et al., 2004).

O mecanismo de repressão da proteína E2F é controlado não só pela ligação com a proteína pRb, mas também pela atividade com um grupo de proteínas denominado histonas deacetilases (HDACs) (Brehm et al., 1998; Weintraub et al., 1995), que também possuem afinidade com a proteína E7 do HPV de alto risco. Pesquisas recentes indicaram que a proteína E7 liga-se às HDACs independentemente da relação dessas oncoproteínas com a pRb. As HDACs acetilam fatores de E2F resultando em uma diminuição de sua atividade funcional (LONGWORTH et al., 2004).

A interação das proteínas da família Rb pode ocorrer tanto com a oncoproteína E7 do HPV de alto risco, quanto com a do HPV de baixo risco. Apesar da ocorrência de uma grande similaridade entre essas oncoproteínas, há uma modificação dos aminoácidos localizados no domínio CR2 (Ciccolini et al., 1994), local de interação destas com a Rb. Uma simples mudança nesses aminoácidos pode resultar em aumento da afinidade com as proteínas da família Rb (HECK et al., 1992).

A proteína E7 tem uma relação direta com o complexo hipofosforilado da pRb de forma ativa. Alguns estudos, porém, mostraram a interação da proteína E7 com a proteína p53 (ZUR HAUSEN, 1996), induzindo a interrupção do ciclo celular em G1 (DEMERS et al., 1994; HICKMAN et al., 1994). A E7 pode, ainda, impedir os pontos de checagem da p53, principalmente na passagem para a fase S (CROSS et al., 1995; WALDMAN et al., 1996) (Figura 1).

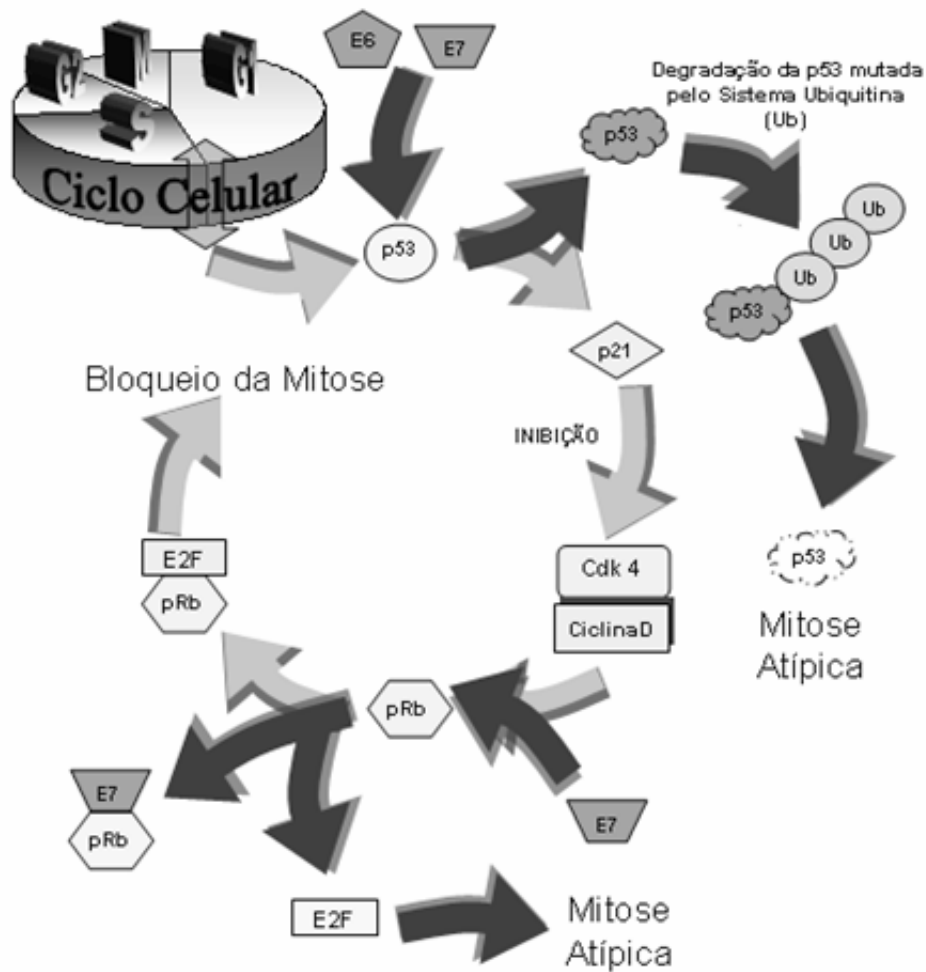


Figura 1 Modelo representando a atuação das oncoproteínas E6 e E7 do HPV no ciclo celular. As setas claras mostram as ações funcionais fisiológicas das proteínas dos genes supressores de tumor TP53 e Rb sobre o controle do ciclo celular (checkpoint). As escuras indicam a ação das proteínas E6 e E7 sobre as proteínas pRb e p53, possibilitando a ocorrência de mitose atípica .

Quando as oncoproteínas E6 e E7 do HPV de alto risco são co-expressadas, há um efeito adicional nas anormalidades centrossômicas e divisões celulares (DUENSING et al., 2000; DUENSING et al., 2004), além da participação do processo de inativação de genes supressores de tumor (HUH et al., 2005). Foi demonstrado que as proteínas E6 e E7 podem se ligar à proteína RAD, dificultando o mecanismo de reparo do DNA após a ocorrência de lesões (HALL et al., 1996; SANTAROSA et al., 2004). Entretanto, somente as oncoproteínas E6 e E7 não são suficientes para promoverem a transformação maligna de células humanas (DUENSING et al., 2000; HUH et al., 2005).

Mecanismos Epigenéticos da Infecção do HPV

O genoma do HPV pode ser perdido, tornar-se mutado ou ser transcricionalmente silenciado por genes supressores de tumor (ZHENG et al., 2006). Além disso, vários reguladores negativos importantes têm sido identificados na transcrição do DNA do HPV, tais como o fator de transcrição Oct-1, o receptor nuclear para II-6, o NF-II-6, os receptores de ácido retinóico e YY-1 (HA et al., 2004). Entretanto, reguladores transcricionais positivos como os glicocorticóides, que são capazes de se associarem à região upstream de diversos subtipos do HPV, induzindo o aumento do nível da expressão tanto da E6 quanto da E7, também foram identifica-

FRAGA, C. A. C.; OLIVEIRA, M. V. M.; SILVEIRA, A. C. O. S.; SOUZA, L. R. S.; VIANA, A. G.; DE-PAULA, A. M. B.; GUIMARÃES, A. L. S.

dos em lesões malignas (MITRANI-ROSENBAUM et al., 1989).

A frequência de hipermetilação foi associada ao aumento significativo da severidade das lesões neoplásicas, em associação com a inativação dos genes supressores de tumor (LIN et al., 2005), como o TP53 e a Rb. Esses genes são mediados pelo gene TP16INK4A, um gene supressor de tumor inibidor de quinase (AKANUMA et al., 1999; FREGONESI et al., 2003). Recentemente, mutações no gene TP16INK4A foram observadas em casos CCECP HPV-positivo, e também apresentando ocorrência em tumores que tinham os genes TP53 e Rb inativados (HUH et al., 2005).

Os telômeros funcionam como um protetor da integridade cromossomal assegurando que a informação genética seja perfeitamente copiada durante a mitose. A atividade da enzima telomerase está restrita às células embrionárias e ausente em células somáticas (LIU, 1999). Estudos recentes demonstraram o envolvimento da oncoproteína E6 no mecanismo de ativação da expressão de subunidades catalisadoras da telomerase hTERT. Entretanto, células “in vitro” não se tornaram imortais logo após a adição da E6, indicando que a ativação somente da telomerase é insuficiente para o fenômeno da imortalização celular (ZUR HAUSEN, 1996; ZUR HAUSEN, 2002).

Papilomavírus Humano e o CCE

O câncer é a segunda causa de morte por doença no Brasil. Em algumas regiões, como na região Nordeste, os cânceres ficam apenas 0,02 pontos percentuais a menos de doenças comuns como as doenças infecciosas e parasitárias. Nas demais regiões do Brasil, as neoplasias seguem-se às doenças cardiovasculares, como causa de morte, e, sua proporcionalidade aumenta à medida que se desloca para o sul do Brasil: 7,83% (Região Norte), 9,89% (Região Centro-Oeste), 11,93% (Região Sudeste) e

15,19% (Região Sul) (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2007).

O CCEB é o sexto carcinoma mais comum do mundo e representa aproximadamente 90% dos tumores malignos da boca. A cada ano, nos EUA, são diagnosticados aproximadamente 30.000 novos casos e 7.800 óbitos em decorrência do CCEB (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2007). A estimativa de incidência de câncer de boca, para 2008 no Brasil, aponta esse tumor como o sexto mais frequente entre os homens (com 10.060 casos estimados) e o nono entre as mulheres (com 3.410 casos estimados) (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2007). A incidência de CCE aumenta com a idade, sendo maior após os 40 anos de idade, e mais comum no sexo masculino (SCULLY et al., 2001).

O diagnóstico do CCEB é realizado através de um exame histopatológico com a obtenção de um fragmento representativo do tumor mediante uma biópsia do tecido neoplásico. O CCEB é caracterizado histologicamente por ilhas e cordões invasivos de células epiteliais malignas, que mostram diferenciação em direção a uma morfologia escamosa. Surgem como lesões in situ, restritas ao epitélio, algumas vezes com áreas circundantes de displasia epitelial (SCULLY et al., 2001).

A carcinogênese bucal é um processo multifatorial, caracterizado por alterações genéticas, epigenéticas e fenotípicas (AKRISH et al., 2004; MEHROTRA et al., 2006). Muitas dessas alterações envolvem a ativação de vias de sinalização metabólicas que favorecem o crescimento celular e as características de sobrevivência da célula. Considerando os fatores de risco para o câncer de cabeça e pescoço, estudos mostram que indivíduos tabagistas apresentam um risco aumentado para a doença; o etilismo, também, exerce um efeito sinérgico, exacerbando, assim, o risco para o desenvolvimento do câncer (DE PAULA et al., 2009; SCULLY et al., 2001).

O tabagismo e o etilismo estão causadores, em 75%, de todos os cânceres de cabeça e pescoço. Evidências têm sugerido que a Leucoplasia Bucal e o Líquen Plano Bucal são lesões potencialmente malignizáveis na boca (DE PAULA et al., 2009). Segundo a Organização Mundial de Saúde, Leucoplasia Bucal (LB) é um termo clínico usado para definir uma lesão Branca (placa ou mácula) que não se caracteriza como nenhuma outra lesão específica (WARNAKULASURIYA, 2009). Já o Líquen Plano Bucal (LPB) é classificado como uma doença imunologicamente mediada (GONZALEZ-MOLES et al., 2008).

Geralmente, o CCEB se desenvolve a partir de uma displasia epitelial que progride até que as células do epitélio displásico invadam o tecido conjuntivo adjacente. Porém, nem sempre esta progressão epitelial pode ser observada (GONZALEZ-MOLES et al., 2008). Este fato dificulta o estabelecimento de um prognóstico correto através das características morfológicas das lesões pré-malignas.

Estudos moleculares para rastreamento de genes candidatos ao processo de transformação maligna vêm sendo utilizados com muita frequência a partir dos anos noventa. O termo campo de cancerização foi inicialmente descrito para se referir às margens do crescimento de um tumor, ocorrendo um processo de transformação progressiva de epitélio normal para neoplásico, sem a destruição progressiva do epitélio normal pelas células cancerosas pré-existentes. Evidências sugerem que a mucosa adjacente não maligna (com aspecto de normalidade) no campo de cancerização também exibe importantes distúrbios genéticos. Além disso, a região do campo de cancerização é susceptível ao desenvolvimento de focos independentes de transformação maligna (GARCEA et al., 2005). Apesar dos grandes esforços, nenhum marcador de prognóstico efetivo foi desenvolvido.

É importante ressaltar que grande parte destes estudos avaliaram somente alterações na sequência de DNA. Recentemente, as alterações epigenéticas têm ganhado destaque no contexto da etiopatogênese das doenças (BIRD, 2007). Em contraste a alterações de base genética, as modificações epigenéticas são processos que podem alterar a expressão gênica sem, no entanto, modificar a sequência dos nucleotídeos; podem ser herdáveis no genoma durante a divisão celular. Por não alterar a sequência do DNA, essas modificações podem ser reversíveis (FEINBERG, 2004). Essas características fazem desses mecanismos alvos atrativos para intervenções terapêuticas em relação ao câncer.

Aproximadamente 15% de todos os cânceres no mundo parecem estar associados com infecções virais. Muitos vírus são aceitos como o principal agente etiológico de determinados tipos de câncer. A associação dos vírus HPV de alto risco com o CCEB tem sido observada por vários trabalhos. O desenvolvimento de técnicas sensíveis para detecção de HPV foi responsável por um aumento da prevalência do HPV 16 em pacientes com carcinoma (PETE et al., 2002).

Algumas infecções virais têm gerado alterações epigenéticas associadas à carcinogênese. Um exemplo disso é a hipermetilação do gene TP16INK4A e do receptor de estrógeno, causada pela infecção por vírus da hepatite B e C, que leva ao desenvolvimento de carcinoma hepatocelular. Recentemente, foi observado que a presença do HPV pode levar a hipermetilação do TP16INK4A, através do aumento da enzima dimetil transferase 3b (DNMT3b) em pacientes não fumantes e do sexo feminino com carcinoma de pulmão (LIN et al., 2005). Outro fator importante é que a detecção do HPV-16 relaciona-se, nesse caso, com a inativação dos genes TP53 e PRb via expressão das oncoproteínas E6 e E7, respectivamente.

FRAGA, C. A. C.; OLIVEIRA, M. V. M.; SILVEIRA, A. C. O. S.; SOUZA, L. R. S.; VIANA, A. G.; DE-PAULA, A. M. B.; GUIMARÃES, A. L. S.

Embora alguns autores demonstrem que o hábito tabagista e a infecção pelo HPV possam atuar de forma sinérgica no processo da carcinogênese bucal, via carcinógenos químicos que atuam potencializando as ações das oncoproteínas do HPV e/ou causando imunossupressão tornando o tecido mais susceptível à infecção pelo vírus, evidências demonstram que tumores associados à infecção por HPV de alto risco representam um subgrupo distinto daqueles associados a hábitos tabagista e etilista. Os diferentes achados na literatura associam-se aos diferentes métodos de detecção viral, em que o destaque é a reação em cadeia da polimerase, método mais sensível na detecção do DNA viral. Ainda, a grande variação dos achados relatados é justificada pela variação nas amostras utilizadas: parafinado ou fresco.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A identificação do HPV em muitas lesões tem possibilitado a análise de muitos alvos moleculares de atuação das oncoproteínas E6 e E7. Essas proteínas, principalmente aquelas dos subtipos de alto risco, possuem importantes funções moduladoras do ciclo celular, bem como em outros mecanismos associados à patogênese viral.

Embora alguns estudos demonstrem a forte associação entre a infecção do HPV de alto risco e o desenvolvimento do câncer bucal, os métodos de detecção do DNA viral devem ser aperfeiçoados a fim de obter resultados mais consistentes.

REFERÊNCIAS

Akanuma, D. et al. Inactivation patterns of the p16 (INK4a) gene in oral squamous cell carcinoma cell lines. *Oral Oncol.*, v. 35, n. 5, p. 476-83, Sept. 1999.

Akrish, S.; Buchner, A.; Dayan, D. Oral cancer: diagnostic options as an aid to histology in order to predict patients at high risk for malignant transformation. *Refuat. Hapeh. Vehashinayim.*, v. 21, n. 4,

p.6-15, Oct. 2004.

Bernard, H.U. Gene expression of genital human papillomaviruses and considerations on potential antiviral approaches. *Antivir. Ther.*, v. 7, n. 4, p. 219-37, Dec. 2002.

Bird, A. Perceptions of epigenetics. *Nature*, v. 447, n. 7143, p. 396-98, May 2007.

Bosch, F.X. et al. The causal relation between human papillomavirus and cervical cancer. *J. Clin. Pathol.*, v. 55, n. 4, p. 244-65, Apr. 2002.

Brehm, A. et al. Retinoblastoma protein recruits histone deacetylase to repress transcription. *Nature*, v. 391, n. 6667, p. 597-601, Feb. 1998.

Bunz, F. et al. Requirement for p53 and p21 to sustain G2 arrest after DNA damage. *Science*, v. 282, n. 5393, p.1497-1501, Nov. 1998.

Chang, F.; Syrjanen, S.; Kellokoski, J.; Syrjanen, K. Human papillomavirus (HPV) infections and their associations with oral disease. *J. Oral Pathol. Med.*, v. 20, n. 7, p. 305-17, Aug. 1991.

9. Ciccolini, F. et al. Functional studies of E7 proteins from different HPV types. *Oncogene*, v. 9, n. 9, p. 2633-38, Sept. 1994.

Coursen, J.D. et al. Genomic instability and telomerase activity in human bronchial epithelial cells during immortalization by human papillomavirus-16 E6 and E7 genes. *Exp. Cell Res.*, v. 235, n. 1, p. 245-53, Aug. 1997.

Cross, S.M. et al. A p53-dependent mouse spindle checkpoint. *Science*, v. 267, n. 5202, p. 1353-56, Mar. 1995.

D'Souza, G. et al. Case-control study of human papillomavirus and oropharyngeal cancer. *N. Engl. J. Med.*, v. 356, n. 19, p. 1944-56, May 2007.

- Danos, O.; Katinka, M.; Yaniv, M. Human papillomavirus 1a complete DNA sequence: a novel type of genome organization among papovaviridae. *EMBO J.*, v. 1, n. 2, p. 231-36, 1982.
- De Paula, A.M. et al. Analysis of 724 cases of primary head and neck squamous cell carcinoma (HNSCC) with a focus on young patients and p53 immunolocalization. *Oral Oncol.*, v. 45, n. 9, p. 777-82, Apr. 2009.
- de Villiers, E.M. Papilloma viruses in cancers and papillomas of the aerodigestive tract. *Biomed. Pharmacother.*, v. 43, n. 1, p. 31-36, 1989.
- de Villiers, E.M. et al. Classification of papillomaviruses. *Virology*, v. 324, n. 1, p. 17-27, June 2004.
- de Villiers, W.J.; Fraser, I.P.; Gordon, S. Cytokine and growth factor regulation of macrophage scavenger receptor expression and function. *Immunol. Lett.*, v. 43, n. 1-2, p. 73-79, Dec. 1994.
- Demers, G.W. et al. Growth arrest by induction of p53 in DNA damaged keratinocytes is bypassed by human papillomavirus 16 E7. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, v. 91, n. 10, p. 4382-86, May 1994.
- Doorbar, J. et al. Identification of the human papilloma virus-1a E4 gene products. *EMBO J.*, v. 5, n. 2, p. 355-62, Feb. 1986.
- Duensing, S. et al. The human papillomavirus type 16 E6 and E7 oncoproteins cooperate to induce mitotic defects and genomic instability by uncoupling centrosome duplication from the cell division cycle. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, v. 97, n. 18, p. 10002-7, Aug. 2000.
- Duensing, S.; Munger, K. Mechanisms of genomic instability in human cancer: insights from studies with human papillomavirus oncoproteins. *Int. J. Cancer*, n. 109, n. 2, p. 157-62, Mar. 2004.
- Feinberg, A.P. The epigenetics of cancer etiology. *Semin. Cancer Biol.*, v. 14, n. 6, p. 427-32, Dec. 2004.
- Fregonesi, P.A. et al. p16(INK4A) immunohistochemical overexpression in premalignant and malignant oral lesions infected with human papillomavirus. *J. Histochem. Cytochem.*, v. 51, n. 10, p. 1291-97, Oct. 2003.
- Garcea, G. et al. Molecular prognostic markers in pancreatic cancer: a systematic review. *Eur. J. Cancer*, v. 41, n. 15, p. 2213-36, Oct. 2005.
- Gonzalez-Moles, M.A.; Scully, C.; Gil-Montoya, J.A. Oral lichen planus: controversies surrounding malignant transformation. *Oral Dis.*, v. 14, n. 3, p. 229-43, Apr. 2008.
- Ha, P.K.; Califano, J.A. The role of human papillomavirus in oral carcinogenesis. *Crit Rev. Oral Biol. Med.*, v. 15, n. 4, p. 188-96, 2004.
- Hall, M.; Peters, G. Genetic alterations of cyclins, cyclin-dependent kinases, and Cdk inhibitors in human cancer. *Adv. Cancer Res.*, v. 68, p. 67-108, 1996.
- Heck, D.V. et al. Efficiency of binding the retinoblastoma protein correlates with the transforming capacity of the E7 oncoproteins of the human papillomaviruses. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, v. 89, n. 10, p. 4442-46, May 1992.
- Hickman, E.S.; Picksley, S.M.; Vousden, K.H. Cells expressing HPV16 E7 continue cell cycle progression following DNA damage induced p53 activation. *Oncogene*, v. 9, n. 8, p. 2177-81, Aug. 1994.
- Hou, S.Y. et al. Alleviation of human papillomavirus E2-mediated transcriptional repression via formation of a TATA binding protein (or TFIID)-TFIIB-RNA polymerase II-TFIIF preinitiation complex. *Mol. Cell Biol.*, v. 20, n. 1, p. 113-25, Jan. 2000.

- Huh, K.W. et al. Association of the human papillomavirus type 16 E7 oncoprotein with the 600-kDa retinoblastoma protein-associated factor, p600. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, v. 102, n. 32, p. 11492-7, Aug. 2005.
- Klingelhutz, A.J.; Foster, S.A.; McDougall, J.K. Telomerase activation by the E6 gene product of human papillomavirus type 16. *Nature*, v. 380, n. 6569, p. 79-82, Mar. 1996.
- Lin, T.S. et al. An association of DNMT3b protein expression with P16INK4a promoter hypermethylation in non-smoking female lung cancer with human papillomavirus infection. *Cancer Lett.*, v. 226, n. 1, p. 77-84, Aug. 2005.
- Liu, J.P. Studies of the molecular mechanisms in the regulation of telomerase activity. *FASEB J.*, v. 13, n. 15, p. 2091-104, Dec. 1999.
- Longworth, M.S.; Laimins, L.A. The binding of histone deacetylases and the integrity of zinc finger-like motifs of the E7 protein are essential for the life cycle of human papillomavirus type 31. *J. Virol.*, v. 78, n. 7, p. 3533-41, Apr. 2004.
- McKaig, R.G.; Baric, R.S.; Olshan, A.F. Human papillomavirus and head and neck cancer: epidemiology and molecular biology. *Head Neck*, v. 20, n. 3, p. 250-265, May 1998.
- Mehrotra, R.; Yadav, S. Oral squamous cell carcinoma: etiology, pathogenesis and prognostic value of genomic alterations. *Indian J. Cancer*, v. 43, n. 2, p. 60-66, Apr. 2006.
- Ministério da Saúde National Cancer Institute. Ministry of Health. Estimate 2008: Brazilian cancer incidence. - Rio de Janeiro: NCI, 2007 [cited 2007 Out 25]. Available from:<http://www.inca.gov.br/regpop/2007>.
- Mitrani-Rosenbaum, S.; Tsvieli, R.; Tur-Kaspa, R. Oestrogen stimulates differential transcription of human papillomavirus type 16 in SiHa cervical carcinoma cells 2. *J. Gen. Virol.*, v. 70, n. 8, p. 2227-32, Aug.