

BASES BIOMOLECULARES DA ONCOGÊNESE CERVICAL

Molecular Basis of Cervical Oncogenesis

Waldemar Augusto Rivoire^{1,3}, Edison Capp^{1,2,3}, Helena von Eye Corleta^{1,3}
e Ilma Simoni Brum da Silva²

RESUMO

A incidência e a mortalidade de câncer cervical têm diminuído, em parte pelo diagnóstico precoce e tratamento de lesões precursoras do câncer cervical. Neste trabalho são apresentadas as bases para a compreensão da oncogênese cervical. Diversos estudos demonstraram que o maior risco para desenvolver câncer de colo uterino é a não realização de exames citopatológicos, rotineiramente. O ciclo celular é controlado por genes supressores e estimuladores da proliferação celular. Quando ocorrem mutações, proto-oncogenes tornam-se oncogenes, que são carcinogênicos e causam multiplicação celular excessiva. Os genes supressores, em contraste, contribuem para o desenvolvimento de câncer quando são inativados por mutações. A perda da ação de genes supressores funcionais pode levar a célula ao crescimento inadequado. O ciclo celular também pode ser alterado pela ação de vírus, entre eles o HPV (*human papilloma virus*), de especial interesse na oncogênese cervical. Os tipos HPV 16 e 18 são os de maior interesse, frequentemente associados a câncer cervical e anal. O mecanismo pelo qual os tipos de HPV transformam as células ainda não é completamente compreendido. O conhecimento das bases moleculares que estão envolvidas na oncogênese cervical tem sido possível devido a utilização de técnicas avançadas de biologia molecular. Algumas destas técnicas permitem identificar grupos de HPV de alto ou baixo risco (captura híbrida) ou identificação de tipos virais específicos (PCR). São técnicas de fácil utilização em laboratórios equipados, embora ainda com custo elevado.

Palavras-chave: biologia molecular; oncogenes; carcinoma; neoplasias do colo uterino; papillomavirus humano.

¹ Depto. de Ginecologia e Obstetrícia, Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Rua Ramiro Barcelos, 2400/4º andar; 90035-003 Porto Alegre, RS, Brasil. Enviar correspondência para E.C. E-mail: edcapp@vortex.ufrgs.br

² Depto. de Fisiologia, Instituto de Ciências Básicas da Saúde, Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

³ Serviço de Ginecologia e Obstetrícia, Hospital de Clínicas de Porto Alegre.

ABSTRACT

Over the last decades the incidence and mortality by cervical cancer have decreased. Early diagnosis and treatment of precursory lesions are in part responsible for these results. In this paper the molecular basis to understand the cervical oncogenesis is presented. Several studies have shown that not taking routinely pap smears sets patients at higher risk to develop cervical cancer. The cell cycle is controlled by proliferative and suppressive genes. When mutations take place, proto-oncogenes turn into oncogenes (carcinogenic) and cause excessive cellular multiplication. On the other hand, suppressor genes contribute to cancer development when inactivated, and this leads the cells to inadequate growth. Virus such as the human papilloma virus (HPV) can affect this orchestrated cell cycle. Of special interest in the cervical carcinogenesis are the HPV subtypes 16 and 18. How HPV transforms the cervical cells is not fully understood. Real advances have been made in the application of molecular biology techniques for the understanding of this mechanism. It is already feasible to identify high and low risk HPV subtypes through hybrid capture and polymerase chain reaction. Once established, these techniques are easy to perform; however, they are still too expensive and require well equipped laboratories.

Key words: *molecular biology; oncogenes; carcinoma; cervix neoplasms; human papillomavirus.*

INTRODUÇÃO

A incidência e a mortalidade de câncer cervical têm diminuído, em parte pelo diagnóstico precoce e tratamento de lesões precursoras do câncer cervical.¹ O sucesso do rastreamento do câncer cervical por citologia tem servido de modelo para outros tipos de tumores. Diversos estudos demonstraram que o maior risco para desenvolver câncer de colo uterino é a não realização de exames citopatológicos, rotineiramente. Contudo, é importante lembrar que não há método de rastreamento, diagnóstico ou terapêutico, em medicina, que tenha 100% de certeza ou sucesso. Assim, algumas mulheres ainda desenvolverão câncer de colo uterino, apesar de aderirem adequadamente aos protocolos de investigação.²

O método tradicional, estabelecido por George Papanicolaou na década de 40, classificava o esfregaço de colo uterino em classes (I, II, III, IV e V). Este método tem algumas limitações por coletar apenas células superficiais e células descamadas, sendo que alguns estudos mostraram falsos-negativos em até 50%.³ Em 1947, Richart introduz o conceito de neoplasia intra-epitelial cervical (NIC), sugerindo haver uma continuidade e evolução das lesões displásicas leves até

carcinoma invasor. Além dos altos custos envolvidos no manejo clínico de pacientes com anormalidades de citologia cervical, somaram-se as alterações na classificação do Sistema de Bethesda, a introdução de novas opções terapêuticas e de rastreamento e o consenso entre investigadores sobre o papel de determinados tipos do papiloma vírus humano (HPV) como fator de risco para neoplasia cervical.

DNA E RNA

Nas duas últimas décadas, foram alcançados avanços importantes na identificação das bases do processo de transformação neoplásica.⁴ Os genes estão presentes nas moléculas de DNA, no núcleo celular. Estes especificam seqüências de aminoácidos que devem ser ligados uns aos outros para formar determinada proteína: a proteína deverá realizar o efeito biológico do gene. Quando um gene é ativado, a célula responde sintetizando a proteína codificada. Mutações em um gene podem perturbar a célula, alterando a quantidade de proteína ou a atividade desta. Duas classes de genes, pequenas em relação ao total de genes, tem papel chave no desenvolvimento do câncer. Em suas configurações normais, elas coreografam o ciclo celular em

uma intrincada seqüência de eventos, pelos quais as células crescem e se dividem. Proto-oncogenes estimulam, enquanto genes supressores inibem os processos de divisão celular. Coletivamente, estas duas classes de genes são responsáveis pela proliferação descontrolada encontrada nos cânceres em humanos.⁵

Quando ocorrem mutações, proto-oncogenes tornam-se oncogenes, que são carcinogênicos e causam multiplicação celular excessiva. Estas mutações levam o proto-oncogene a expressar em excesso sua proteína estimuladora do crescimento ou a produzir uma forma mais ativa. Os genes supressores de tumores, em contraste, contribuem para o desenvolvimento de câncer quando são inativados por mutações. O resultado é perda da ação de genes supressores funcionais, o que depriva a célula de controles cruciais para a prevenção de crescimento inapropriado.

CICLO CELULAR E ONCOGENES

O ciclo celular é composto de 4 estágios. Na fase G1 (*gap 1* = interfase), a célula aumenta de tamanho e prepara-se para copiar seu DNA. A cópia (replicação) ocorre na fase seguinte, chamada de S (síntese) e permite que a célula duplique precisamente seus cromossomos. Depois de replicados os cromossomos, inicia-se a fase G2 (*gap 2*), durante a qual a célula prepara-se para a fase M (mitose) – na qual a célula-mãe, aumentada, finalmente divide-se ao meio, para produzir duas células-filhas, com igual número de cromossomos. As células-filhas imediatamente entram em fase G1 e podem reiniciar o ciclo celular. Alternativa também é parar o ciclo temporária ou definitivamente⁶ (Figura 1).

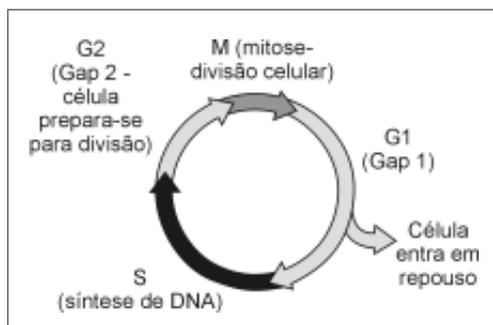


Figura 1 - Fases do ciclo celular

Várias proteínas inibidoras podem parar o avanço deste ciclo. Entre elas p15 e p16, que atuam bloqueando componentes essenciais para progressão do ciclo celular, como CDK (*cyclin-dependent kinases*) e ciclinas, impedindo o avanço do ciclo da fase G1 para S. Outros inibidores são p21 (que é associado ao proto-oncogene *ras*) e p53, que monitoram a saúde celular, a integridade de seus cromossomos e a execução correta das diferentes fases do ciclo.

As células humanas estão equipadas com mecanismos de controle da divisão celular. Mutações no conteúdo genético destas células podem superar estas defesas e contribuir para a formação de cânceres. Um destes mecanismos de ação é a morte celular programada, chamada de apoptose, quando componentes essenciais estão lesados ou o controle do sistema desregulado. O desenvolvimento de células tumorais implica em escape a este mecanismo. A proteína p53, entre as suas várias funções, auxilia no início da apoptose; sua inativação reduz a chance de células geneticamente danificadas serem eliminadas, iniciando um processo carcinogênico. Outro mecanismo de controle da divisão celular é um mecanismo de contagem do número, limitado, de vezes que determinada célula se reproduz. Neste mecanismo as pontas dos cromossomos (telômeros) marcam o número de divisões, e no momento apropriado iniciam senescência e morte. Estes dois mecanismos sugerem uma tentativa de imortalização da célula cancerosa.

A relação existente entre oncogenes e vírus foi suspeitada em 1909, quando Peyton Rous descobriu que um vírus (conhecido como *Rous sarcoma vírus*) causava sarcoma em aves. Contudo, foram necessários outros 60 anos até que se demonstrasse que este vírus usava um único gene, o oncogene v-src, o qual, uma vez ativado, transformava o crescimento normal das células em crescimento carcinogênico.⁷

VÍRUS DO PAPILOMA HUMANO

Os vírus são agentes infecciosos com características ora de seres vivos ora não. Podem infectar animais, plantas e outros

microorganismos. Vírus não são células e apresentam-se estruturalmente muito mais simples que bactérias. Os papiloma vírus humanos são caracterizados por apresentarem dupla fita de DNA e um capsídeo icosaédrico. Estão associados a diferentes doenças em humanos, incluindo verrugas comuns e genitais. Existem pelo menos 80 tipos de HPV descritos e o número continua a crescer. Também no Brasil os tipos HPV 16 e 18 são os mais freqüentemente associados a câncer cervical e anal.⁸ Outros tipos de HPV estão associados a lesões genitais benignas (HPV 6 e 11). Embora ainda não esteja claro como os tipos de alto risco causam câncer, estudos indicam que a transformação maligna envolve os produtos dos genes virais E6 e E7, os quais podem exercer seus efeitos interferindo nas proteínas que regulam o crescimento celular. A grande maioria dos infectados não desenvolve doença maligna, indicando que somente a infecção pelo HPV não é suficiente para causar câncer. Co-fatores como tabagismo e estado imunológico podem ser necessários antes que a neoplasia possa ocorrer.^{9,10}

BIOLOGIA MOLECULAR DO CÂNCER CERVICAL

Estudos epidemiológicos das lesões cervicais uterinas, nos últimos 20 anos, sugeriram, sem sucesso, a participação de agentes carcinogênicos venéreos (sêmen, vírus de

Epstein-Barr, citomegalovírus, herpes simples tipo II). Contudo, o HPV surgiu como principal suspeito ao ser encontrado em cerca de 90% dos cânceres cervicais, e por possuir oncogenes E6 e E7 com potencial de transformação.¹¹ Estes genes encontram-se em todos HPVs, e é a desregulação deles que resulta em transformação celular. O mecanismo pelo qual os tipos de HPV transformam as células ainda não é completamente compreendido. Os HPV 16 e 18 são os tipos mais freqüentemente encontrados, por esta razão são também os tipos mais estudados até agora. A maioria dos trabalhos foi realizada com os dois subtipos mais freqüentemente encontrados: HPV16 e HPV18. É possível, contudo, que diferentes mecanismos sejam utilizados pelos diferentes subtipos para induzir transformação neoplásica. Em particular há evidências de que o HPV 33 transforme as células por outra via.¹⁰ Um modelo de transformação celular pelos HPV 16 e 18 é apresentado na Figura 2.

Todos os tipos de HPV são replicados exclusivamente no núcleo da célula hospedeira. Em lesões de pele benignas associadas a HPV, o genoma viral separa-se do DNA celular e surge como um plasmídeo extracromossomal. Em lesões malignas associadas a HPV 16 e 18, contudo, o DNA viral permanece integrado nos cromossomos hospedeiros. Diferente do que ocorre, por exemplo, com os DNA dos HPV 6 e 11, que permanecem separados do DNA da célula hospedeira. Para

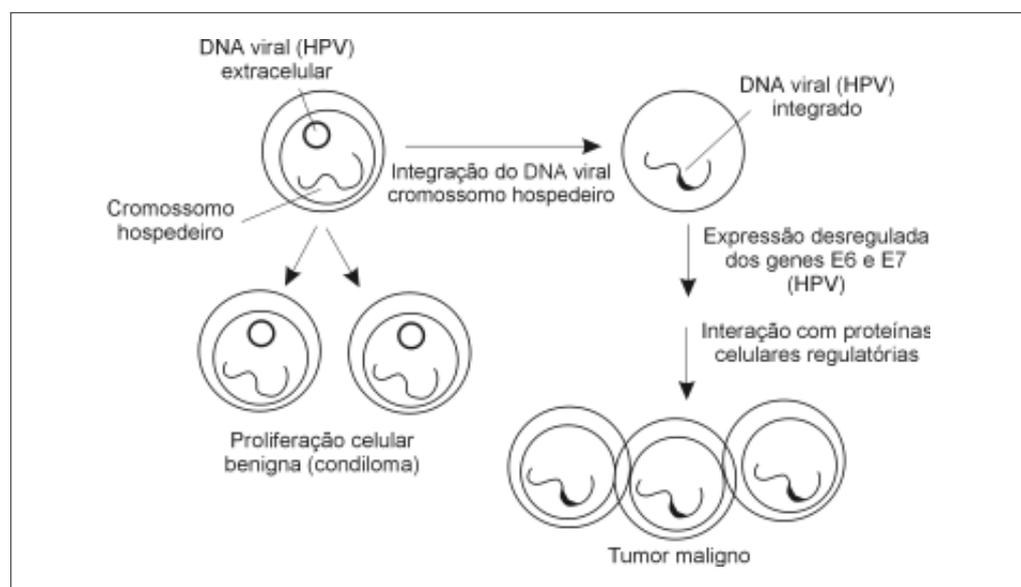


Figura 2 - Replicação viral em célula hospedeira (adaptado de Alberts, 1994)

integrar-se ao DNA celular, é necessário que haja uma quebra no genoma viral. Esta separação não ocorre de forma aleatória: a maioria ocorre nas regiões E1 e E2 do vírus. O resultado desta quebra é uma perda de função destes dois genes, acompanhada de desregulação dos genes E6 e E7, resultando em transformação da célula hospedeira. A região do cromossomo ao qual o genoma viral se integra não parece ser essencial para o desenvolvimento carcinogênico, uma vez que estas regiões variam muito.

Embora os genes E6 e E7 tenham sido relacionados com a carcinogênese mediada pelo HPV, o mecanismo exato pelo qual o produto destes genes age ainda não foi completamente esclarecido. É possível que a ação ocorra através de interação com proteínas reguladoras do ciclo celular. Em particular, foi demonstrado que E6 liga-se à proteína p53 e E7 à proteína Rb (produto do gene do retinoblastoma). Estas duas proteínas atuam prevenindo a transformação celular, interrompendo sua divisão e proliferação.¹⁰

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A integração do DNA viral ao genoma da célula hospedeira é, provavelmente, um passo importante na carcinogênese cervical, pois está freqüentemente associada a progressão deste tipo de câncer. A combinação da perda da regulação transcricional viral e a ativação da transcrição do DNA viral integrado podem levar a super expressão de genes que são essenciais no desenvolvimento do carcinoma cervical. Alternativamente, a integração do DNA do HPV pode estar associada ou a um proto-oncogene ou a um gene supressor de tumor. O efeito desta associação poderia levar a progressão de um fenótipo maligno.

O conhecimento das bases biomoleculares que estão envolvidas na oncogênese cervical tem sido possível devido a utilização de técnicas avançadas de biologia molecular. Algumas destas técnicas permitem identificar grupos de HPV de alto ou baixo risco (captura híbrida) ou identificação de tipos virais específicos (PCR). São técnicas de fácil utilização, em laboratórios devidamente equipados, mas ainda com custo elevado. A associação destas técnicas aos métodos

diagnósticos clássicos poderão levar a uma melhor avaliação das neoplasias cervicais e auxiliar no desenvolvimento de novas terapias, talvez menos invasivas e mais efetivas, como o uso de vacinas.

As diferenças entre células normais e neoplásicas podem ser sutis, mas existem. As características únicas destas células as tornam excelentes alvos para a intervenção. O desenvolvimento de terapêuticas anti-carcinogênicas ainda é incipiente. Em breve, serão utilizados delineamentos racionais e acurados de biologia molecular e terapêutica gênica, como adjuvantes no tratamento do câncer cervical e outros. A educação para saúde do público geral através de campanhas de esclarecimento e adesão aos programas de acompanhamento e prevenção, associadas a eficácia destes métodos diagnósticos são as chaves para o sucesso de novas estratégias para combater o câncer cervical.¹²

No Brasil, como de resto, nos países pertencentes ao chamado “terceiro mundo” só se faz prevenção oportunística, que, infelizmente, não altera a curva de mortalidade. Cabe aos governos destes países, promover programas permanentes de rastreamento populacional. O câncer de colo uterino deixou de ser um problema médico, na medida em que a ciência propicia todos os meios para sua prevenção. Sua solução depende de meios econômicos e vontade política.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Ivor B. Evaluation of neoplasia of the female lower genital tract. Available from: <http://cancer.med.upenn.edu/classroom/colp/>. Acesso em: 7 jul. 2000.
2. Kurman R, Henson D, Herbst A, Noller K, Schiffman M. Interim guidelines for mangement of abnormal cervical cytology. *JAMA* 1994;271(23):1866-9.
3. Lonky N, Sadeghi M, Tsadik GW, Petitti D. The clinical significance of the poor corelation of cervical displasia and cervical malignancy with referral cytologic results. *Am J Obstet Gynecol* 1999;181(3):560-6.
4. Pinto AP, Crum CP. Natural history of cervical neoplasia: defining progression and its consequence. *Clin Obstet Gynecol* 2000;43(2): 353-61.

5. Weinberg RA. How cancer arises. *Sci Am* 1996;9:9-15.
6. Alberts B, Bray D, Lewis J, Raff M, Roberts K, Watson JD. *Molecular biology of the cell*. 3th ed. New York: Garland, 1994:863-910.
7. Wallis Y L, Macdonald F. Demystified ... *Oncogenes*. *BMJ* 1999;52(2):55-63.
8. Cavalcanti SMB, Deus FCC, Zardo LG, Frugulhetti ICPP, Oliveira LHS. Human papillomavirus infection and cervical cancer in Brazil: a restrospective study. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 1996;91(4):433-40.
9. Roteli-Martins CM, Panetta K, Alves VAF, Siqueira SAC, Syrjänen KJ, Derchain SFM. Cigarette smoking and high-risk HPV DNA as predisposing factors for high-grade cervical intraepithelial neoplasia (CIN) in young brazilian women. *Acta Obstet Gyn Scan* 1998;77:678-82.
10. Beutner KR, Tying S. Human papillomavirus and human disease. *Am J Med* 1997; 102(5A):9-15.
11. Arends MJ, Buckley CH, Wells M. Aetiology, pathogenesis, and pathology of cervical neoplasia. *J Clin Pathol* 1998;51(2):96-103.
12. Cain J, Howett MK. Preventing cervical cancer. *Science* 2000;288(5472):1753-4.