

Asociación molecular entre los papilomavirus y el cáncer de cérvix

LILIANA BETANCUR, JORGE OSSA

Se revisa la patogénesis del condiloma y el cáncer inducidos por los papilomavirus (PVH), que puede resumirse así: a través de microheridas en el epitelio, el virus infecta las células basales y en el proceso de cicatrización se activa la proliferación celular con lo que se permite iniciar el ciclo de replicación viral; el producto del gen viral E7 se une a la proteína celular Rb, liberando el factor E2F que induce a la célula a entrar en el ciclo de división. El estado proliferativo debería ser contrarrestado por una respuesta apoptótica que es mediada, en este tipo de células, por la proteína p53. El gen viral E6 inactiva esta proteína con lo que se permite la aparición del condiloma por desequilibrio entre la proliferación y la apoptosis. En el contexto de una replicación celular activa e incontrolada y con la proteína p53 inactivada para cumplir sus funciones proapoptóticas y reparadoras, es muy alta la probabilidad de aparición de una célula maligna. Este panorama se hace más complejo cuando los virus, eventualmente, se integran al genoma celular (lo que es más frecuente en el PVH tipo 18). En este caso el gen regulador E2 se inactiva y consecuentemente aumentan las proteínas E6 y E7.

PALABRAS CLAVE
PAPILOMAVIRUS HUMANOS
CÁNCER DE CUELLO UTERINO
CARCINOGENESIS
CICLO CELULAR

INTRODUCCIÓN

Más del 90% de los casos de cáncer de cuello uterino han sido positivos para la infección por papilomavirus (PVH) (1-2); los tipos 16 y 18 son los más comprometidos (3,4). Actualmente se conocen algunos aspectos de los mecanismos moleculares mediante los cuales los PVH posiblemente conducen primero a una transformación de las células epiteliales del cuello uterino y posteriormente al establecimiento del cáncer (5-8). El presente ensayo revisa dichos mecanismos.

DOCTORA LILIANA BETANCUR, Química Pura y Especialista en Virología; Profesora de Cátedra, Facultad de Química Farmacéutica e Investigadora Asociada, Departamento de Microbiología y Parasitología; DOCTOR JORGE OSSA, Profesor Titular, Sección de Virología, Departamento de Microbiología y Parasitología; ambos de la Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia.

EL GENOMA DE LOS PVH

El entendimiento del papel que juegan los PVH en la tumorigénesis no sólo proporciona mayor comprensión del control del crecimiento celular, sino que también podría ayudar en el diseño futuro de enfoques para prevenir e inhibir la ocurrencia y progresión de la enfermedad. Antes de adentrarse en el tema, es importante recordar algunas nociones sobre el genoma de los PVH.

Una más llamativa de estas dos proteínas es su capacidad de formar complejos con proteínas celulares implicadas en el control del ciclo celular (13,14). Por ejemplo, la proteína viral E7 se une a una proteína celular codificada por un gen de la clase llamada supresora de tumores o antioncogenes (15). La pérdida o disfunción de tal proteína conduce a la formación de tumores (16). Investigaciones recientes han permitido entender el papel que juegan los genes supresores de tumores en la regulación del ciclo

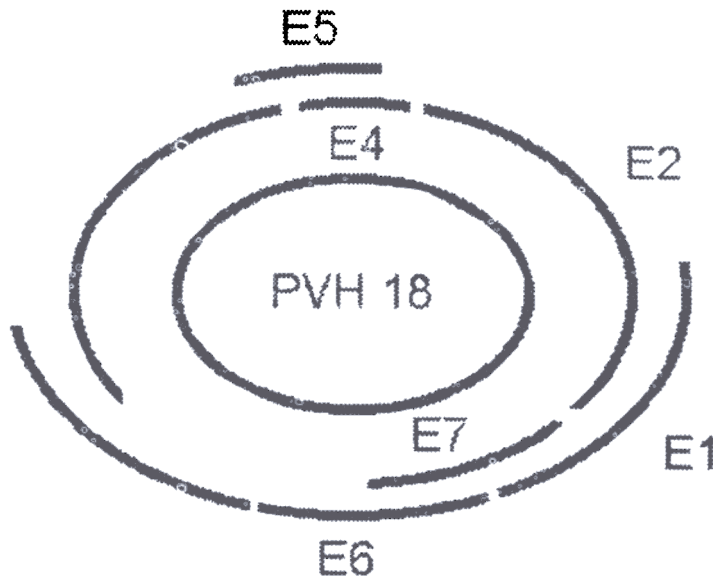


FIGURA Nº 1
GENOMA DE LOS PAPILOMAVIRUS: ADN CIRCULAR DE DOBLE CADENA
CON LOS GENES TEMPRANOS (E)

Se trata de un DNA circular de doble cadena con ocho genes designados como tempranos y tardíos. Los primeros se distinguen con la letra E (*Early*) y van desde E1 hasta E7, omitiendo E3 que no existe en los PVH humanos pero sí en casi todos los que afectan a los animales; éstos codifican las proteínas que aseguran la replicación viral; los tardíos (*Late*) llamados L1 y L2 codifican las proteínas estructurales necesarias para la encapsidación del genoma viral (9-10).

Los genes virales que codifican las proteínas E6 y E7 han cobrado importancia porque tienen que ver con la propiedad de los PVH de transformar las células epiteliales (11-13). La característica bioquí-

celular (17-20). Para comprender mejor este concepto es necesario explicar algunos aspectos de dicho ciclo.

EL CICLO CELULAR

Se divide este ciclo en las siguientes fases: G₁ o período de síntesis de proteínas celulares y S el de replicación de DNA; G₂ es la etapa en la cual la célula se prepara para entrar a la fase M en la que ocurre la mitosis o división celular (Figura Nº 2). Cuando la célula no se está dividiendo, es decir cuando no hace ciclo celular, se dice que se encuentra en un estado de quiescencia denominado fase G₀ (17,18).

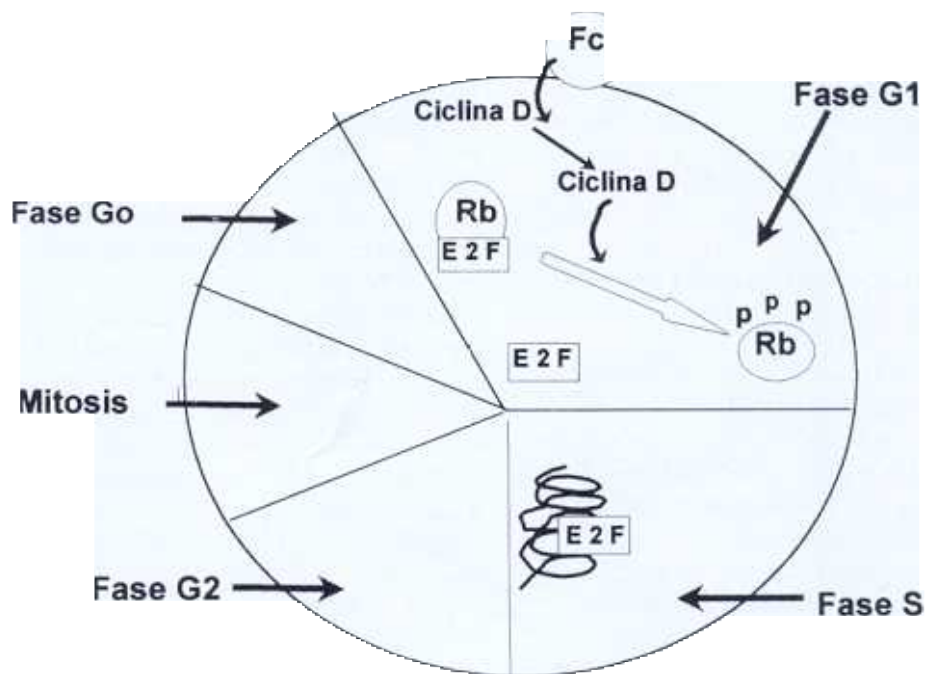


FIGURA Nº 2

CICLO CELULAR: FACTORES EXTRACELULARES DE CRECIMIENTO (Fc) ACTIVAN LA CICLINA D LA CUAL FOSFORILA LA PROTEÍNA Rb; EN EL PROCESO DE FOSFORILACIÓN SE LIBERA EL FACTOR E2F QUE ACTIVA LA TRANSCRIPCIÓN DE FACTORES PROPIOS DE LA FASE S.

El modelo aceptado del ciclo celular sostiene que la transición entre sus diferentes fases es regulada en puntos estratégicos de restricción; uno de los más importantes se presenta al final de la fase G₁ (21), donde la transición a la fase S es inducida por señales extracelulares en las que intervienen factores de crecimiento que activan fosfatasa específicas; éstas fosforilan proteínas celulares claves para que se dé la progresión a la fase S (22). La sustancia que cumple esta última función, en el caso de las células epiteliales, es la proteína Rb, codificada por el gen de la susceptibilidad al retinoblastoma. En condiciones de quiescencia de la célula ella se encuentra formando complejos con un factor de transcripción llamado E2F.

Cuando se requiere regeneración para reemplazar células viejas el tejido epitelial entra en estado proliferativo. Esto se logra cuando la proteína Rb es fosforilada en la parte final de la fase G₁, por un proceso en el que está implicada una quinasa específica, llamada Ciclina D, activada por factores celu-

lares de crecimiento (17,23), como se describió anteriormente. Durante la fosforilación de la proteína Rb se libera el factor de transcripción llamado E2F, el cual activa la expresión de genes propios de la fase S (17,18).

GENES SUPRESORES DE TUMORES

Estos genes codifican proteínas que inhiben la proliferación celular. En el caso de la proteína Rb, su unión al factor de transcripción E2F inhibe la progresión a la fase S y por ende la proliferación celular. Otro de los genes supresores de tumores, importante en el estudio de los mecanismos moleculares por los cuales las proteínas virales E6 y E7 intervienen en la transformación de las células epiteliales, es el gen p53 (24). Recientemente se encontró que éste juega un papel importante, tanto en la regulación del ciclo como en la muerte celular (25). En los tumores frecuentemente se encuentra disminuida la capacidad de muerte de celular, evento que permite la

proliferación. Entonces los cambios que conducen a la pérdida de la función de las proteínas implicadas en la muerte celular son probablemente componentes críticos del proceso de tumorigénesis; por lo tanto, el control del ciclo y la muerte celular son procesos que parecen estar inextricablemente relacionados (19,20,25).

PATOGÉNESIS DE LA INFECCIÓN POR PAPILOMAVIRUS

El ciclo de vida de los PVH está muy ligado al programa de diferenciación del epitelio escamoso estratificado. La infección por estos virus ocurre a través de microheridas en el epitelio, que exponen las células de la capa basal, únicas poseedoras de receptores para la adherencia de los PVH (26,27).

Durante el proceso de cicatrización se promueve la proliferación de las células basales y se activa, en las que están infectadas, la transcripción de los genes virales tempranos, lo que conduce a la amplificación y al establecimiento del genoma viral como episoma (26,27). Cuando termina el proceso de ci-

catrización, las células basales vuelven al estado de quiescencia, pero en las infectadas la expresión de las proteínas E6 y E7 tiene como función indirecta asegurar la replicación del genoma viral manteniendo el estado proliferativo de las células basales (9,10); este hecho podría ser explicado, en el caso particular de los papilomavirus que infectan el epitelio escamoso genital, de acuerdo al siguiente modelo (Figura N° 3):

La proteína viral E7 se une a la proteína celular Rb para inducir la liberación del factor E2F, reemplazando de esta forma la función que llevaría a cabo la Ciclina D cuando fuera activada por señales extracelulares (15,29). Una vez liberado el factor E2F activa la transcripción de los genes implicados en el proceso de duplicación del DNA, llevando a la célula de la fase G₁ a la S con lo que el virus dispone de la maquinaria que necesita para replicar su genoma (15,29). Este evento provoca proliferación celular no autorregulada.

Se ha demostrado que la regulación inapropiada del ciclo celular puede inducir apoptosis o sea muerte celular; es así como la unión de las proteínas E7 y

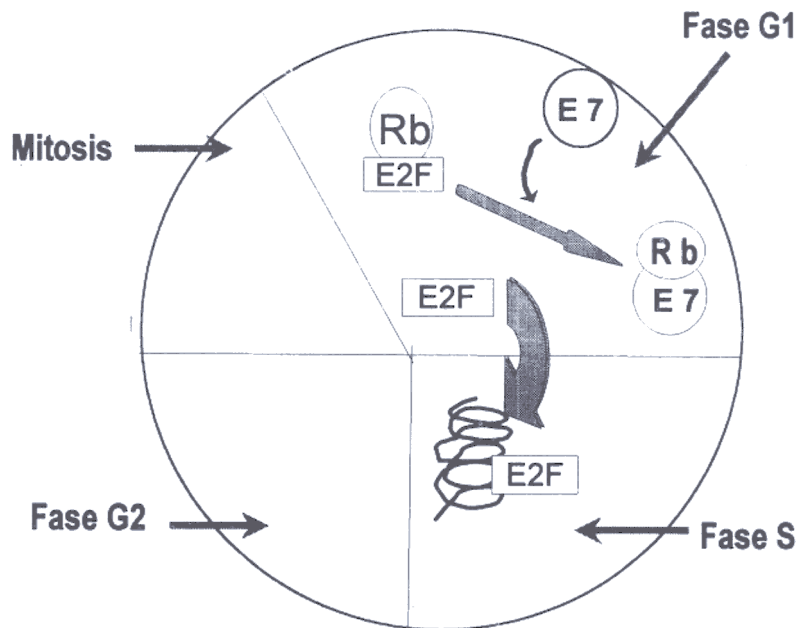


FIGURA N° 3
LA PROTEÍNA VIRAL E7 REEMPLAZA LA FUNCIÓN REALIZADA POR LOS FACTORES DE CRECIMIENTO Y LLEVA LA CÉLULA DE LA FASE G₁ A LA FASE S.

Rb altera los mecanismos de restricción celular que tienen lugar en la fase G₁; por lo tanto, en forma paradójica, la falta de regulación provocada por esta interacción, desencadena los mecanismos de apoptosis (30). Para que ocurra este proceso de muerte celular se necesita la proteína p53. Parece muy estratégico que el virus tenga forma de bloquear su acción mediante la unión a ella de su proteína E6 (31,32), impidiéndole realizar sus funciones de apoptosis; el resultado final es la división celular incontrolada. De esta forma el genoma viral continúa replicándose en las células hijas, que a su vez siguen duplicándose. Adicionalmente, la proteína p53 cumple un papel en la reparación de mutaciones del DNA; entonces su bloqueo aumenta la probabilidad de que esas mutaciones conduzcan, eventualmente, al estado de malignidad (33).

Cuando las células basales, infectadas o no, sufren diferenciación, cesa su división y se inicia la expresión de factores celulares propios de este estado, los cuales están muy estrechamente relacionados con la activación de la transcripción de los genes tardíos de los PVH. Estos factores de transcripción, de alguna manera no bien entendida, activan el "interruptor" que "apaga" la transcripción de los genes tempranos y "enciende" los que activan la expresión de los genes tardíos (9,10,27).

Resultados recientes indican que la regulación negativa de la transcripción de los genes E6 y E7, que tiene como consecuencia que no se expresen las respectivas proteínas, se debe principalmente a la unión de la proteína E2 a secuencias específicas de DNA viral (9,26); de la misma forma, la activación de los genes tardíos L1 y L2 se debe a la unión entre factores celulares de transcripción propios del estado de diferenciación y la proteína E2 a secuencias de DNA viral, lo que explica que el ciclo viral de los PVH dependa del programa de diferenciación de las células epiteliales (10,26). Bajo las anteriores condiciones se activa la transcripción de proteínas estructurales, se ensamblan las cápsidas y se forman viriones.

En el proceso de proliferación no regulada de las células basales infectadas por PVH, se altera la dinámica de diferenciación del epitelio escamoso estratificado retrasando su progresión; el resultado final es un incremento en el grosor del estrato espinoso, lo que produce la lesión conocida conocida como condiloma (9,26).

Durante el desarrollo de las neoplasias y según su grado de severidad cambian considerablemente los patrones de transcripción de los PVH; a mayor severidad más abundante es la síntesis de las proteínas codificadas por los genes tempranos (34).

Cuando los NIC III son positivos para PVH 16 ó 18 el DNA viral usualmente se encuentra integrado al genoma de la célula hospedera. Durante el proceso de integración se rompe el gen que codifica la proteína E2, con lo cual se pierde la regulación de la transcripción del genoma viral (35). Como resultado final algunos genes de la región temprana seguirán expresándose y la presencia continua de las proteínas E6 y E7 en la célula infectada inactivará más eficientemente los genes supresores de tumores implicados en las vías de regulación celular (36). Se presenta entonces una división celular continua con mayor probabilidad de que ocurran alteraciones cromosómicas, ya que la inactivación de p53 puede resultar en una acumulación de mutaciones celulares que eventualmente progresarán al estado de malignidad. La interacción de las proteínas E6 y E7 de los PVH tipos 16 y 18 con los genes supresores de tumores es de alto potencial tumorigénico (24,37-39). Por lo tanto la integración del DNA de los PVH en el genoma del hospedero puede ser el proceso implicado en el inicio de la transformación de las células epiteliales.

PERSPECTIVAS TERAPÉUTICAS

A la luz de lo expuesto puede plantearse que las proteínas E6 y E7 son posibles blancos para la terapia del cáncer de cérvix; por ejemplo, si se interfiere su expresión se puede bloquear o reducir la transformación del epitelio. También, si se aclaran los mecanismos por los cuales se conduce a la progresión maligna del tumor, se podrían diseñar drogas específicas que inhibieran la formación de complejos entre las proteínas virales oncogénicas y las celulares.

SUMMARY
MOLECULAR ASSOCIATION BETWEEN PAPILLOMAVIRUS AND CERVIX CANCER
A review is presented on the pathogenesis of condiloma and cancer induced by papil-

omavirus infection: through minimal epithelial wounds these viruses reach basal cells; cell proliferation is activated in the healing process thereby allowing the viral replication cycle to take place. The product of viral gen E7 joins Rb cell protein releasing the factor (E2F) that induces cell division. Proliferation should be opposed by apoptosis mediated by cell protein p53 but viral gen E6 inactivates the latter leading to an imbalance between cell division and death. With the occurrence of active, uncontrolled cell division the likelihood of malignancy development becomes high.

BIBLIOGRAFÍA

1. GROSS S. Epidemiology: A tool for the study of human papillomavirus-related carcinogenesis. *Intervirology* 1994; 37: 215-225.
2. SCHIFFMAN MH, BAUER HM, HOOVER RN, et al. Epidemiological evidence showing that human papillomavirus infection causes most cervical intraepithelial neoplasia. *J Natl Cancer Inst* 1993; 85: 958-964.
3. BERUMEN J, UNGER E, CASAS L, FIGUEROA P. Amplification of human papillomavirus types 16 and 18 in invasive cervical cancer. *Human Pathol* 1995; 6: 676-681.
4. VANG JT, LIU CZ, LANNACCONE P. The HPV 16 genome induces carcinomas and T-cell lymphomas in transgenic mice. *Am J Pathol* 1995; 147: 68-77.
5. FUJITA M, SHROYER KR, MARKHAM NE, et al. Association of human papillomavirus with malignant and premalignant lesions of the uterine endometrium. *Human Pathol* 1995; 26: 650-658.
6. VOUSDEN KH, FARRELL PJ. Viruses and human cancer. *Brit Med Bull* 1994; 50: 560-581.
7. KHOBYARIAN N, MARCZYNSKA B. Cell immortalization: The role of viral genes and carcinogens. *Virus Research* 1993; 30: 113-128.
8. YASUMOTO S, BURKHARDA, PONIGER J, et al. Human papillomavirus type 16 DNA-induced malignant transformation of NIH 3T3 cells. *J Virol* 1986; 57: 572-577.
9. CHOW LT, BROKER TR. Papillomavirus DNA replication. *Intervirology* 1994; 37: 150-158.
10. FUCHS PG, FISTER HP. Transcription of papillomavirus genomes. *Intervirology* 1994; 37: 159-167.
11. STOPPLER H, STOPPLER MC, SCHLEGEL R. Transforming proteins of the papillomavirus. *Intervirology* 1994; 37: 168-179.
12. SWAN DC, VERMON SD, ICENOGLI JP. Cellular protein involved in papillomavirus-induced transformation. *Arch Virol* 1994; 138: 105-115.
13. FARTHING AJ, VOUSDEN K. Function of human papillomavirus E6 and E7 oncoproteins. *Trends Microbiol* 1994; 2: 170-174.
14. FUCHS P, PFISTER H. Human papillomavirus oncogenes in the transformation of persistently infected epithelial cells. *Virus & Life* 1995; 6: 10-13.
15. HECK DV, YEE CL, HOWLEY PM, et al. Efficiency of binding of the retinoblastoma protein correlates with transforming capacity of the E7 oncoprotein of human papillomavirus. *Proc Natl Acad Sci USA* 1992; 89: 4.442-4.446.
16. LEE E, BOOKSTEIN R, SCULLY P, et al. Inactivation of the retinoblastoma gene in human breast cancers. *Science* 1988; 241: 218-221.
17. CHEN PL, SCULLY P, SHEW JY, WANG JYJ, LEE WH. Phosphorylation of the retinoblastoma gene product is modulated during the cell cycle and cellular differentiation. *Cell* 1989; 58: 1.193-1.198.
18. DECAPRIO JA, LUDLOW JW, LYNCH D, et al. The product of retinoblastoma susceptibility gene has properties of cell cycle regulatory element. *Cell* 1989; 58: 1.085-1.095.
19. HOLLESTEIN M, SIDRANKY D, VOGELSTEIN B, HARRIS CC. p53 mutations in human cancer. *Science* 1991; 253: 49-53.
20. CHANG F, SYRJANEN S, SYRJANEN K. Implications of the p53 tumor-suppressor gene in clinical oncology. *J Clin Oncol* 1995; 13: 1.009-1.022.
21. SHERR CJ. G₁ phase progression: Cycling on Cue. *Cell* 1994; 79: 551-555.
22. NURSE P. Ordering S phase and M phase in the cell cycle. *Cell* 1994; 79: 547-550.
23. HUNTER T, PINES J. Cyclins and cancer. II: Cyclin D and inhibitors come of age. *Cell* 1994; 79: 573-582.
24. BAND V, DECAPRIO JA, DELMOLINO L, KULESA V, SAGER R. Loss of p53 protein in human papillomavirus type 16 E6-immortalized human normal mammary epithelial cells. *J Virol* 1991; 65: 6.671-6.676.
25. KASTAN MB, CANMAN CE, LEONARD CJ. p53, cell cycle control and apoptosis: Implications for cancer. *Cancer Metast Rev* 1995; 14: 3-15.
26. LAIMINS LA. The biology of human papillomavirus: From warts to cancer. *Infect Agents Dis* 1993; 2: 74-86.
27. SCHNEIDER A. Natural history of genital papillomavirus infections. *Intervirology* 1994; 37: 201-214.
28. HALBERT CI, DEMERS GW, GALLOWAY DA. The E7 of human papillomavirus type 16 is sufficient for immortalization of human epithelial cells. *J Virol* 1991; 65: 473-478.
29. SCHEFFNER M, MUNGER K, HUIBREGTSE JM, et al. Targeted degradation of the retinoblastoma protein by human papillomavirus type 16 and 18 fusion protein. *EMBO J* 1992; 11: 2.425-2.431.
30. MORGENBESSER SD, WILLIAMS BO, JACKS T, DePINHO RA. p53-dependent apoptosis produced by Rb-deficiency in the developing mouse lens. *Nature* 1994; 371: 72-74.
31. CHEFFNER M, WERNES BA, HUIBREGTSE JM, et al. The E6 oncoprotein encoded by human papillomavirus types 16 and 18 promotes the degradation of p53. *Cell* 1990; 63: 1.129-1.136.
32. KESSIS TD, SLEBOS RJ, NELSON WG, et al. Human papillomavirus 16 E6 disrupts expression of the p53-mediated cellular response to DNA damage. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993; 90: 3.988-3.992.
33. KUERTITZ SJ, PLUNKETT BS, WALSH WV, KASTAN MB. Wild-type p53 is a cell cycle checkpoint determinant following irradiation. *Proc Natl Acad Sci USA* 1992; 89: 7.491-7.495.
34. MERRICK DT, BLANTON RA, GOWN AM, McDOUGALL JK. Altered expression of proliferation and differentiation markers in human papillomavirus 16 and 18 immortalized epithelial cells grown in organotypic culture. *Am J Pathol* 1992; 140: 167-177.

35. ROMANCZUK H, HOWLEY PM. Disruption of either the E1 or E2 regulatory gene of human papillomavirus type 16 increases viral immortalization capacity. *Proc Natl Acad Sci USA* 1992; 89: 3.159-3.163.

36. SANG BC, BARBOSA MS. Increased E6/E7 transcription in HPV 18-immortalized human keratinocytes results from inactivation of E2 and additional cellular events. *Virology* 1992; 189: 448-445.

37. BEDELL MA, JONES KH, LAIMINS LA. The E6 y E7 region of human papillomavirus type 18 is sufficient for transformation of NHI 3T3 and Rat-1 cells. *J Virol* 1987; 61: 3.635-3.640.

38. MUNGER K, PHELPS WC, BUBB V, et al. The E6 y E7 genes of the human papillomavirus type 16 together are necessary and sufficient for transformation of primary human keratinocytes. *J Virol* 1989; 63: 4.417-4.421.

39. HUNSON J, BEDELL M, McCANGE D, et al. The E6 and E7 open reading frames of HPV-18 are both required for high frequency transformation of primary human keratinocytes. *J Virol* 1990; 64: 519-526.