



**Ministério da Saúde
Instituto Nacional de Câncer
Coordenação de Ensino**

Programa de Residência Médica em Patologia

RENATA MIRANDA MOREIRA

**IMPACTO DA INFECÇÃO POR HPV SOBRE AS CÉLULAS
DENDRÍTICAS DE LANGERHANS EM COLO UTERINO**

**Rio de Janeiro
2022**

RENATA MIRANDA MOREIRA

**IMPACTO DA INFECÇÃO POR HPV SOBRE AS CÉLULAS
DENDRÍTICAS DE LANGERHANS EM COLO UTERINO**

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao Instituto Nacional de
Câncer como requisito parcial para a
conclusão do Programa de
Residência Médica em Patologia.

Orientadora: Dra. Wanúzia Keyla
Silva Miranda

Revisão: Dra. Shirley Burburan

Rio de Janeiro

2022

M838i Moreira, Renata Miranda.

Impacto da infecção por HPV sobre as células dendríticas de Langerhans em colo uterino. / Renata Miranda Moreira. – Rio de Janeiro, 2022.
171 f.: il. Color.

Trabalho de Conclusão de Curso (Residência Médica em Patologia) – Instituto Nacional de Câncer, 2022

Orientadores: Prof^ª. Dr^ª. Wanúzia Keyla Silva Miranda

1. Lesões Intraepiteliais Escamosas Cervicais. 2. Alphapapillomavirus. 3. Neoplasias Colo do Útero. 4. Sistema Imunitário. 5. Células de Langerhans. I. Miranda, Wanúzia Keyla Silva (Orient.). II. Instituto Nacional de Câncer. III. Título.

CDD 616.9944904

Catálogo na fonte
Núcleo de Sistema Integrado de Bibliotecas / INCA
Kátia Simões CRB7/5952

RENATA MIRANDA MOREIRA

**Impacto da infecção por HPV sobre as células
Dendríticas de Langerhans em colo uterino.**

Banca examinadora:

Dra. Wanúzia Keyla Silva Miranda – orientadora

Dra. Ana Lucia Amaral Eisenberg – avaliadora

Rio de Janeiro

2022

RESUMO

MOREIRA, Renata Miranda. **Impacto da infecção por HPV sobre as células Dendríticas de Langerhans em colo uterino.** Monografia. (Residência Médica em Patologia) — Instituto Nacional de Câncer (INCA), Rio de Janeiro, 2022.

Os cânceres de colo uterino HPV associados estão relacionados à falha da resposta imune celular hospedeira associada a alterações na cascata de eventos imunes iniciados através da apresentação antigênica por proteínas de superfície celular pertencentes ao sistema HLA e subsequente ativação das células dendríticas de Langerhans. Este trabalho pretende observar a intervenção do Papilomavírus humano (HPV) sobre as células de Langerhans, relacionando a gravidade das lesões pré - neoplásicas cervicais HPV induzidas com a redução quantitativa destas células componentes da imunidade inata. Foi realizado um levantamento bibliográfico acerca deste assunto através de bases de dados como Pubmed. A redução HPV induzida do número e da ativação das células dendríticas de Langerhans mostra-se como importante evento na modulação negativa que favorece a persistência viral e consequente progressão das lesões intraepiteliais cervicais ao câncer.

Palavras-chave: células de Langerhans; lesões intraepiteliais escamosas cervicais; neoplasias do colo do útero; papilomavírus humano; sistema imune.

ABSTRACT

MOREIRA, Renata Miranda. **Impact of HPV infection on dendritic cells of Langerhans in the uterine cervix.** Monography. (Medical Residency in Pathology) - National Cancer Institute (INCA), Rio de Janeiro, 2022.

HPV-associated cervical cancers are related to the failure of the host cellular immune response associated with alterations in the cascade of immune events initiated through antigenic presentation by cell surface proteins belonging to the HLA system and subsequent activation of Langerhans dendritic cells. This work intends to observe the intervention of the Human Papillomavirus (HPV) on the Langerhans cells, relating the severity of HPV-induced cervical pre-neoplastic lesions with the quantitative reduction of these cells that are components of innate immunity. A bibliographic survey was carried out on this subject through databases such as PubMed. The HPV-induced reduction in the number and activation of dendritic cells of Langerhans is shown to be an important event in the negative modulation that favors viral persistence and consequent progression of cervical intraepithelial lesions to cancer.

Keywords: human papillomavirus; immune system; Langerhans cells; squamous intraepithelial lesions of the cervix; uterine cervical neoplasms.

LISTA DE ABREVIATURAS

ATM	ataxia telangiectasia mutada
ATR	ataxia telangiectasia Rad3 relacionada
BRCA1	breast cancer type 1
CCR6 C-C	receptor de quimiocina tipo 6
CCR7 C-C	receptor de quimiocina tipo 7
CD1a	grupo de diferenciação 1a
CHEK1	Checkpoint kinase 1
Chk2	Checkpoint kinase 2
DNA	ácido desoxirribonucleico
H2AX	variante da família de proteínas de histona H2A
HLA	sistema de antígeno leucocitário humano
HLA I	sistema de antígeno leucocitário humano de classe I
HLA II	sistema de antígeno leucocitário humano de classe II
HLA-DR	sistema de antígeno leucocitário humano – isotipo DR
HPV	papilomavírus humano
HPVAR	papilomavírus humano de alto risco oncogênico
HSIL	lesão intraepitelial escamosa de alto grau
Kb	quilobase
LSIL	lesão intraepitelial escamosa de baixo grau
MRN	complexo MRE11/RAD50/NBS1
NBS1	Nijmegen breakage syndrome 1
PI3K	fosfoinositida-3-quinase
Rb	gene do retinoblastoma
Th1	T helper 1
Th2	T helper 2
TLRs	Toll-like receptors

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	1
2	REVISÃO DA LITERATURA.....	3
2.1	<i>HPV - VÍRUS DO PAPILOMA HUMANO</i>	3
2.2	<i>AS CÉLULAS DE LANGERHANS</i>	5
2.3	<i>HPV E RESPOSTA IMUNE CELULAR HOSPEDEIRA.....</i>	8
2.4	<i>HPV E CARCINOGENESE</i>	9
3	CONSIDERAÇÕES FINAIS	14
	REFERÊNCIAS.....	16

1 INTRODUÇÃO

A progressão das lesões intraepiteliais ao câncer do colo uterino demonstra falha nos mecanismos de resposta imune hospedeira, onde as células de Langerhans, consideradas apresentadoras de antígeno profissionais e sentinelas do sistema imune, exercem um papel crítico na susceptibilidade, proteção, manifestação de doenças infecciosas e evolução das neoplasias.

A infecção pelo papilomavírus humano (HPV) tem sido apontada como responsável por intervir no número e função das células de Langerhans, favorecendo uma infecção persistente. A ação interventora do HPV, no entanto, inicia-se em eventos anteriores envolvendo as moléculas pertencentes ao sistema Antígeno Leucocitário Humano (HLA) classe I, responsáveis pelo combate à antígenos intracelulares, apresentando-os às células engajadas na cascata de resposta imune ao serem expressas na superfície das células hospedeiras que servem de reservatório viral. O polimorfismo das moléculas de Antígeno Leucocitário Humano proporciona predisposição variável do hospedeiro à infecção por HPV e ao desenvolvimento do câncer. Esta maior ou menor predisposição traz a possibilidade de considerar essas moléculas como marcadores de proteção ou de predisposição à progressão das lesões HPV induzidas ao câncer e indica que a resposta imune ao HPV se relaciona à genética, ao apresentar condições favoráveis ao déficit da resposta imune celular, meio pelo qual as lesões intraepiteliais progridem. Com a inibida expressão das moléculas HLA I na superfície das células infectadas, a atração das células de Langerhans ao local da infecção é igualmente inibida, cooperando para que a presença do antígeno intracelular seja negligenciada. Este fato inibe adicionalmente a captação dos antígenos virais pelas células de Langerhans o que interfere na maturação dessas células, tornando-as incapazes para a sensibilização dos linfócitos T CD4 e promover a sequência de respostas que culminaria com a destruição do reservatório viral por linfócitos T CD8, ou citotóxicos.

Este trabalho visa relacionar o número de células de Langerhans presentes em lesões intraepiteliais de baixo e alto graus da cérvix uterina justificando, em parte, a diferença de comportamento entre ambas: a primeira

mostrando maior tendência à regressão e a segunda com maior propensão à persistência e progressão ao câncer.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 HPV - VÍRUS DO PAPILOMA HUMANO

Os papilomavírus humanos (HPVs), membros da família *Papillomaviridae*, são pequenos vírus não envelopados constituídos por fita dupla de DNA e parasitas intracelulares obrigatórios. Infectam células indiferenciadas localizadas nas camadas basais de epitélios estratificados escamosos e cutâneos, onde inserem seus genomas de 8 kb como elementos extracromossômicos ou episomas (SPRIGGS *et al.*, 2018).

Atualmente, existem mais de 170 tipos virais, genotipicamente diferentes em, no mínimo, 10% da sequência genética entre eles. São classificados segundo o potencial de transformação celular em tipos de baixo risco e alto risco oncogênico. Dentre os tipos virais, quarenta deles apresentam tropismo pelo epitélio do trato anogenital. Dentre os tipos oncogênicos com tropismo pelo trato anogenital, o HPV16 destaca-se como o mais prevalente, o mais oncogênico dentre os oncogênicos e o mais persistente em todo o mundo (AGUILAR-LEMARROY *et al.*, 2015; VANDEN BROECK, 2012). O genoma viral consiste em 8 quadros de leitura aberta, 6 genes iniciais (E1, E2, E4, E5, E6 e E7) codificando proteínas de expressão precoce e 2 genes tardios (L1 e L2) codificando proteínas de expressão tardia. A proteína E1 auxilia na replicação viral utilizando o maquinário de replicação da célula hospedeira. E2 apresenta função regulatória para a transcrição dos genes E6 e E7. As proteínas E5, E6 e E7 estão associadas à evasão imune viral às respostas de defesa do hospedeiro para eliminá-lo (SONG *et al.*, 2015). A proteína E4 associa-se à alteração da matriz intracelular através de interação com ceratinas do citoesqueleto da célula hospedeira, facilitando a montagem e maturação do vírus. E4 é expressa nas camadas diferenciadas do epitélio, em estágios tardios da infecção. O produto de E5 atua na regulação negativa da expressão de HLA na superfície das células infectadas, inibindo a exposição de antígenos virais para o sistema de vigilância imune hospedeira (VANDEN BROECK, 2012). Os oncogenes virais E6 e E7 são considerados genes tumorigênicos, pois seus produtos se ligam às proteínas supressoras tumorais p53 e pRb, cuja ação paralisa o ciclo celular em busca de corrigir alterações ocorridas no código genético do hospedeiro, podendo induzir

à apoptose celular caso esta correção não seja possível e mantém o controle sobre a divisão celular, respectivamente. Juntos, os genes E5, E6 e E7 agem promovendo modulações negativas sobre a regulação do crescimento celular, induzindo à instabilidade genômica. As proteínas de expressão tardia L1 e L2 são responsáveis por formar os componentes estruturais do capsídeo viral (SONG *et al.*, 2015; VANDEN BROECK, 2012).

O ciclo de vida dos HPVs genitais está intimamente relacionado à diferenciação epitelial. Os vírions do HPV infectam as células da camada basal do epitélio, alcançadas através de microerosões. Alcançada a camada basal do epitélio, os capsídeos virais ligam-se através de proteínas de superfície aos receptores presentes na membrana citoplasmática das células basais, viabilizando a introdução do material genético viral na célula hospedeira. A infecção pode cursar sem expressão clínica ou subclínica, sendo esta fase denominada de eclipse viral ou latência viral. O status de latência é também um mecanismo de evasão viral da resposta imune do hospedeiro. A infecção produtiva viral expressa-se em associação à divisão e maturação dos queratinócitos. Os genomas do HPV são replicados no núcleo alcançando cerca de 100 cópias epissômicas por célula. A manutenção do genoma viral na forma epissomal em células basais é a função básica da fase inicial, ou de manutenção, do ciclo de vida viral. As proteínas E1 e E2 cooperam para iniciar a replicação do DNA viral, enquanto E6 e E7 modulam a regulação do ciclo celular da célula hospedeira para manter a competência da replicação por longo prazo. As proteínas virais são expressas em níveis muito baixos em células indiferenciadas como as basais, e isso contribui para a negligência da ação imune hospedeira contra a presença do vírus e consequente persistência viral (BODILY; LAIMINS, 2011).

HPVs de alto risco (HPVAR) têm sido associados ao desenvolvimento de cânceres orofaríngeos e anogenitais, incluindo câncer do colo do útero, para o qual é o agente etiológico em 99,9% dos casos (SPRIGGS *et al.*, 2018), justificando ser a identificação deste grupo o alvo principal dos testes de biologia molecular (AGUILAR-LEMARROY *et al.*, 2015).

A infecção genital por HPV é muito comum na população feminina, com maior incidência na iniciação sexual. No entanto, apenas em uma pequena fração dessas mulheres a infecção cursa com persistência viral, apresentando

um maior risco de desenvolver lesões intraepiteliais cervicais e câncer invasor. Evidências crescentes declaram ser a infecção por HPV necessária mas não suficiente para induzir a carcinogênese. A este respeito, a resposta imune do hospedeiro e seu histórico genético estão entre as contribuições mais significativas na história natural da doença, sobrepondo-se a ocorrência de uma infecção por HPV de alto risco (BAHLS *et al.*, 2017).

2.2 AS CÉLULAS DE LANGERHANS

Oriundas da medula óssea, as células dendríticas são importantes componentes do sistema imune e carregam este nome devido ao fato de, em certos estágios do seu ciclo de vida, apresentarem projeções citoplasmáticas longas e pontiagudas chamadas dendritos (HAYATI; ZULKARNAEN, 2007). As células de Langerhans são encontradas em todo o sistema linfático e em tecidos não linfóides, como pele e o epitélio dos tratos intestinal, respiratório e genital (WOOD *et al.*, 1985). No colo uterino, estão normalmente presentes nas camadas intermediária e basal do epitélio e também no estroma, na porção imediatamente abaixo do epitélio de revestimento da superfície. Mediante a presença do HPV, sofrem modificações morfológicas significativas quando passam a apresentar dendritos mais curtos e menos numerosos, observados não apenas nas células dendríticas intraepiteliais quanto nas presentes no estroma (UCHIMURA, 2002).

A presença de células dendríticas profissionais ou células de Langerhans no epitélio de revestimento da ectocérvice, principalmente na área da junção escamo-colunar, possui importância fundamental na composição da barreira de proteção inata contra agentes patógenos e também para a produção de resposta imune (HAYATI; ZULKARNAEN, 2007).

O papel das células dendríticas de Langerhans repercute sobre as respostas imunes celular e também humoral. A depleção de células de Langerhans leva a uma supressão imune pela redução da apresentação de antígenos, prejudicando a resposta imune mediada por células (MUNTINGA *et al.*, 2022). Existem duas entidades de células dendríticas que diferem fenotipicamente e funcionalmente, a saber, células dendríticas maduras e imaturas. O subgrupo imaturo apresenta – se como excelente na captação de

antígenos, mas deficiente como apresentador de antígeno. O inverso é atributo verdadeiro para o subgrupo maduro (HAYATI; ZULKARNAEN, 2007). Após infecção viral, células de Langerhans imaturas são recrutadas para a epiderme via receptor de quimiocina 6 (CCR6), os quais têm seus ligantes superexpressos na superfície de queratinócitos mediante a ocorrência da infecção. Na apresentação de antígenos capturados, as células de Langerhans devem migrar até os linfonodos via expressando a proteína CCR7, somente expressa em células de Langerhans maduras, a qual funciona como receptor para a quimiocina derivada dos linfócitos T. As células de Langerhans internalizam antígenos para serem processados em grânulos intracelulares específicos, denominados grânulos de Birbeck, e os recicla para a superfície celular, apresentando-os restritamente para linfócitos T CD4 com receptores para moléculas CD1a (DAI *et al.*, 2022).

As células dendríticas são elos entre as respostas imunes inata e adaptativa e requerem uma etapa de maturação que compreende a captação e processamento do antígeno para que promovam a apresentação destes antígenos para os linfócitos T CD4 com o intuito de iniciar a atividade de resposta imune Th1, representada pelas células T, efetivas em respostas imunes antivirais, seja através da produção de citocinas ou eliminando ativamente células infectadas. Estas células precisam ser corretamente ativadas e maturadas para apresentação de antígenos aos linfócitos T e B, conduzindo a ativação das formas naive dos linfócitos T CD4 e CD8, além da secreção de citocinas pró-inflamatórias (MUNTINGA *et al.*, 2022). São, portanto, apontadas dentre os principais agentes da resposta imune celular inata contra o HPV. Expressam *Toll-like receptors* (TLRs), receptores que reconhecem componentes virais e induzem a transcrição de uma infinidade de citocinas (PAASO *et al.*, 2019). Como células apresentadoras de antígeno profissionais, as células de Langerhans têm a capacidade aprimorada de detectar lesões teciduais, capturar antígenos, processar e apresentá-los aos linfócitos T. Por meio desse processo, as células de Langerhans induzem a imunidade a reagir a quaisquer antígenos estranhos que violem os tecidos. Os antígenos são carregados via células dendríticas para a zona de células T dos linfonodos (MERAD *et al.*, 2013). A ativação da resposta das células T mostra-se variável, na dependência do polimorfismo dos alelos HLA I (PAASO *et al.*, 2019). A diversidade da proteína

de superfície HLA I determina a diversidade do reconhecimento imune e também a diversidade do comportamento das lesões pré-neoplásicas, sendo estas moléculas atualmente apontadas como um fator de suscetibilidade ou proteção à progressão ao câncer (BAHLS *et al.*, 2017). O envolvimento do receptor de superfície das células dendríticas com o complexo de peptídeo HPV-HLA na superfície da célula infectada promove um sinal coestimulatório ativo essencial, sem o qual a ativação da resposta da célula T não acontece. A apresentação funcional de peptídeos virais por ambas as moléculas HLA de classe I (presentes em todas as células nucleadas) e II (presentes nas células apresentadoras de antígeno) é necessária para ativar respostas de células T auxiliares e efectoras no reconhecimento e eliminação da infecção por HPV (PAASO *et al.*, 2019).

As células de Langerhans exibem um perfil único no ambiente cervicovaginal quando comparadas as existentes na pele e no sangue, o que deve ser atribuído ao impacto dos *Lactobacillus* e *Candida spp* sobre a função imune das células de Langerhans (DAI *et al.*, 2022). A microbiota vaginal mostra-se exercendo papel influente na resposta imune. A interação entre microrganismos - microrganismos e microrganismos - hospedeiro expõe a complexidade do microambiente cervicovaginal, onde as bacteriocinas derivadas dos *Lactobacillus* exercem efeito inibitório contra infestações bacterianas, fúngicas e agentes infecciosos (DAI *et al.*, 2022). Co-cultura de células de Langerhans induzidas por monócitos e *Lactobacillus* vaginais indicou que peptidoglicanos na parede celular da cepa específica de *Lactobacillus crispatus* aumentaram os níveis da proteína de superfície langerina nas células de Langerhans, as quais possuem papel importante na captura de antígenos (DAI *et al.*, 2022).

Um ecossistema com reduzida quantidade de *Lactobacillus* e grande diversidade de espécies bacterianas está frequentemente associado à disbiose vaginal. A depleção de *Lactobacillus* e aumento de bactérias anaeróbicas tem estado associado a lesão intraepitelial escamosa de alto grau (HSIL) e câncer cervical. *Lactobacillus* apresentam importante papel na defesa contra patógenos através das suas habilidades de produzir ácido lático, mantendo um pH local baixo, o que é prejudicial para alguns agentes patógenos. A microbiota cervicovaginal pode modular a resposta imune e o balanço entre tolerância e proteção contra infecções genitais (MUNTINGA *et al.*, 2022).

2.3 HPV E RESPOSTA IMUNE CELULAR HOSPEDEIRA

Fatores vinculados ao HPV e à resposta imune hospedeira são as chaves para a regressão espontânea de lesões, uma vez que a maioria das mulheres infectadas estão aptas ao clearance viral espontâneo bem como ao desenvolvimento de resposta imune HPV- específica (MUNTINGA *et al.*, 2022).

Oncoproteínas virais são capazes de inibir a migração de células apresentadoras de antígeno para o sítio da infecção, além de reprimir as atividades das células de Langerhans, facilitando a permanência do vírus. Adicionalmente, interferem sobre a adesão das células de Langerhans aos queratinócitos infectados através da ação do oncogene E7 sobre a proteína de adesão E-caderina, reduzindo-a (DAI *et al.*, 2022). A inibição do processo de maturação das células de Langerhans por inexpressão antigênica viral na superfície da célula infectada pelo HPV favorecerá também a progressão das lesões HPV induzidas na carcinogênese como resultado da falha da vigilância imune (HAYATI; ZULKARNAEN, 2007). A indução à tolerância do sistema imune hospedeiro e consequente infecção persistente do HPV é um dos meios mais importantes para a evolução das lesões cervicais. As lesões intraepiteliais escamosas de alto grau (HSILs) apresentam quantidade de células de Langerhans CD1a positivas e HLA-DR positivas menor que nas lesões intraepiteliais escamosas de baixo grau (LSILs), associando o clearance da infecção por HPV ao aumento no tecido infectado da infiltração por células de Langerhans (MUNTINGA *et al.*, 2022). O número de células de Langerhans imaturas está aumentado nas HSILs, comparado ao epitélio normal. Este fato favorece uma anergia nos linfócitos T com células imunes tolerantes às células transformadas pela infecção, além da produção de enzimas imunossupressoras. O número de linfócitos T CD4 e CD8 está reduzido nas HSILs em relação ao tecido cervical normal, indicando evasão da resposta imune adaptativa e infecção viral persistente, respondendo pela progressão da carcinogênese (MUNTINGA *et al.*, 2022). A infecção pelo HPV é capaz de, indiretamente, alterar a sensibilização e diferenciação dessas células imunes de uma forma única, resultando em resposta imune hospedeira negligente. A infecção por HPV cursa com inadequada apresentação de antígenos e subsequente inibição de uma

produção efetiva de citocinas pró-inflamatórias (MUNTINGA *et al.*, 2022). Dentre as modulações do sistema imune induzidas pela infecção pelo HPV estão incluídas a polarização da resposta imune celular do tipo Th1 (resposta imune contra patógenos intracelulares, representada por linfócitos T) para o tipo Th2 (resposta imune contra parasitas, representada por eosinófilos) bem como a diferenciação de macrófagos associados a tumores, também denominados macrófagos M2, os quais favorecem a proliferação e migração de células cancerígenas, angiogênese e restrição de defesas imunes contra o tumor. O comprometimento da resposta imune celular é demonstrado através de um desequilíbrio entre as células componentes da via Th1 e componentes da via Th2, estando a resposta Th1 reduzida com incremento da resposta Th2 e subsequente supressão da resposta imune celular, destinada para patógenos intracelulares obrigatórios como os vírus. A inibição promovida pelo HPV sobre a expressão das proteínas de superfície HLA I, leva a uma regulação negativa da ativação e maturação de células de Langerhans, inibindo a diferenciação destas células apresentadoras de antígeno em células dendríticas completamente funcionais (SONG *et al.*, 2015). O status de imunossupressão instala-se em várias vias de resposta da imunidade inata, inclusive sobre o microbioma vaginal onde observa-se alteração na composição e estrutura da microbiota vaginal, sendo comum a associação da infecção por HPV com a vaginose bacteriana (SHANNON *et al.*, 2017).

2.4 HPV E CARCINOGENESE

O câncer envolve um processo de várias etapas e é caracterizado pelo acúmulo de eventos genéticos dentro da célula tumoral. Estes eventos genéticos estão relacionados à ativação de genes normalmente não expressos ou mutações em genes já expressos em células somáticas. Tumores induzidos por vírus são marcados pela expressão de genes virais. As alterações genotípicas e fenotípicas resultantes fornecem ao tumor características de crescimento e desenvolvimento variáveis. A capacidade dos linfócitos T de reconhecer epítopos peptídicos derivados de proteínas citoplasmáticas, nucleares e / ou derivados de partículas de HPVVAR apresentados pelas células de Langerhans, permite ao sistema imunológico reconhecer e responder às mudanças ocorridas

na célula transformada. Isso coloca as células dendríticas no centro da resposta imune a tumores. A perda da expressão das proteínas HLA I na superfície das células tumorais constitui um mecanismo viral para evadir-se da resposta imune hospedeira (KOOPMAN *et al.*, 2000).

Aponta-se para as proteínas E5 e E7 dos HPVs tipos 16 e 18 serem as responsáveis pela regulação negativa da expressão das proteínas de superfície HLA I bem como pela inibição à captação, processamento e apresentação antigênica pelas células de Langerhans, cascata de eventos que se constitui em estratégia viral para proteger-se da ação imune hospedeira, favorecendo o avanço no processo de transformação celular da carcinogênese (GEORGOPOULOS; PROFFITT; BLAIR, 2000). Esta modulação negativa do vírus sobre a sequência de eventos que compõem a resposta imune celular leva à conseqüente redução do número de células de Langerhans nos sítios das lesões teciduais HPV induzidas (SHANNON *et al.*, 2017).

Em lesões intraepiteliais cervicais de alto grau e em outros tumores HPV associados do trato anogenital, o DNA viral está frequentemente integrado no genoma da célula hospedeira. Esta integração viral é um evento acidental que cursa com ruptura da região onde os genes virais E1 e E2 estão localizados e perda da expressão de ambos, ou seja, perda do controle da transcrição de outros genes da cadeia genômica viral. Este evento mostra-se como um passo crítico na carcinogênese associada ao HPV, uma vez que a perda de E2 leva à expressão aumentada das principais oncoproteínas virais, nomeadamente E6 e E7. A expressão sustentada de E6 e E7 garante a existência de um meio celular favorável à replicação do HPV e transformação celular (PRATI; MARANGONI; BOCCARDO, 2018).

As oncoproteínas virais de expressão precoce E6 e E7 exercem papel crucial no processo da transformação maligna celular, intervindo em vias regulatórias do ciclo celular. Ainda que numa infecção por HPV de alto risco, esta pode progredir como uma infecção produtiva (produzindo vírions, tendendo a um comportamento onde a regressão espontânea das lesões derivadas mostra-se frequente); como uma infecção abortiva ou uma infecção transformadora (quando o material genético viral é integrado ao material genético da célula hospedeira, sequestrando antioncogenes presentes). O câncer inicia seu desenvolvimento com o acúmulo de alterações genéticas, incluindo

anormalidades cromossômicas, mutações pontuais e alterações nos padrões de metilação genética da célula hospedeira (GUTIÉRREZ-HOYA; SOTO-CRUZ, 2021).

Diferente do que ocorre no ritmo celular fisiológico e controlado de avanço das etapas do ciclo celular, a intervenção viral sobre a maquinaria celular leva ao incremento repetidas vezes da replicação do DNA e modificação das etapas do ciclo celular. Este processo gera danos ao material genético da célula hospedeira, levando a quebras da fita dupla de DNA com consequente recrutamento da maquinaria de reparo, objetivando ligar as extremidades rôtas de DNA e viabilizar um rearranjo cromossômico. As aberrações cromossômicas se iniciam mediante a integração do DNA viral na cadeia genômica do hospedeiro. Numa mesma célula podemos encontrar a coexistência de genomas integrados e epissômicos de HPV (PRATI; MARANGONI; BOCCARDO, 2018).

A resposta ao dano sobre o DNA desempenha um papel crucial na manutenção da estabilidade genômica e coordenação do ciclo celular. As responsáveis por iniciar o reparo às fitas de DNA são duas quinases principais: a ataxia telangiectasia mutada (ATM) e Rad3 relacionada (ATR), ambas pertencentes à família de enzimas relacionada à fosfoinositida-3-quinase (PI3K). ATM coordena vias de sinalização intracelular em resposta à quebra da fita do DNA de dupla hélice por estresse oxidativo e outros tipos de estresse genotóxico como é a integração do genoma viral ao DNA hospedeiro. A proteína ATR atua em conjunto com a ATM na manutenção da integridade genômica. É ativada em resposta ao estresse de replicação e à presença de DNA de fita simples em forquilhas de replicação paradas. ATM e ATR fosforilam múltiplos substratos em resposta aos danos no DNA, incluindo proteínas envolvidas em pontos de checagem do ciclo celular, reparo do DNA e apoptose. A quebra do DNA recruta um complexo de proteínas denominado MRN, cuja finalidade é estabilizar a fita simples de DNA derivada da ruptura para posterior união das mesmas dentro do processo de reparação das injúrias ao genoma. Este complexo proteico serve de sensor para ruptura do DNA e recruta ATM para esses sítios. A ativação da ATM leva à fosforilação de muitos substratos nos locais de dano ao DNA, incluindo a histona, proteína que atua na condensação dos cromossomos (GILLESPIE *et al*, 2012).

As diferentes vias de sinalização envolvidas na resposta ao dano do DNA podem ser moduladas pelo HPV objetivando garantir a transcrição viral eficaz, replicação fiel do genoma e a produção de um grande número de vírions infecciosos. As quinases ATM e ATR são ativadas em queratinócitos infectados por HPV. A ação da ATR juntamente à CHEK1 – proteína que atua no ponto de checagem ao dano do DNA - está associada à regulação negativa celular sobre a replicação produtiva do HPV, interferindo inclusive sobre a redução da expressão de genes tardios. É importante ressaltar a evidência de que proteínas das vias ATM e ATR se colocam em locais de replicação do HPV, apoiando ainda mais a intervenção dessas proteínas no ciclo de vida do vírus. Mesmo diante da oponente ação das quinases ATM e ATR sobre a replicação do HPV, as proteínas precoces deste vírus, E1 e E2, recrutam fatores envolvidos no reparo do DNA da célula hospedeira na busca de favorecer a replicação e amplificação do genoma viral (PRATI; MARANGONI; BOCCARDO, 2018).

Em células HPV-positivas, membros da via do ATM, incluindo H2AX, Chk2, BRCA1 e NBS1, são recrutados em focos distintos de dano ao DNA, semelhantes aos observados após danos ao DNA por radiação ionizante (GILLESPIE *et al*, 2012). As próprias oncoproteínas virais E6 e E7 são capazes de ativar as vias de sinalização tanto do ATM quanto do ATR. Os HPVs de alto risco aumentam a expressão destas e várias outras proteínas de resposta a danos no DNA durante a infecção, sugerindo que algumas dessas proteínas serviriam como biomarcadores promissores para o diagnóstico e progressão das lesões intraepiteliais cervicais (SPRIGGS *et al.*, 2018).

Alguns dos tipos oncogênicos de HPV foram estudados quanto as suas intervenções específicas sobre o mecanismo de dano e reparo ao DNA do hospedeiro. O aumento da ATM pode ser induzido pela ação da oncoproteína E7 do HPV 18 e na infecção pelo HPV 16, através de sua proteína E7, observa-se a indução da degradação de proteínas envolvidas no checkpoint do dano ao genoma hospedeiro, levando a atenuação deste processo (PRATI; MARANGONI; BOCCARDO, 2018).

As consequências das ações das oncoproteínas do HPV se refletem na homeostase do genoma celular, provocando a inibição do checkpoint pós-mitótico, o qual está associado à indução de poliploidia em queratinócitos, e a indução de centrossomos supranumerários e fusos mitóticos multipolares, todos

se constituem em expressão de danos ao genoma que podem culminar com aneuploidia – aumento ou redução do número de cromossomos (PRATI; MARANGONI; BOCCARDO, 2018).

Neste contexto, a maquinaria de reparo do DNA celular pode constituir um alvo adequado para intervenção sobre a ação do HPV. Inibidores de moléculas envolvidas em vias celulares que são alvos da ação transformadora dos HPV têm sido aplicadas para o tratamento do câncer do colo do útero em ensaios clínicos (PRATI; MARANGONI; BOCCARDO, 2018).

3 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Consideradas sentinelas do sistema imune, as células de Langerhans ou células dendríticas apresentadoras de antígenos profissionais constituem-se em elo entre as respostas imunes inata e adaptativa. De modo específico em infecções por patógenos intracelulares obrigatórios tal como o papilomavírus humano (HPV), exercem importante papel na resposta imune celular por capturarem antígenos virais expressos na superfície da célula infectada pelas moléculas de antígeno leucocitário humano HLA I e apresentá-los aos linfócitos T CD4, os quais, sensibilizados, irão estimular os linfócitos T citotóxicos ao ataque contra as células alvo da infecção.

Várias desordens ocorrem na maquinaria da célula a partir da infecção pelo HPV e inserção do genoma viral ao DNA do hospedeiro, gerando vários estresses que culminam com pontos de ruptura, superexpressão de genes oncogênicos virais e supressão de antioncogenes do hospedeiro. Os eventos para reparo e reestruturação do DNA do hospedeiro sofrem a intervenção do HPV, culminando com a amplificação do genoma viral e múltiplos danos ao DNA.

Contudo, dentre as intervenções mais significativas do papilomavírus humano estão as aplicadas ao escape viral da resposta imune do hospedeiro objetivando prorrogar a sua progênie. Dentre os mecanismos utilizados com esse objetivo, um dos mais importantes é o de suprimir a expressão das moléculas HLA I na superfície das células por ele infectadas, alterando toda a sequência de eventos voltados ao reconhecimento e combate à presença do vírus, incluindo a redução da quimiotaxia para atração das células de Langerhans ao sítio da infecção e também reduzir a aderência dessas células às células infectadas pelo vírus, inibindo a expressão da molécula de adesão E-caderina e modulando negativamente a ação da resposta imune celular do hospedeiro, levando os linfócitos T CD4 a um status de anergia à presença do papilomavírus humano.

Esta intervenção indireta do HPV sobre as células apresentadoras de antígeno traz a possibilidade de justificar os diferentes comportamentos da infecção viral entre portadores, abrangendo aspectos que viabilizam a persistência da infecção, progressão ou regressão de lesões HPV induzidas bem

como o impacto sobre o número de células de Langerhans que se mostram reduzidos nos cortes teciduais acometidos por HSIL quando comparados aos que apresentam LSIL. Além da redução quantitativa, observamos redução qualitativa onde as células de Langerhans imaturas, inaptas à apresentação antigênica, predominam sobre as maduras, status que as tornam capazes da apresentação dos antígenos virais aos linfócitos T.

REFERÊNCIAS

- AGUILAR-LEMARROY, A. *et al.* Human papillomavirus infections in Mexican women with normal cytology, precancerous lesions, and cervical cancer: Type-specific prevalence and HPV coinfections. **Journal of Medical Virology**, v. 87, n.5, p. 871-84, 2015. doi:10.1002/jmv.24099
- BAHLS, L. *et al.* Human Leukocyte Antigen Class I and Class II Polymorphisms and Serum Cytokine Profiles in Cervical Cancer. **Int J Mol Sci**, v. 18, n. 9, p.1478, 2017.
- BODILY, J.; LAIMINS, L.A. Persistence of human papillomavirus infection: keys to malignant progression. **Trends Microbiol.** v. 19, n. 1, p. 33-9, 2011.
- DAI, W. *et al.* The association of cervicovaginal Langerhans cells with clearance of human papillomavirus. **Front. Immunol**, doi: 10.3389/fimmu.2022.918190.
- GEORGOPOULOS, N.T.; PROFFITT, J.L.; BLAIR, G.E. Transcriptional regulation of the major histocompatibility complex (MHC) class I heavy chain, TAP1 and LMP2 genes by the human papillomavirus (HPV) type 6b, 16 and 18 E7 oncoproteins. **Oncogene**, v. 19, n. 42, p. 4930-5, 2000. doi: 10.1038/sj.onc.1203860. PMID: 11039910.
- GILLESPIE, K.A. *et al.* Human Papillomaviruses Recruit Cellular DNA Repair and Homologous Recombination Factors to Viral Replication Centers. **Journal of Virology**, v. 86, n. 17, p. 9520–26, 2012. doi:10.1128/jvi.00247-12
- GUTIÉRREZ-HOYA, A.; SOTO-CRUZ, I. NK Cell Regulation in Cervical Cancer and Strategies for Immunotherapy. **Cells**. v.10, n.11, p. 3104, 2021. doi: 10.3390/cells10113104. PMID: 34831327; PMCID: PMC8619016.
- HAYATI, A.R.; ZULKARNAEN, M. An Immunohistochemical Study of CD1a and CD83-Positive Infiltrating Dendritic Cell Density in Cervical Neoplasia. **International Journal of Gynecological Pathology**, v. 26, n. 1, p. 83-88, 2007. doi:10.1097/01.pgp.0000225850.90115.bc
- KOOPMAN, L.A. *et al.* Multiple genetic alterations cause frequent and heterogeneous human histocompatibility leukocyte antigen class I loss in cervical cancer. **J Exp Med**, v.191, n. 6, p. 961-76, 2000. doi: 10.1084/jem.191.6.961. PMID: 10727458; PMCID: PMC2193119.
- MERAD, M. *et al.* The Dendritic cell lineage: ontogeny and function of dendritic cells and their subsets in the steady state and the inflamed setting. **Annu Rev Immunol**, v.31, n. 1, p. 563-604, 2013.

MUNTINGA, C.L.P. *et al.* Importance of the Immune Microenvironment in the Spontaneous Regression of Cervical Squamous Intraepithelial Lesions (cSIL) and Implications for Immunotherapy. **J. Clin. Med**, v.11, n.5, p. 1432, 2022. <https://doi.org/10.3390/jcm11051432>

PAASO, A. *et al.* **From HPV Infection to Lesion Progression: The Role of HLA Alleles and Host Immunity.** *Acta Cytol.* 2019;63(2):148-158. doi: 10.1159/000494985. Epub 2019 Feb 15. PMID: 30783048.

PRATI, B.; MARANGONI, B.; BOCCARDO, E. **Human papillomavirus and genome instability: from productive infection to cancer.** *Clinics.* 2018;73(suppl 1):e539s. doi: 10.6061/clinics/2018/e539s.

SHANNON, B. *et al.* Association of HPV infection and clearance with cervicovaginal immunology and the vaginal microbiota. **Mucosal Immunol**, v. 10, n. 5, p. 1310-19, 2017. doi: 10.1038/mi.2016.129. Epub 2017 Jan 25. PMID: 28120845; PMCID: PMC5526752.

SONG, D. *et al.* Effect of human papillomavirus infection on the immune system and its role in the course of cervical cancer. **Oncology letters**, v. 10, n. 2, p. 600-6, 2015.

SPRIGGS, C.C. *et al.* Expression of HPV-induced DNA Damage Repair Factors Correlates with CIN Progression. **International Journal of Gynecological Pathology**, v. 38, n. 1, p. 1–10, 2019. doi:10.1097/PGP.0000000000000477

UCHIMURA, N. S. **Alterações das células de Langerhans e sua relação com lesão histopatológica do colo uterino por papilomavírus humano em pacientes com captura híbrida positiva.** 2002. 99 p. Tese (Doutorado) – Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP), São Paulo, 2002. ID: lil-328066

VANDEN BROECK, D. (ed.). **Human Papillomavirus and Related Diseases - From Bench to Bedside - A Clinical Perspective**, 2012, 348 p. doi:10.5772/27154

WOOD, G.S. *et al.* Human dendritic cells and macrophages. In situ immunophenotypic definition of subsets that exhibit specific morphologic and microenvironmental characteristics. **The American Journal of Pathology**, v. 119, n. 1, p. 73-82, 1985.