

**FUNDAÇÃO LUSÍADA
CENTRO UNIVERSITÁRIO LUSÍADA
CURSO DE BIOMEDICINA**

HELENA SANTOS SILVA

**TÉCNICAS DE BIOLOGIA MOLECULAR PARA DIAGNÓSTICO PRECOCE
DE HPV**

SANTOS (SP)

2023

HELENA SANTOS SILVA

**TÉCNICAS DE BIOLOGIA MOLECULAR PARA DIAGNÓSTICO PRECOCE
DE HPV**

Trabalho de Conclusão de Curso desenvolvido no Curso de Biomedicina, como parte dos requisitos para obtenção do título de Bacharel em Biomedicina, sob a orientação da Professora Doutora Cleide Barbieri de Souza, no Centro Universitário Lusíada.

SANTOS (SP)

2023

HELENA SANTOS SILVA

**TÉCNICAS DE BIOLOGIA MOLECULAR PARA DIAGNÓSTICO PRECOCE
DE HPV**

Trabalho de Conclusão de Curso desenvolvido no Curso de Biomedicina, como parte dos requisitos para obtenção do título de Bacharel em Biomedicina, sob a orientação da Professora Doutora Cleide Barbieri de Souza, no Centro Universitário Lusíada.

DATA: ___ / ___ / _____

**PROF/A. DRA. CLEIDE BARBIERI DE SOUZA
ORIENTADOR/A DO TCC**

SANTOS (SP)

2023

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar gostaria de agradecer ao meu pai e minha mãe pela criação que me deram, pelo incentivo, motivação e pela rede de apoio familiar, que foi de extrema importância para que eu pudesse concluir cada ano dessa graduação. Gostaria de mencionar Pamela e Tereza como os dois seres que me deram inspiração para que eu pudesse seguir e concluir cada etapa dessa graduação, pois foi pensando em um futuro melhor para elas que me dediquei todos esses anos, foi pensando em dar orgulho e exemplo de superação que conclui cada etapa.

Agradeço ao companheiro de vida, Gabriel Padilha. E resalto que sua presença constante e seu apoio inabalável foram o farol que iluminou o caminho durante a jornada da elaboração deste TCC. Seu incentivo, paciência e compreensão foram fundamentais para me manter focada e motivada nos momentos mais desafiadores. Sua crença em mim e seu apoio incondicional me deram a força necessária para superar obstáculos e alcançar este marco acadêmico. Este trabalho não seria o que é sem você ao meu lado, e é dedicado a você, Gabriel, com todo o meu amor e gratidão. Obrigado por ser a minha âncora e meu maior incentivador.

Dedico esse trabalho e toda a minha graduação também à pessoa mais importante que conheci dentro desta instituição, sem ela eu não teria equilíbrio emocional, ela me proporcionou momentos incríveis, foi a pessoa que me inspirou a ser melhor, que me fez sentir o real significado de sororidade. Natasha Marques dos Santos, desejo poder levá-la para o restante da minha caminhada sobre esse planeta.

Gostaria de agradecer aos demais amigos de “setor” Nayla Marques e Ygor Adriano, que compuseram esse grupo de atividades e me deram a oportunidade de aprimorar minhas relações interpessoais, me proporcionando entender melhor as pessoas ao meu redor, a convivência e interação com cada um deles. Quero agradecer membros do corpo docente que me ajudaram em momentos difíceis, me lembraram de que sou capaz de conquistar o que eu desejo e que me deram tão importantes lições de vida. Ressaltando a minha gratidão especial por todas as vezes que tive apoio de Fabiana Gonzales Mendes, Thais Ludmilla Moretto, Marizia do Amaral Toma, Edgar Mathias Bach Hi, e Amanda do Nascimento e Silva que muitas vezes foram mais do que lecionadores, foram amigos, sempre me acolhendo em momentos de fragilidade enxugando minhas lágrimas.

Agradeço à minha orientadora, Dra. Cleide Barbieri de Souza, sua orientação, paciência e conhecimento foram essenciais para a realização deste trabalho. Suas valiosas sugestões e conselhos ajudaram a moldar este trabalho e aprimorar minhas habilidades acadêmicas. Além disso, sua dedicação incansável em me orientar ao longo deste processo é inestimável. Agradeço profundamente por ser uma orientadora excepcional e por ter me apoiado durante toda essa jornada acadêmica. Este TCC é dedicado a você, Dra. Cleide Barbieri de Souza, com todo o meu respeito e gratidão.

RESUMO

O HPV é um vírus sexualmente transmissível comum, associado a lesões genitais e câncer de colo de útero. O Brasil enfrenta uma alta taxa de incidência de câncer cervical, enquanto a OMS aponta uma prevalência significativa do mesmo. O diagnóstico tardio do HPV é um problema na saúde pública, destacando a necessidade de técnicas de biologia molecular para detecção precoce. Assim, este estudo teve como propósito analisar as técnicas de biologia molecular empregadas na detecção da infecção por HPV, avaliando seus benefícios e examinando sua capacidade para identificar a infecção de forma precoce. Em vista disso, constatou-se que a colposcopia oferece uma avaliação visual das alterações cervicais, enquanto, dentre as técnicas da biologia molecular descritas, o sequenciamento de nova geração sendo uma técnica de alta sensibilidade e especificidade para detecção do vírus, dependendo do quadro clínico e diretrizes médicas para a prevenção, sua aplicabilidade pode ser a estratégia mais eficaz para um diagnóstico precoce seguido de uma terapêutica rápida, eficiente e precisa do HPV contribuindo com a qualidade de vida do paciente.

Palavras-chave: HPV, biologia molecular, microRNA e colposcopia.

ABSTRACT

HPV is a common sexually transmitted virus associated with genital lesions and cervical cancer. Brazil faces a high incidence rate of cervical cancer, while the WHO points to a significant prevalence of the same. Late diagnosis of HPV is a public health problem, highlighting the need for molecular biology techniques for early detection. Therefore, the purpose of this study was to analyze the molecular biology techniques used to detect HPV infection, assessing their benefits and examining their ability to identify the infection at an early stage. In view of this, it was found that colposcopy offers a visual assessment of cervical alterations, while, among the molecular biology techniques described, next-generation sequencing being a highly sensitive and specific technique for detecting the virus, depending on the clinical picture and medical guidelines for prevention, its applicability may be the most effective strategy for early diagnosis followed by rapid, efficient and accurate HPV therapy, contributing to the patient's quality of life.

Key words: HPV disease, molecular biology and colposcopy.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

<u>Figura 1 Representação Digital do HPV</u>	14
<u>Figura 2 Descrição das fases da patogenia do HPV</u>	15
<u>Figura 3 Alterações Celulares Pré Cancerosas do HPV</u>	23
<u>Figura 4 Esquema de fases do qPCR no diagnóstico de HPV</u>	27

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

- CEC – Carcinoma Espinocelular do Colo de Útero
- CIN1 – Lesão intraepitelial escamosa de baixo grau
- CIN2 – Lesão intraepitelial escamosa de alto grau
- CIN3 – Lesão intraepitelial escamosa de alto grau
- CH – Captura Híbrida
- DNA – Ácido Desoxirribonucleico
- FFPE – Tecido Fixado em Formalina e Embebidas em Parafina
- HPV – Papilomavírus Humano
- INCA – Instituto Nacional de Câncer
- MiRNAs – microRNAs
- NGS – Sequenciamento de Nova Geração
- OMS – Organização Mundial de Saúde
- PCR – Reação em Cadeia da Polimerase
- qPCR – Reação em Cadeia da Polimerase em Tempo Real
- RB – Riboblastoma
- TCC – Trabalho de Conclusão de Curso

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	10
2 OBJETIVO.....	11
3 METODOLOGIA.....	11
4 EPITÉLIO CERVICAL	12
5 PAPILOMAVÍRUS HUMANO.....	12
5.1 PATOGENIA DO PAPILOMAVÍRUS HUMANO.....	14
6 VARIAÇÕES GENÉTICAS	16
6.1 MUTAÇÕES COM ALTA TAXA DE MALIGNIZAÇÃO.....	17
7 CONCEITO DE CANCER DE COLO DE ÚTERO E NEOPLASIA.....	19
8 DIAGNÓSTICO CONVENCIONAL.....	20
9 CITOLOGIA ONCÓTICA E COLPOSCOPIA.....	22
10 PROTOCOLO DE SISTEMA ÚNICO DE SAÚDE BRASILEIRO.....	23
11 DIAGNÓSTICO MOLECULAR.....	24
11.1 REAÇÃO DA CADEIA DA POLIMERASE EM TEMPO REAL.....	26
11.2 CAPTURA HÍBRIDA.....	28
11.3 SEQUENCIAMENTO DE NOVA GERAÇÃO.....	28
11.4 TÉCNICAS DE DIAGNÓSTICO MOLECULAR DISPONÍVEIS.....	29
12 PROGNÓSTICO MOLECULAR.....	29
13 DISCUSSÃO.....	31
14 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	33
15 REFERÊNCIAS.....	34

1. INTRODUÇÃO

O Papilomavírus Humano (HPV) é um vírus sexualmente transmissível comum que afeta a população mundial, podendo causar desde lesões genitais até câncer de colo de útero e outras regiões anatômicas (GUPTA; KUMAR; DAS, 2018).

No Brasil, dados do Ministério da Saúde, com pesquisa realizada pelo Instituto Nacional do Câncer (INCA), indicam como a terceira posição com maior taxa de incidência, o câncer de colo de útero. A importância da quantificação de incidências auxilia no mapeamento nacional para possíveis intervenções benéficas (INCA,2022).

Importante considerar junto a isso, dados da Organização Mundial da Saúde (OMS), que indicaram a prevalência de câncer de colo de útero 11,7% em 2017 (OPAS,2022). É válida a informação de que apenas alguns tipos de HPV tem como consequência o câncer de colo de útero, entretanto, múltiplos casos de câncer de colo de útero são causados por HPV (INCA,2022).

O diagnóstico tardio do HPV por meio de técnicas convencionais representa um problema significativo na saúde pública. As abordagens tradicionais, como o exame citológico (Papanicolau) e a colposcopia, muitas vezes falham em detectar a infecção em seus estágios iniciais, o que resulta em atrasos no tratamento e no acompanhamento adequados. Isso aumenta o risco de complicações, como o desenvolvimento de câncer do colo do útero, que poderiam ser prevenidas com a identificação precoce da infecção. A limitação na sensibilidade e especificidade dessas técnicas convencionais destaca a necessidade de abordagens mais sensíveis, como as técnicas de biologia molecular, para melhorar a detecção e o diagnóstico precoces do HPV (ZENÓBIO, 2007).

A infecção por HPV pode ser prevenida por meio de vacinação, que é altamente eficaz na prevenção das infecções causadas pelos tipos mais comuns e de maior risco para o desenvolvimento de câncer. Além disso, a detecção precoce e o tratamento das lesões precursoras do câncer podem reduzir significativamente o risco de progressão para um câncer invasivo (CARVALHO et al., 2019).

O diagnóstico precoce e preciso do HPV é fundamental para um tratamento eficaz e prevenção de complicações graves (GUPTA; KUMAR; DAS,

2018). Deste modo, a biologia molecular oferece diversas ferramentas diagnósticas altamente sensíveis e específicas, capazes de detectar a presença de DNA viral em diversos tipos de amostras, a depender da técnica solicitada. Além disso, a biologia molecular também permite a identificação de diferentes tipos de HPV e sua classificação de acordo com o risco oncológico, o que pode contribuir significativamente para a estratificação de risco e tomada de decisão médica (REN et al., 2019).

2. OBJETIVO

Portanto, o objetivo deste trabalho é estudar as técnicas de biologia molecular utilizadas para o diagnóstico de infecção por HPV, discutir suas vantagens e analisar seu potencial para o diagnóstico precoce.

3. METODOLOGIA

O estudo se tratou de uma revisão bibliográfica. Consistiu em reunir e resumir dados da literatura disponível sobre as técnicas de biologia molecular relacionados com diagnóstico de HPV. A estratégia de busca de dados utilizada contou com estudos obtidos por meio das seguintes bases de dados: Medical Literature Analysis and Retrieval System Online (MEDLINE/PubMed), Scientific Eletronic Library Online (SciELO) e Google academic. O descritor (HPV OR Human Papillomavirus) foi combinado utilizando o operador booleano AND (MolecularBiology OR BIOMOL) AND (MiRNA OR microRNA) e seus correspondentes respectivos na língua português. A pesquisa foi realizada com limite de data, sendo entre fevereiro de 2023 à novembro de 2023 e os artigos foram selecionados de acordo com os seguintes critérios de elegibilidade: Critérios de inclusão: Somente artigos que envolvam o uso de infecções de HPV mencionando as técnicas disponíveis para o diagnóstico conclusivo na língua portuguesa ou inglesa. Os títulos dos artigos e resumos foram usados para a triagem dos artigos recuperados para elegibilidade/exclusão. O texto completo dos artigos de estudos potencialmente elegíveis foi acessado para identificar aqueles que atenderam aos critérios da revisão.

4. EPITÉLIO CERVICOVAGINAL

O epitélio cervicovaginal, localizado na junção entre o colo do útero e a vagina, desempenha um papel crucial na proteção do trato reprodutivo feminino e na regulação de suas funções. Este epitélio é composto principalmente por células escamosas estratificadas, que formam várias camadas. A camada mais superficial, chamada de camada superficial, consiste em células planas e descamadas, enquanto a camada basal é composta por células mais jovens, que estão em constante divisão e diferenciação (ZUR H., 2002; HOOFFAR, 2004).

O epitélio cervicovaginal é dinâmico e sujeito a mudanças hormonais ao longo do ciclo menstrual, com a espessura e a composição celular variando de acordo com os níveis de estrogênio e progesterona. Esse epitélio desempenha um papel crítico na proteção contra infecções, atuando como uma barreira física e produzindo muco cervical que varia em consistência ao longo do ciclo menstrual para facilitar ou dificultar a passagem de espermatozoides. Além de sua função de proteção e barreira, o epitélio cervicovaginal também é um local de interesse clínico significativo. Alterações patológicas no epitélio, como aquelas causadas pela infecção pelo HPV, podem levar a lesões pré-cancerosas e cancerosas (LACROIX G., 2020).

Portanto, a avaliação regular do epitélio cervicovaginal por meio do exame de papanicolau e outros métodos diagnósticos desempenha um papel vital na detecção do câncer cervical, destacando a importância do estudo e compreensão desse tecido epitelial na prática médica e na saúde da mulher (CASCARD, 2022; AGGARWAL, 2023).

5. PAPILOMAVÍRUS HUMANO

O HPV possui um genoma de DNA circular duplo que pertence à família Papilomaviridae. Sua principal forma de transmissão se dá por contato direto com a pele ou mucosa infectada durante a atividade sexual. A infecção genital por HPV é extremamente comum, com uma alta prevalência em todo o mundo. Estima-se que a maioria das pessoas sexualmente ativas adquirem pelo menos uma infecção por HPV durante suas vidas (KEUNG; SPIES; CARIDI, 2018).

O HPV pode causar lesões benignas na pele e mucosas, como verrugas genitais e condilomas acuminados, além de estar associado a várias formas de câncer, como câncer cervical, anal, peniano, vaginal, vulvar e orofaríngeo

(GARLAND et al., 2007). Existem mais de 200 tipos de HPV identificados até o momento, sendo que cerca de 40 tipos podem infectar a região genital tanto de homens quanto de mulheres, sendo dentre eles, 28 tipos com risco considerável à malignidade, presente em amostras de mulheres com lesões cervicais. Os resultados apreciados como variações genéticas em certas regiões do genoma do HPV estão associados a um maior risco de progressão para lesões de alto grau (KOCIAN et al., 2017; MARTEL et al., 2017).

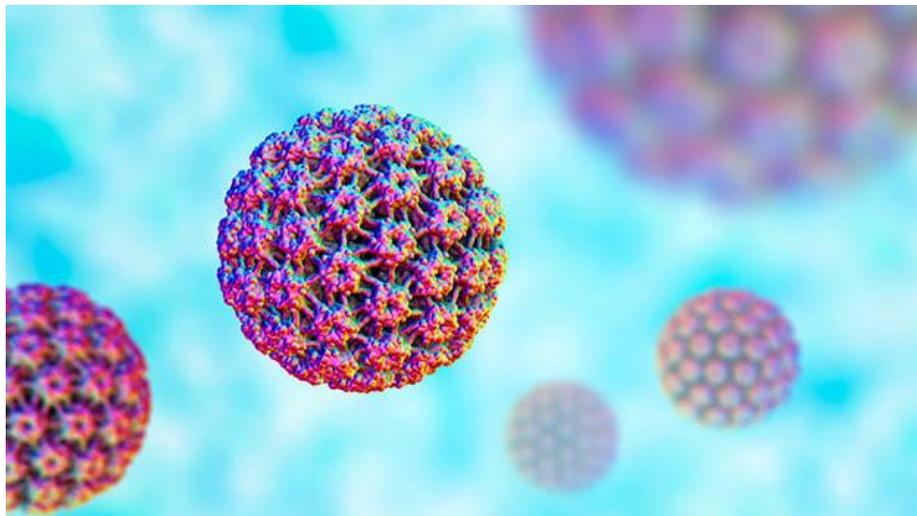
Os tipos de HPV de alto risco apresentam duas proteínas virais chamadas E6 e E7, que são capazes de interagir com diversas proteínas celulares e alterar o ciclo celular normal das células epiteliais. A proteína celular mais utilizada nesse contexto é a proteína supressora de tumor p53, que é alvo da interação com a proteína E6 do HPV, levando à sua diminuição e a perda da função de secreção tumoral. Além disso, a proteína E7 do HPV interage com outras proteínas celulares incluindo a proteína supressora do tumor retinoblastoma (RB), e interfere em processos com a regulação do ciclo celular e a apoptose (MUNGER K, 2002; MOODY; LAIMINS, 2010; MCBRIDE, 2016; HARDEN; MUNGER, 2017).

O HPV é caracterizado por sua morfologia distintiva. O vírus é composto por uma cápsula proteica, conhecida como cápside, que envolve o material genético viral. A cápside é formada por proteínas L1 e L2, sendo a L1 responsável pela estruturação da cápside e pela indução da resposta imunológica. O genoma do HPV é constituído por DNA de fita dupla, circular e não envelopado, e varia em tamanho, dependendo do tipo viral. A presença de proteínas específicas, como a E6 e a E7, contribui para a capacidade do vírus de infectar células epiteliais e desencadear alterações no ciclo celular. A compreensão da morfologia do HPV é crucial para o desenvolvimento de estratégias de prevenção, diagnóstico e tratamento eficazes contra as infecções por esse vírus, que estão associadas ao desenvolvimento de lesões precursoras e câncer em diferentes regiões do corpo humano (ARAÚJO, 2020).

Os tipos de HPV considerados de alto risco para o câncer são principalmente os tipos 16 e 18, que são responsáveis por cerca de 70% dos casos de câncer de colo do útero em todo o mundo. Outros tipos de HPV de alto risco incluem os tipos 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59 e 68. Conforme o avanço das pesquisas sobre a estrutura geral desse vírus, tornou-se possível

ilustrar visualmente o HPV, como mostra figura 1 (MUÑOZ et al., 2003; SANJOSE et al., 2010; BRUNI et al., 2016).

Figura 1 – Representação Digital do HPV



Fonte: Hypheness (2021) Disponível em: <https://www.hypheness.com.br/2022/02/hpv-como-o-mais-comum-dos-virus-sexualmente-transmissiveis-pode-ser-evitado/> Acesso em: 04 nov. 2023

5.1 PATOGENIA DO HPV

A infecção genital por HPV é uma infecção sexualmente transmissível, a inoculação do HPV sobrevém durante relação sexual com portadores do vírus. A história natural do processo de infecção viral ocorre em diferentes fases, descritas a seguir:

Inoculação, representado na figura 2 “*Infecção por HPV*” é quando o vírus penetra no novo hospedeiro através de microtraumatismos. Os vírions então progridem até a camada basal, atravessando a membrana citoplasmática. O genoma viral é transportado para o núcleo, onde é traduzido e transcrito. Duas classes de proteínas são codificadas: proteínas transformadoras, que induzem funções na célula hospedeira, e proteínas reguladoras, que controlam a expressão dos genes virais.

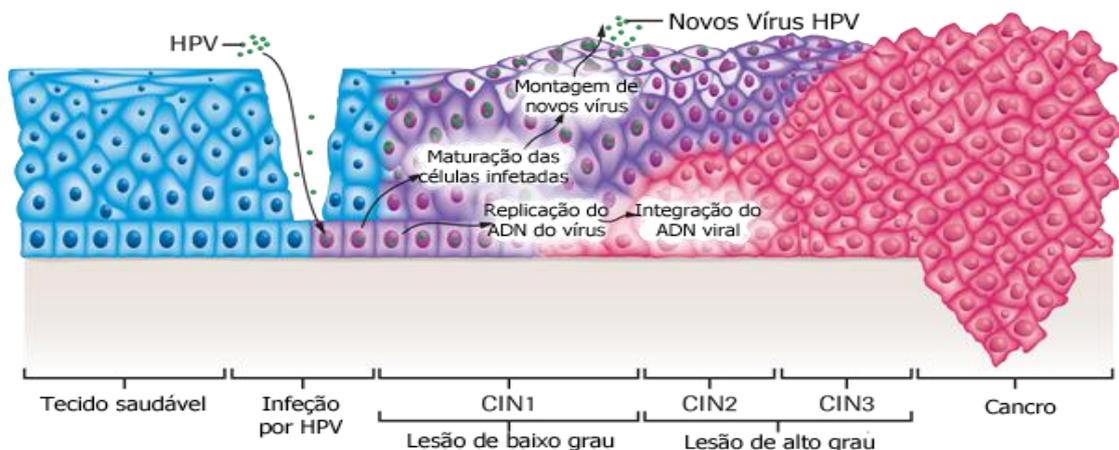
Período de incubação, representado na figura 2 “*CIN1*”, é o período em que o condiloma acuminado varia de 2-3 semanas a 8 meses e parece estar relacionado com a competência imunológica individual. Como o contato sexual não produz verrugas genitais em todos os casos, fica claro que a imunidade

celular ou outros fatores locais influenciam decisivamente na transmissão do vírus.

Fase precoce, representado na figura 2 “CIN2”, ocorre três meses após o surgimento das primeiras lesões, tem início uma resposta imune adquirida que pode conter a infecção (regressão) ou ser insuficiente para eliminá-la (fase de expressão ativa). Durante o estágio de contenção, os condilomas externos regridem espontaneamente em número significativo de indivíduos. No entanto, na maioria dos casos, as lesões focais persistem, embora o surgimento de novos papilomas possa ser interrompido ou parcialmente bloqueado.

Fase tardia, representado na figura 2 “CIN3”, inicia-se cerca de nove meses depois após o aparecimento das primeiras lesões, os pacientes podem apresentar dois tipos de situação clínica, sendo eles, os que continuarão em remissão e potencialmente infectantes para seus parceiros sexuais e os que recidivarão, expressando doença ativa.

Figura 2 – Descrição das fases da patogenia do HPV.



Fonte: Tratado de infectologia 5ª edição. Editora Atheneu. Disponível em:

<https://www.sanarmed.com/resumo-de-hpv-epidemiologia-fisiopatologia-tratamento-sanarflix>

Acesso em: 04 nov. 2023

A infecção pelo HPV pode ser dividida em clínica, subclínica e latente, o processo infeccioso clínico é facilmente detectado e causa sintomas característicos, enquanto para os outros tipos de infecção necessitam do uso de métodos como peniscopia, histologia e ainda métodos de detecção do DNA do vírus. As infecções por HPV podem ser sintomáticas quando a forma clínica é perceptível, ou assintomáticas. As lesões aparecer nas regiões genitais em forma de verrugas genitais e chamada de condilomas. Surgem em regiões como

vulva, colo vaginal e região perianal na mulher e no homem há possibilidade de aparecer na glândula e sulco bálano prepucial, menos frequente podem estar presentes em áreas extragenitais como conjuntivas mucosonasal, oral e laríngea (OKUNADE, 2019).

A infectividade do HPV é alta, estimando-se que 60% dos parceiros de pacientes infectados adquiram o vírus após um único contato sexual. As lesões epiteliais ocorrem em áreas sujeitas a trauma durante o ato sexual, pois é preciso a existência de condições que favoreçam a penetração do vírus. O déficit local da imunovigilância favorece a passagem de infecção latente para a ativa. O intervalo entre a exposição e a evidência clínica varia entre 4 e 6 semanas até 8 meses, com média de 3 meses, sendo no trato genital dividido, de acordo com autor em Clínica, que é a forma perceptível a olho nu. Logo após a subclínica, a forma reconhecida apenas com o uso do colposcópico (lente de aumento), após a aplicação de ácido acético 5%; latente, a identificação de sequências de DNA-HPV com técnicas de hibridização molecular em indivíduos com tecidos clinicamente normais (HOORFAR, 2004).

O genoma do HPV representa uma estrutura genética distintiva e fundamental para sua biologia e com aproximadamente 8.000 pares de bases. Este genoma é organizado em três regiões principais, a região precoce (E), a região tardia (L), e a região de controle (CR). As regiões E e L codificam proteínas essenciais para o ciclo de vida do vírus, incluindo aquelas envolvidas na replicação e na montagem viral. As proteínas E6 e E7, em particular, desempenham um papel crucial na transformação celular, promovendo a proliferação descontrolada das células hospedeiras. A região de controle contém elementos regulatórios importantes que controlam a replicação do DNA viral. A complexidade e a variabilidade do genoma do HPV são fatores determinantes na diversidade de manifestações clínicas associadas às infecções por este vírus, especialmente do colo do útero (GAO, et al., 2019).

6. VARIAÇÕES GENÉTICAS

A análise da diversidade genética do HPV em células cervicais de mulheres de diferentes regiões do mundo, mostrou que diferem significativamente entre as populações geográficas, sugerindo que o HPV pode

ser influenciada pela evolução molecular do vírus e pelas migrações humanas (RAOULT, 2013).

As detecções de variações genéticas do HPV podem ser importantes para a escolha da vacina adequada, quando se identifica variações genéticas em alguns tipos de HPV de alto risco que podem afetar a eficácia das vacinas atualmente disponíveis (BRUNO; SERRAVALLE; TRAVASSOS; LIMA, 2014).

As perspectivas do HPV podem ocorrer de maneiras diferentes, incluindo erros durante a replicação viral, recombinação genômica, seleção positiva, entre outros. As aparências podem afetar diferentes regiões do genoma do HPV, incluindo as regiões que codificam as proteínas virais E6 e E7, que são as principais proteínas associadas à oncogênese do HPV. Alguns indivíduos pertencentes ao genoma do HPV foram associados a um maior risco de desenvolvimento de lesões precursoras do câncer e câncer de colo do útero (ROSSI et al., 2020).

Uma mutação L83V na proteína E6 do HPV16 foi associada a uma maior virulência do vírus e um maior risco de desenvolvimento de câncer cervical invasivo. Esta mutação do L83V, é uma substituição de aminoácidos na posição 83, em que a leucina (L) é substituída pela valina (V). Essa mutação pode ocorrer durante a replicação do genoma do HPV16 ou como resultado de recombinação genética entre diferentes variantes do HPV16 e tem sido associada a um aumento da atividade oncogênica do vírus e um maior risco de desenvolvimento de câncer cervical invasivo. A proteína E6 do HPV tem como alvo a proteína p53, que é um importante regulador do ciclo celular e do apoptose. A interação entre a proteína E6 e p53 pode levar à deterioração da p53 e a reação da resposta de estresse celular, o que pode levar ao desenvolvimento de lesões pré-câncer e câncer cervical invasivo (ALSBEIH, 2013; ORAL et al., 2016; GARLAND et al., 2018).

6.1 MUTAÇÕES COM ALTA TAXA DE MAGNIFICAÇÃO CELULAR

As mutações causadas por componentes presentes em substâncias químicas, como por exemplo o tabaco, são as principais causas de conversões do tipo G -> A ou G -> T e dependem da sequência gênica afetada pela modificação. No entanto, a maioria desses danos pode ser reparada por sistemas de reparo de DNA, como a excisão de nucleotídeos e a excisão de

bases. Variações genéticas nos genes envolvidos nesses sistemas de reparo podem influenciar o risco de mutações e contribuir para o desenvolvimento de cânceres de cabeça e pescoço (CINTRA, 2021).

A expressão de microRNAs (miRNAs) é alterada em vários carcinomas humanos e em muitos processos fisiológicos no organismo. Os miRNAs são uma classe de pequenos RNAs conservados que não codificam proteínas e que regulam a expressão gênica por meio da via de interferência de RNA. Os miRNAs são derivados de precursores de miRNA estruturados em hastes por meio de enzimas RNase III, como a Drosha e a Dicer. Eles diferem dos siRNAs por geralmente exigirem apenas complementaridade parcial com a sequência-alvo, que geralmente está localizada na região não traduzida do mRNA. A ligação de um miRNA a uma sequência-alvo de mRNA leva a mudanças transcricionais ou pós-transcricionais na expressão da proteína correspondente (SANTOS et al., 2018).

Em cânceres, os miRNAs foram propostos para atuar como supressores de tumor ou como oncogenes, regulando a expressão de proteínas que contribuem para a oncogênese. Em estudos anteriores, os tumores de pacientes com carcinomas anais foram divididos em dois grupos distintos com base na expressão global do mRNA. Todos os tumores expressaram mRNA do E7 do HPV16. A análise em cluster de um número de genes regulados pelo HPV de alto risco ou E2F reproduziu esses dois grupos. O miR-15b foi capaz de dividir os tumores em dois grupos semelhantes aos grupos definidos com base na expressão de genes regulados pelo HPV de alto risco e pelo E2F e pode desempenhar um papel importante na regulação da expressão de genes relacionados ao desenvolvimento do câncer anal. A compreensão desses mecanismos de regulação genética pode ajudar no desenvolvimento de novas abordagens terapêuticas para o tratamento do câncer anal (MYKLEBUST et al., 2011).

Os miRNAs são pequenos RNAs não codificadores de proteínas que desempenham um papel importante na regulação de processos biológicos. Alterações na expressão de miRNAs foram relatadas em vários tipos de câncer, incluindo câncer cervical. Os miRNAs são considerados uma opção melhor do que a análise de expressão de mRNA para distinguir estados de doença (NAHAND et al., 2019; CASAROTTO et al., 2020).

As amostras de tecido cervical FFPE são agrupadas de acordo com o diagnóstico histológico, incluindo lesões levemente displásicas (CIN1), lesões pré-câncerosas (CIN2-3) e carcinoma espinocelular do colo do útero (CEC). Diferentes tipos de HPV de alto risco, podem ser identificados nas amostras e os resultados dessas análises podem fornecer informações sobre a expressão de miRNAs associados ao câncer cervical e ajudar no entendimento da carcinogênese cervical. Essas amostras de tecido cervical FFPE, agrupadas de acordo com o diagnóstico histológico, oferecem insights valiosos sobre a infecção persistente pelo HPV e suas consequências nas regiões anogenitais, como colo do útero, vulva e ânus, fornecendo informações importantes sobre os diferentes tipos de cânceres e lesões pré-câncerosas associados ao vírus. (GOCZE, 2015).

7. CONCEITO DE NEOPLASIA E CÂNCER DE COLO DE ÚTERO

As neoplasias causadas pelo HPV são condições patológicas resultantes da infecção persistente. Essas neoplasias podem englobar diferentes tipos de cânceres e lesões pré-câncerosas, afetando principalmente as regiões anogenitais, como colo do útero, vulva, vagina, ânus, pênis e região perianal (DELL'AGNOLO et al., 2015).

A infecção persistente pelo HPV está intimamente associada ao desenvolvimento dessas neoplasias. Durante uma infecção, o vírus interfere nos processos normais de controle celular, levando a alterações progressivas nas células infectadas. Isso pode resultar na formação de lesões pré-câncerosas, que, se não tratadas, podem progredir para o câncer invasivo. É importante destacar que nem todas as infecções por HPV levam ao desenvolvimento de neoplasias, mas a persistência do vírus aumenta significativamente o risco (DUARTE et al., 2017).

O câncer de colo de útero, é uma neoplasia maligna que afeta a região que conecta o útero à vagina. Essa doença tem como possível agente etiológico o HPV. De acordo com o INCA, o câncer de colo de útero é o quarto tipo mais comum em mulheres no mundo e a quarta principal causa de morte por câncer em mulheres no Brasil (INCA, 2021). A infecção pelo HPV é considerada um fator de risco significativo para o desenvolvimento desse tipo de câncer (GUPTA et al., 2022)

Sobre a classificação internacional de doenças (CID 53), a incidência dos casos de câncer de colo de útero no Brasil, varia anualmente. De acordo com estimativas do INCA para o período de 2020 a 2022, estima-se que ocorreram cerca de 16.590 novos casos de câncer do colo do útero a cada ano no país. Essas são estimativas e podem variar de acordo com fatores como região geográfica, acesso a serviços de saúde e implementação de programas de prevenção e detecção precoce do câncer de colo de útero (JAIN et al., 2021).

Ademais, a importância do diagnóstico convencional para o HPV, como a citologia cervicovaginal e a colposcopia, são evidenciadas quando consideramos a incidência de casos de câncer de colo do útero no Brasil, enumerados pelo INCA, ressaltando a necessidade de programas de prevenção e detecção precoce desse tipo de câncer (MAVER; POLJAK, 2020).

8. DIAGNÓSTICO CONVENCIONAL

O diagnóstico convencional para o HPV é de suma importância no controle dos visitantes causados por esse vírus, especialmente considerando sua associação com o desenvolvimento de lesões precursoras e câncer de colo do útero. Dentre os principais métodos tradicionais empregados para a detecção do HPV, destaca-se a citologia cervicovaginal, também conhecida como exame de Papanicolau, e a colposcopia. O exame de Papanicolau é amplamente utilizado para o rastreamento de lesões cervicais e demonstra alta sensibilidade na detecção de anormalidades celulares induzidas pelo HPV (XU et al., 2021).

Por sua vez, a colposcopia possibilita a visualização detalhada das alterações cervicais, permitindo a identificação de lesões suspeitas e a realização de biópsias direcionadas para o diagnóstico histopatológico (BORNSTEIN et al. 2019) no entanto, é importante ressaltar que, apesar da eficácia dos métodos convencionais, eles não estão isentos de limitação. A citologia cervicovaginal pode apresentar resultados falso-negativos, sobretudo em casos de infecção por HPV de baixo grau ou em lesões subclínicas, o que pode resultar em diagnósticos tardios e comprometer a detecção do rastreamento (ARBYN et al., 2012). Além disso, a colposcopia depende da experiência do examinador e pode exibir variabilidade na identificação de lesões suspeitas, o que impacta na acurácia diagnóstica (LANDY et al., 2017).

Nesse contexto, é importante a busca por aprimoramentos e complementações nos métodos convencionais de diagnóstico do HPV. A introdução de novas tecnologias, como o uso de testes de biologia molecular para a detecção do DNA viral, tem sido considerada promissora no aumento da sensibilidade diagnóstica e na identificação de acompanhamento subclínico (CUZICK et al., 2015). Além disso, estratégias de triagem mais abrangentes, como a inclusão de testes de genotipagem para os tipos de HPV de alto risco, podem fornecer uma avaliação mais precisa do risco de desenvolvimento de lesões precursoras e neoplasias cervicais (RONCO et al., 2014).

Se forem encontradas áreas suspeitas, pode-se optar por fazer uma biópsia dirigida. Nesse caso, uma pequena amostra de tecido é retirada para avaliação histopatológica. Isso é fundamental para confirmar o diagnóstico de lesões pré-cancerosas ou cancerosas, sendo importante para o médico ter a opção de técnicas de biologia molecular disponíveis para o processamento dessa amostra (XHAJA; AHR; ZEISER; IKENBERG, 2022).

A citologia microscópica ou exame de colpocitologia oncótica, é um procedimento fundamental na detecção de alterações celulares associadas ao vírus. Durante o exame, células do colo do útero são coletadas e posteriormente analisadas sob um microscópio. As alterações morfológicas, como células atípicas e modificações no núcleo celular, podem indicar a presença de HPV. A citologia microscópica permite distinguir entre lesões benignas e possíveis lesões pré-cancerígenas ou cancerígenas. Além disso, a classificação do padrão citológico de acordo com a Bethesda System ajuda a orientar a conduta clínica, possibilitando a intervenção precoce e o acompanhamento adequado dos pacientes. Esse método é crucial na prevenção e detecção precoce do câncer cervical, proporcionando a oportunidade de tratamento eficaz e melhorando significativamente os desfechos clínicos (BUCAU et al., 2020).

Em suma, o diagnóstico convencional do HPV é de suma importância na prevenção e controle das doenças relacionadas a esse vírus. Embora os métodos tradicionais, como o exame de papanicolau e a colposcopia, sejam amplamente utilizados, é necessário considerar suas limitações e buscar a incorporação de abordagens complementares e novas tecnologias para aprimorar a detecção precoce do HPV, garantindo assim uma intervenção adequada e acolhendo o impacto na saúde pública (MAVER; POLJAK, 2020).

9. CITOLOGIA ONCÓTICA E COLPOSCOPIA

A colposcopia é uma técnica diagnóstica amplamente empregada na área de ginecologia e saúde da mulher, tendo como equipamento de auxílio na observação, o colposcópio (figura 3). Essa técnica possui importância como ferramenta fundamental para a detecção de lesões cervicais, especialmente relacionadas à infecção pelo HPV (ÇALIŞKAN et al., 2021).

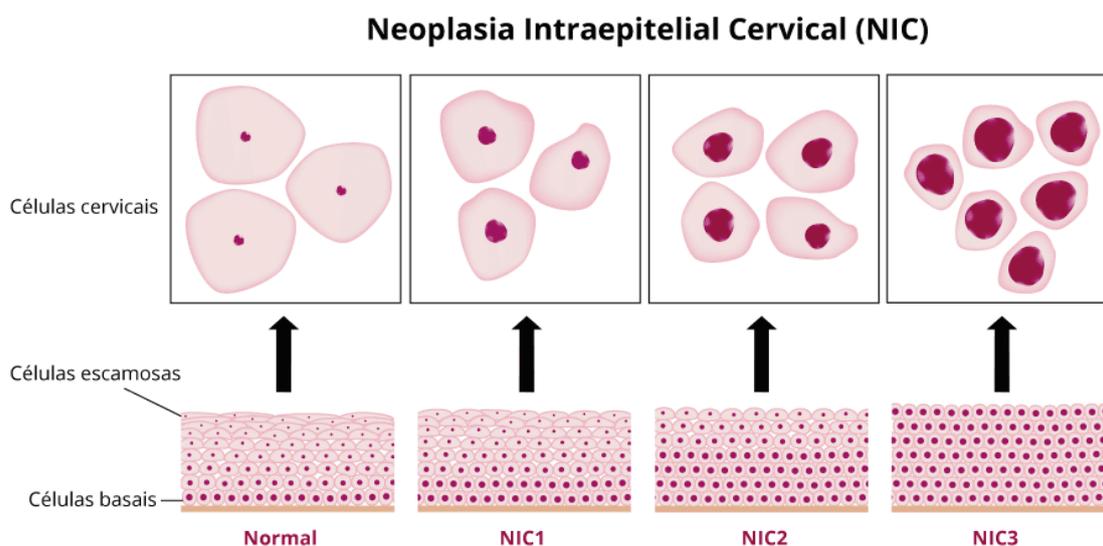
Existe uma sequência de procedimento que deve ser seguida, iniciada pela preparação da paciente. Antes da realização da colposcopia, é fundamental preparar a paciente. Isso inclui uma explicação clara do procedimento, obtenção de consentimento informado e histórico médico detalhado, incluindo informações sobre seu ciclo menstrual e possíveis alergias a produtos utilizados durante o exame (AMORIM et al., 2018).

Deve-se posicionar a paciente na mesa de exame ginecológico, semelhante ao exame de Papanicolau de rotina. Os pés são apoiados em estribos, permitindo um acesso adequado ao colo do útero. Em seguida, é feita a inspeção visual inicial. O médico realiza uma inspeção pela vulva, da vagina e da região cervical com a ajuda de uma fonte de luz adequada. Isso permite identificar possíveis anormalidades visíveis a olho nu. Para melhorar a visualização, uma solução de ácido acético a 3 a 5% é aplicada no colo do útero. Isso causa a desnudação das células anormais, que ficam esbranquiçadas e são mais visíveis durante a colposcopia. Aplicação de Ácido Acético, chamado de teste de Schiller. Após a inspeção externa, é utilizado o colposcópio, que é um aparelho óptico com aumento que permite uma visualização ampliada do colo do útero e da vagina. O médico ajusta a ampliação e o foco para examinar minuciosamente a área. Pode-se usar filtros de luz verde para realçar vasos sanguíneos anormais (KATZ et al., 2010).

As alterações celulares provocadas pelo HPV de tipos oncogênicos são principalmente observadas no epitélio escamoso do colo do útero. A infecção por HPV 16 ou 18 podem levar a mudanças morfológicas nas células epiteliais, incluindo atipias, aumento da relação núcleo-citoplasma e anormalidades nucleares, como cromatina condensada e nucléolos proeminentes, como ilustrados na figura 3. Essas alterações são frequentemente identificadas por meio de exames citológicos. Além disso, são associados a lesões intraepiteliais

de alto grau (HSIL) e carcinoma in situ, que são estágios precursoras do câncer cervical invasivo. O monitoramento cuidadoso e a detecção precoce dessas alterações celulares são essenciais para a prevenção e o tratamento eficaz das complicações decorrentes da infecção por HPV de tipos oncogênicos (KOMBE et al., 2023).

Figura 3 – Alterações Celulares Pré Cancerosas do HPV.



Fonte: Kasvi Produtos e Equipamentos Laboratoriais. Disponível em:

<https://kasvi.com.br/papanicolau-citopatologia/> Acesso em: 01 Dez. 2023

10. PROTOCOLO DO SISTEMA ÚNICO DE SAÚDE BRASILEIRO

O diagnóstico do HPV no Brasil geralmente envolve diferentes etapas e abordagens. A avaliação clínica é realizada por um profissional de saúde, como um ginecologista, urologista ou dermatologista, para identificar lesões visíveis na pele ou mucosas. A citologia que é uma técnica de triagem comum para o câncer cervical associado ao HPV. Este teste verifica a presença de células anormais no colo do útero. Em alguns casos, pode ser realizado em outras áreas, como a garganta. A biópsia, analisada no processo de patologia, se houver suspeita de lesões pré-cancerosas ou cancerosas, pode ser realizada para obter uma amostra de tecido para análise mais detalhada, sendo muitas vezes a etapa final de diagnóstico de HPV, exceto nos casos indispensáveis de identificação do tipo de HPV (Ministério da Saúde, 2020; FUNDAÇÃO FIO CRUZ, 2023).

A patologia é utilizada para confirmação de lesões pré-cancerosas e cancerosas, identificação de infecções subclínicas, avaliação da extensão e severidade das lesões, diferenciação de tipos de lesões, monitoramento pós-tratamento, auxílio na decisão terapêutica, estudo de coorte e pesquisa epidemiológica. A biópsia é então realizada a partir dessa verruga ou lesão, sendo o material subsequente encaminhado para análise histológica, a qual proporciona informações acerca da presença ou ausência de tumores. Posteriormente, é conduzido um exame de DNA para confirmar a presença do HPV. Esse diagnóstico possibilita o planejamento adequado do tratamento.

É comum que a infecção pelo HPV seja assintomática, sem apresentação de sintomas ou lesões visíveis. Nestes casos, torna-se crucial a realização de exames utilizando microscopia e equipamentos específicos. A genitoscopia é considerada o exame mais apropriado, pois avalia integralmente a região anogenital, tanto em homens quanto em mulheres. Enquanto a peniscopia é específica para o pênis e a colposcopia para a vagina, a genitoscopia abrange a avaliação da vagina, colo uterino, vulva, uretra, pênis, escroto, região inguinal, abdominal, perineal, perianal, anal, entre outros (SEGURA, 2019).

O método mais simplificado de detecção do HPV consiste na observação direta de verrugas genitais durante a colposcopia. Contudo, apenas cerca de 1% dos pacientes com infecções por HPV apresentam condilomas típicos, como verrugas visíveis, sendo a grande maioria dos casos subclínica e, portanto, assintomática, o que frequentemente complica o diagnóstico (SMITH, 2018).

11. DIAGNÓSTICO MOLECULAR

O diagnóstico molecular do HPV tem sido de extrema importância no contexto clínico devido à associação do vírus com uma variedade de condições patológicas, incluindo lesões cervicais pré-cancerosas e câncer cervical. Nos últimos anos, avanços tecnológicos têm aprimorado as abordagens diagnósticas, permitindo maior sensibilidade e especificidade na detecção e genotipagem do HPV. Dentre as técnicas mais utilizadas, destacam-se a Reação em Cadeia da Polimerase em Tempo Real (qPCR), a captura híbrida (CH) e a Genotipagem por Sequenciamento de Nova Geração (NGS) (ZIĘBA; CHECHLIŃSKA; KOWALIK; KOWALEWSKA, 2020).

A qPCR tem se destacado como uma ferramenta de diagnóstico molecular eficiente e de alta sensibilidade para a detecção do DNA do HPV em amostras clínicas. Essa técnica permite a quantificação precisa do vírus, bem como a identificação de diferentes tipos de HPV simultaneamente, o que é essencial para avaliar o risco oncogênico associado a cada infecção. Além disso, a qPCR é capaz de detectar cargas virais baixas, por ser uma técnica de alta sensibilidade e especificidade, permitindo a identificação de pacientes latentes e persistentes (PUNTAMBEKAR; MANCHANDA, 2018).

Outra abordagem relevante no diagnóstico molecular de HPV é a CH, que tem sido amplamente utilizada como uma técnica de triagem para identificar pacientes com alto risco oncogênico. Embora a CH tenha menor sensibilidade em comparação com a qPCR, ainda desempenha um papel importante no tratamento de pacientes de alto grau, fornecendo informações valiosas sobre a persistência do DNA viral (EL-ZEIN et al., 2018).

Com o avanço da tecnologia, a Genotipagem por NGS tem se tornado uma opção atraente para o diagnóstico molecular de HPV, especialmente para a caracterização precisa dos genótipos virais em amostra complexa. Um NGS permite a identificação simultânea de vários tipos de HPV e oferece uma visão abrangente da diversidade viral presente em cada amostra. Além disso, essa técnica possibilita a detecção de novos genótipos e a análise detalhada de variantes virais, fornecendo informações importantes para a compreensão da epidemiologia do HPV (TAO et al., 2019).

Em conclusão, o diagnóstico molecular do HPV por meio de técnicas como qPCR, CH e NGS tem desempenhado um papel fundamental na detecção precoce de compatibilidade viral e na caracterização genotípica do vírus. Essas abordagens têm permitido uma melhor avaliação do risco de desenvolvimento de lesões cervicais e estratégias orientadas de prevenção e tratamento mais eficazes (PUNTAMBEKAR; MANCHANDA, 2018).

11.1 REAÇÃO EM CADEIA DA POLIMERASE EM TEMPO REAL

O qPCR, é uma técnica que envolve a amplificação de ácidos nucleicos, geralmente DNA, e a quantificação simultânea da quantidade do alvo amplificado em tempo real. Esse processo é realizado por meio da detecção de fluorescência

gerada durante a amplificação. A preparação da reação começa com a mistura do DNA alvo que se deseja amplificar, iniciadores específicos (primers) para o DNA alvo e uma enzima Taq DNA polimerase especializada em um tubo de reação com uma solução-tampão (ARDHAOUI et al., 2021)

A amplificação ocorre em ciclos de aquecimento em um termociclador, consistindo em três etapas principais, a desnaturação, que converte o DNA de fita dupla em fita simples; o anelamento, onde os iniciadores se ligam às sequências complementares no DNA alvo; e a extensão, na qual a enzima DNA polimerase adiciona novos nucleotídeos ao DNA a partir dos iniciadores ligados, criando cópias amplificadas do alvo.

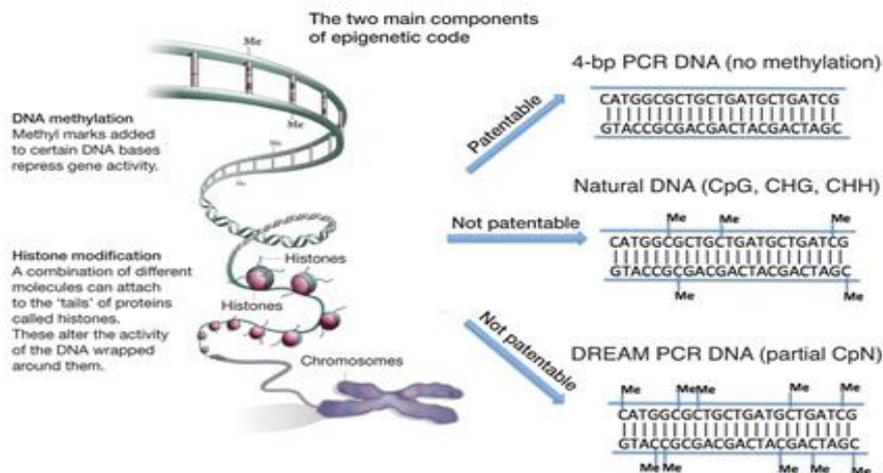
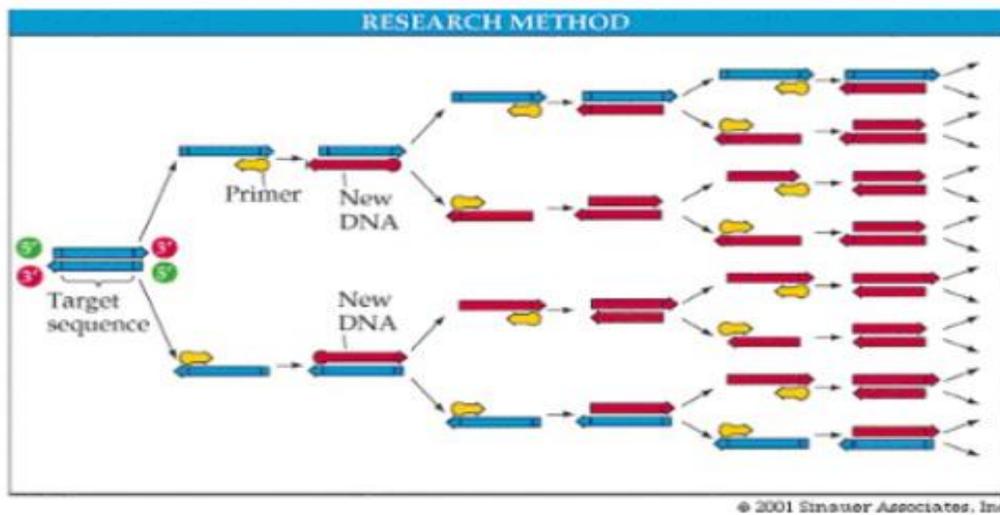
A detecção de fluorescência em tempo real é fundamental nesse processo. Durante a extensão, se uma sonda de sondagem fluorescente estiver presente, ela se ligará à sequência amplificada e emitirá fluorescência quando excitada. A intensidade da fluorescência é monitorada a cada ciclo e está diretamente relacionada à quantidade de DNA amplificado. Quanto mais DNA alvo amplificado estiver presente inicialmente, mais fluorescência será detectada (RÍO-OSPINA et al., 2015).

Para a quantificação, um software específico é utilizado para coletar os dados de fluorescência a cada ciclo de qPCR. Esses dados são então usados para gerar uma curva de amplificação. Comparando essa curva com as curvas de amplificação de amostras de referência ou padrões conhecidos, é possível determinar a quantidade relativa de DNA alvo na amostra em questão. O qPCR é uma técnica poderosa e amplamente utilizada em genética, biologia molecular e diagnóstico, permitindo a quantificação precisa de material genético em tempo real (WOLFFS; NORLING; RÅDSTRÖM, 2005).

Os principais alvos são as regiões conservadas do genoma viral. O gene L1, que codifica a proteína capsidial, é frequentemente escolhido como alvo para a detecção do HPV devido à sua conservação entre os diferentes tipos virais. A região L1 é relativamente mais conservada do que outras partes do genoma do HPV, o que facilita a concepção de primers e probes específicos para amplificação e detecção. O qPCR permite a quantificação do DNA viral presente em uma amostra. Além do gene L1, as regiões E6 e E7 do genoma do HPV também podem ser alvos de detecção, especialmente em contextos clínicos onde a identificação de tipos de alto risco, associados ao desenvolvimento de

câncer, é de particular importância. Existem muitos tipos diferentes de HPV, e alguns são considerados de alto risco devido à sua associação com o câncer cervical. Portanto, os testes de PCR para detecção de HPV podem ser projetados para segmentos específicos do genoma que são mais relevantes para a identificação de tipos de alto risco. Além disso, a escolha dos primers desempenha um papel crucial na especificidade do teste (PINATTI; WALLINE; CAREY, 2017).

Figura 4 – Esquema de fases do qPCR no diagnóstico de HPV.



Fonte: HPV Online By MEB Studio. Disponível em: <https://hpvonline.com.br/sobre-hpv/hpv-e-diagnostico/hpv-na-pcr-por-real-time/> Acesso em: 01 Dez. 2023

11.2 CAPTURA HÍBRIDA

A técnica da captura híbrida é um método molecular fundamental na detecção do HPV, um grupo de vírus associado a infecções sexualmente

transmissíveis e ao risco de câncer cervical. Essa técnica se baseia no princípio da detecção de ácidos nucleicos do HPV em amostras clínicas, geralmente esfregaços cervicais. O procedimento da captura híbrida é composto por, primeiramente, realiza-se a amostragem, coletando uma amostra clínica da paciente, tipicamente um esfregaço cervical. A seguir, procede-se à extração dos ácidos nucleicos presentes na amostra, frequentemente o DNA viral. Na fase de hibridização, os ácidos nucleicos extraídos são combinados com sondas de DNA previamente marcadas com uma substância química, como a alcalino fosfatase. Essas sondas de DNA foram projetadas especificamente para se ligarem ao DNA do HPV, caso esteja presente na amostra, e essa ligação ocorre por complementaridade de sequência (MONGELÓS et al., 2013).

Se o DNA do HPV estiver na amostra, as sondas de DNA marcadas se ligarão a ele, formando híbridos. A etapa subsequente envolve a separação dos híbridos formados das moléculas não ligadas. Por fim, a presença da substância química marcadora, como a alcalino fosfatase, é detectada, indicando com precisão a presença do DNA do HPV na amostra (CARVALHO et al., 2003).

11.3 SEQUENCIAMENTO DE NOVA GERAÇÃO

O princípio subjacente ao sequenciamento de nova geração é baseado em uma abordagem de alto rendimento, na qual milhões de fragmentos de DNA são sequenciados simultaneamente. O processo envolve uma sequência de etapas cruciais. Primeiramente, na etapa de preparação da biblioteca, o DNA alvo é fragmentado em pequenos segmentos e adaptadores são anexados a esses fragmentos. Esses adaptadores permitem a ligação dos fragmentos a uma superfície sólida, como uma lâmina. A etapa subsequente é a amplificação cluster, na qual os fragmentos de DNA ligados à superfície são amplificados por meio da reação em cadeia da polimerase (PCR), formando clusters de cópias idênticas de cada fragmento. O sequenciamento propriamente dito é realizado na etapa seguinte. Os clusters de DNA são sequenciados simultaneamente por meio de reações de síntese de DNA. O método mais comum é a síntese por sequenciamento, no qual cada base é incorporada sequencialmente, enquanto a fluorescência gerada é registrada por câmeras. Isso gera sinais que representam a sequência de nucleotídeos. Finalmente, a etapa de análise de dados se inicia. Os dados brutos de sequenciamento são processados para

remover erros e alinhar as sequências com um genoma de referência, quando aplicável. Posteriormente, programas de análise identificam variantes genéticas, genes de interesse ou outras informações relevantes (METZKER, 2009).

11.4 TÉCNICAS DE DIAGNÓSTICO MOLECULAR DISPONÍVEIS

Existem diversos testes de biologia molecular utilizados para detectar e analisar o HPV. Esses testes são específicos para identificar o DNA do vírus em amostras clínicas, como células coletadas do colo do útero, pênis, vulva, ânus, boca ou garganta. Alguns dos principais testes de biologia molecular para o HPV incluem de Amplificação de Ácido Nucléico (NAAT) são baseados em amplificação de ácido nucleico, como a amplificação isotérmica mediada por loop (LAMP) e a amplificação mediada por transcrição (TMA). Ensaio de Genotipagem podem identificar os tipos específicos de HPV presentes em uma amostra. A genotipagem é importante para determinar a presença de tipos de HPV de alto risco associados ao desenvolvimento de câncer. Sequenciamento de DNA é uma técnica que permite determinar a sequência exata do material genético do HPV. Esse teste pode fornecer informações sobre a carga viral do HPV, que está relacionada ao risco de desenvolvimento de lesões cervicais (ARORA et al., 2023).

12. PROGNÓSTICO MOLECULAR

O prognóstico do HPV é um aspecto essencial a ser considerado no contexto da saúde pública, uma vez que essa infecção está associada ao desenvolvimento de lesões precursoras e câncer de colo do útero. A evolução das infecções por HPV pode variar amplamente, desde a resolução a progressão para condições mais graves. Diversos fatores têm sido apontados como determinantes do prognóstico das infecções por HPV, incluindo o tipo de vírus, a persistência da infecção, a carga viral e a resposta imune do hospedeiro (BERNARD et al., 2010).

Estudos epidemiológicos demonstraram que a infecção pelo HPV apresenta uma alta taxa de resolução, especialmente em mulheres jovens e imunocomprometidas. Contudo, a persistência da infecção pelo HPV, particularmente quando causada por tipos de alto risco oncogênico, está associada ao desenvolvimento de lesões cervicais de alto grau e ao aumento do

risco de câncer de colo do útero (MUÑOZ et al., 2003). Nesse contexto, a identificação dos tipos de HPV envolvidos é fundamental para uma melhor avaliação do prognóstico, uma vez que os tipos de alto risco, como HPV-16 e HPV-18, são frequentemente associados ao desenvolvimento de lesões malignas (SCHIFFMAN et al., 2007).

Outro fator prognóstico relevante é a carga viral do HPV, que se refere à quantidade de DNA viral presente nas células infectadas. Estudos têm sugerido que altas cargas virais podem estar associadas a um maior risco de desenvolvimento de lesões cervicais de alto grau e câncer de colo do útero (STRICKLER et al., 2005). Portanto, a quantificação da carga viral do HPV pode ser útil para a estratificação de risco e monitoramento da progressão da infecção.

A resposta imune do hospedeiro também desempenha um papel crucial no prognóstico das infecções por HPV. Indivíduos com sistema imunológico competente têm maior probabilidade de eliminar a infecção pelo HPV e evitar a progressão para lesões cervicais de alto grau e câncer (WANG et al., 2018). Por outro lado, a imunossupressão, seja por condições subjacentes ou uso de medicamentos imunossupressores, pode aumentar o risco de persistência e progressão das repetições por HPV (PALEFSKY, 2006).

Afinal, o prognóstico das infecções por HPV é influenciado por uma interação complexa de fatores virais, do hospedeiro e ambiental. A identificação precoce dos tipos de HPV envolvidos, a avaliação da persistência da infecção, a quantificação da carga viral e a análise da resposta imune do hospedeiro são cruciais para a definição do planejamento individual e para o planejamento de estratégias de prevenção e tratamento adequado, com o objetivo de reduzir a morbidade e mortalidade associada a essa infecção (BERNARD et al., 2010).

Estudos estão explorando as alterações epigenéticas, como metilação do DNA e modificação das histonas, como potenciais marcadores de prognóstico. Essas alterações epigenéticas podem influenciar a expressão gênica e desenvolver um papel na progressão do HPV para o câncer. Bem como, o estudo de biomarcadores de proteína, que além da análise de expressão gênica, a quantificação de proteínas específicas associadas ao HPV, como as proteínas E6 e E7, está sendo investigada como uma maneira de prever o prognóstico da infecção (WU Q., 2022). O NGS é uma nova tecnologia que permite uma análise abrangente do genoma viral e do genoma do hospedeiro.

Isso pode levar à identificação de mutações específicas do HPV e às mudanças genéticas no hospedeiro que afetam a progressão da infecção. O miRNA está sendo explorado na regulação da resposta imunológica e na progressão do HPV. Os miRNAs têm o potencial de servir como biomarcadores moleculares. (MYKLEBUST et al., 2011)

O HPV é conhecido por sua associação com o desenvolvimento de lesões precursoras e câncer cervical. No contexto do prognóstico molecular para o HPV, uma pesquisa tem avançado na identificação de marcadores moleculares que desempenham um papel crítico na previsão da progressão da infecção para doenças mais graves. Estudos recentes se concentraram na análise da expressão gênica de genes específicos relacionados ao ciclo celular, como o gene p16INK4a, e na detecção de variantes genéticas do HPV de alto risco, como HPV16 e HPV18. Esses marcadores moleculares oferecem uma perspectiva promissora para melhorar a estratificação de risco, possibilitando a identificação de pacientes que podem exigir monitoramento mais intensivo ou intervenção terapêutica precoce (PEREIRA, 2020).

13. DISCUSSÃO

Segundo SMITH, 2018, o autor destaca as limitações da triagem nos testes de HPV, evidenciando a descoberta de que mais de um terço desses cânceres invasivos são HPV negativos. Reconhecendo a ineficácia de um programa de rastreamento baseado exclusivamente na infecção do HPV para detectar tais lesões, o autor destaca a importância de considerar as nuances da variabilidade dos tipos histológicos de câncer cervical.

A triagem em saúde pública é projetada para identificar condições de alta prevalência, sendo os carcinomas de células escamosas HPV positivos o principal alvo. Contudo, com o aumento proporcional dos adenocarcinomas endocervicais, o autor, PEREIRA, 2020, enfatiza a necessidade de avaliar a eficácia do rastreamento, especialmente considerando os casos HPV que foram diagnosticados em estágios mais avançados.

Embora o estudo de RONCO et al, 2014, forneça evidências substanciais a favor da eficácia do rastreamento baseado no DNA do HPV, reconhece-se o desafio significativo que as lesões glandulares representam, dada sua história natural parcialmente desconhecida e a associação menos frequente com o HPV. O autor

destaca a importância de mais esforços para aprimorar o diagnóstico de adenocarcinomas HPV. No entanto, apesar dessas limitações, com base na melhor evidência disponível até o momento, a eficácia do rastreamento baseado no HPV continua a ser uma recomendação válida em cenários específicos. Essa posição sugere que, embora haja desafios a serem enfrentados, os benefícios evidentes na detecção do HPV e seus tipos, conforme destacado por RONCO et al., 2014, justificam a continuidade do uso desses testes no contexto do rastreamento do câncer cervical.

Carvalho e colaboradores, 2019 afirmou em sua publicação que existem duas abordagens principais para o diagnóstico, sendo a colposcopia, que consiste em um exame visual do colo do útero, e a biologia molecular, que tem por objetivo a detecção do DNA viral. O autor destaca que, embora a colposcopia apresente vantagens, como a capacidade de oferecer uma avaliação direta das lesões cervicais e a possibilidade de realizar procedimentos imediatos, ela também é afetada pela subjetividade do operador e pelas restrições na detecção de lesões microscópicas. Por outro lado, XU et al., 2021 relatou que a biologia molecular com sua alta sensibilidade e especificidade, oferece uma detecção precoce do HPV, identificando até mesmo infecções subclínicas. Isso é particularmente importante, uma vez que a prevenção do câncer cervical depende em grande parte da detecção precoce das infecções por HPV. No entanto, a biologia molecular tende a ser mais custosa e requer infraestrutura laboratorial.

Conforme observado por EL-ZEIN et al., PUNTAMBEKAR & MANCHANDA, 2018, enquanto a colposcopia se apresenta como uma ferramenta útil para a avaliação visual das lesões cervicais, a biologia molecular se destaca no diagnóstico precoce do HPV, algo que desempenha um papel fundamental na prevenção eficaz do câncer cervical. No âmbito do diagnóstico do HPV, os três autores destacam que várias técnicas de biologia molecular têm demonstrado ser de importância crucial para a detecção e caracterização precisa do vírus, contribuindo de maneira significativa para a prevenção e gestão de infecções virais. Cada uma dessas técnicas se baseia em princípios específicos que exploram características do genoma do HPV, permitindo assim a identificação e quantificação dos diferentes tipos virais. Como apontam EL-ZEIN et al., PUNTAMBEKAR & MANCHANDA, 2018, a compreensão das

metodologias subjacentes a essas técnicas é fundamental para avaliar sua eficácia e aplicabilidade clínica.

14. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A colposcopia é valiosa para avaliar visualmente alterações cervicais, mas não detecta DNA do HPV. A detecção molecular, como a qPCR, é altamente sensível e específica para o HPV, especialmente para variantes de alto risco. A combinação da colposcopia e testes moleculares é a estratégia mais eficaz para triagem e diagnóstico preciso.

REFERÊNCIAS

Aggarwal P, Ben Amor A. Cervical Ectropion. 2023 May 31. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2023 Jan-. PMID: 32809544.

ALSBEIH, Ghazi; AL-HARBI, Najla; EL-SEBAIE, Medhat; AL-BADAWI, Ismail. HPV prevalence and genetic predisposition to cervical cancer in Saudi Arabia. *Infectious Agents And Cancer*, [S.L.], v. 8, n. 1, p. 1-8, 4 maio 2013.

AMORIM, Luana Tainá Lima; MONTEIRO, Nicole Jucá; NOGUEIRA, Laura Maria Vidal; RODRIGUES, Ivaneide Leal Ataíde; ANDRÉ, Suzana Rosa. EXAME DE COLPOCITOLOGIA ONCÓTICA: revisão integrativa. *Revista de Enfermagem e Atenção À Saúde*, [S.L.], v. 7, n. 1, p. 3-15, 7 ago. 2018.

ARAÚJO, Débora Cristina de. Lesões intraepiteliais cervicais HPV induzidas associadas a disbiose vaginal. 2019. 35 f. Tese (Doutorado) - Curso de Farmácia, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Rio Grande do Norte, 2020.

ARBYN, Marc; RONCO, Guglielmo; ANTTILA, Ahti; MEIJER, Chris J.L.M.; POLJAK, Mario; OGILVIE, Gina; KOLIOPOULOS, George; NAUCLER, Pontus; SANKARANARAYANAN, Rengaswamy; PETO, Julian. Evidence Regarding Human Papillomavirus Testing in Secondary Prevention of Cervical Cancer. *Vaccine*, [S.L.], v. 30, p. 88-99, nov. 2012.

ARDHAOUI, Monia; ENNAIFER, Emna; SALIM, Anna Christina de Matos; GOMEZ, Flávio Marcom; LAASILI, Thalja; BOUBAKER, Med Samir; GUIZANI, Ikram. Nested PCR followed by NGS: validation and application for hvp genotyping of tunisian cervical samples. *Plos One*, [S.L.], v. 16, n. 8, p. 12-16, 11 ago. 2021.

ARORA, Rahul; HAYNES, Logan; KUMAR, Mehul; MCNEIL, Reid; ASHKANI, Jahanshah; NAKONESHNY, Steven C.; MATTHEWS, T. Wayne; CHANDARANA, Shamir; HART, Robert D.; JONES, Steven J. M.. NCBP2 and TFRC are novel prognostic biomarkers in oral squamous cell carcinoma. *Cancer Gene Therapy*, [S.L.], v. 30, n. 5, p. 752-765, 12 jan. 2023.

BUCAU, Margot; GAULT, Nathalie; SRITHARAN, Nanthara; VALETTE, Emy; CHARPENTIER, Charlotte; WALKER, Francine; COUVELARD, Anne; ABRAMOWITZ, Laurent. PD-1/PD-L1 expression in anal squamous intraepithelial lesions. *Oncotarget*, [S.L.], v. 11, n. 39, p. 3582-3589, 29 set. 2020.

Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de DST, Aids e Hepatites Virais. Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas para Atenção Integral às Pessoas com Infecções Sexualmente Transmissíveis (IST). Brasília; 2020 :248p. Disponível em: <http://www.aids.gov.br/pt-br/pub/2015/protocolo-clinico-e-diretrizes-terapeuticas-para-atencao-integral-pessoas-com-infeccoes>.

BRUNO, Adriana; SERRAVALLE, Karina; TRAVASSOS, Ana Gabriela; LIMA, Bruno Gil de Carvalho. Distribuição dos genótipos de papilomavírus humano em mulheres do estado da Bahia, Brasil. Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia, [S.L.], v. 36, n. 9, p. 416-422, set. 2014.

BRUNI, Laia; DIAZ, Mireia; BARRIONUEVO-ROSAS, Leslie; HERRERO, Rolando; BRAY, Freddie; BOSCH, F Xavier; SANJOSÉ, Silvia de; CASTELLSAGUÉ, Xavier. Global estimates of human papillomavirus vaccination coverage by region and income level: a pooled analysis. The Lancet Global Health, [S.L.], v. 4, n. 7, p. 453-463, jul. 2016.

CASAROTTO, Mariateresa; FANETTI, Giuseppe; GUERRIERI, Roberto; PALAZZARI, Elisa; LUPATO, Valentina; STEFFAN, Agostino; POLESEL, Jerry; BOSCOLO-RIZZO, Paolo; FRATTA, Elisabetta. Beyond MicroRNAs: emerging role of other non-coding rnas in hpv-driven cancers. Cancers, [S.L.], v. 12, n. 5, p. 1246, 15 maio 2020.

CASCARDI, Eliano; CAZZATO, Gerardo; DANIELE, Antonella; SILVESTRIS, Erica; CORMIO, Gennaro; VAGNO, Giovanni di; MALVASI, Antonio; LOIZZI, Vera; SCACCO, Salvatore; PINTO, Vincenzo. Association between Cervical Microbiota and HPV: could this be the key to complete cervical cancer eradication?. Biology, [S.L.], v. 11, n. 8, p. 1114, 26 jul. 2022.

ÇALIŞKAN, Emel; COŞKUN, Sinem Kantarcioğlu; ÖZTÜRK, Cihadiye Elif; CANGÜR, Şengül; ÖNAIL, Binnur. Analysis of HPV Genotypes and Liquid-Based Cervical Cytology: results from a tertiary academic center in northwestern turkey. Japanese Journal Of Infectious Diseases, [S.L.], v. 74, n. 1, p. 69-72, 29 jan. 2021.

CARVALHO, Maria Odete O.; ALMEIDA, Ricardo W.; LEITE, Fátima M. S.; FELLOWS, Ilza B.; TEIXEIRA, Mariza H.; OLIVEIRA, Ledy H. S.; CAVALCANTI, Silvia M. B.. Detection of human papillomavirus DNA by the hybrid capture assay. Brazilian Journal Of Infectious Diseases, [S.L.], v. 7, n. 2, p. 121-125, abr. 2003.

CINTRA, Ricardo Cesar. Stratifin em Tumores de Cabeça e Pescoço: Um alvo molecular identificado por Phage Display. 2022. 98 f. Tese (Doutorado) - Curso de Bioquímica, Usp Instituto Química, São Paulo, 2022.

Charles J. Sherr O autor está no Howard Hughes Medical Institute, Departamento de Biologia Celular Tumoral, St. Jude Children's Research Hospital, 332 North Lauderdale, Memphis, TN 38105, EUA.

DELABENETA, Mateus F.; COSTA, Dayane B.; PLEWKA, Jacqueline; SANTOS, Maiara Aline; TURKIEWICZ, Maurício. Follow-up of squamous atypia's and the evaluation of the conducts according to the recommendations of the Ministry of Health. *Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial*, [S.L.], v. 57, p. 1-12, jun. 2021.

DELL'AGNOLO, Cátia Millene; ROCHA-BRISCHILIARI, Sheila Cristina Rocha; GRAVENA, Angela Andréia França; LOPES, Tiara Cristina Romeiro; SALDAN, Gabriela; PELLOSO, Sandra Marisa. AVALIAÇÃO DOS EXAMES CITOLÓGICOS DE PAPANICOLAU EM USUÁRIAS DO SISTEMA ÚNICO DE SAÚDE. *Revista Baiana de Saúde Pública*, [S.L.], v. 38, n. 4, p. 854, 16 ago. 2015.

DERCHAIN, Sophie Françoise Mauricette; LONGATTO FILHO, Adhemar; SYRJANEN, Kari Juhani. Neoplasia intra-epitelial cervical: diagnóstico e tratamento. ***Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia***, [S.L.], v. 27, n. 7, p. 7-12, jul. 2005.

DUARTE, Daniel Valim; VIEIRA, Rodrigo Covre; BRITO, Elza Baía de; PINHEIRO, Maria da Conceição Nascimento; MONTEIRO, Jeniffer do Socorro Valente; VALENTE, Mário Diego Rocha; ISHIKAWA, Edna Aoba Yassui; FUZIL, Hellen Thais; SOUSA, Maísa Silva de. Prevalence of Human Papillomavirus Infection and Cervical Cancer Screening among Riverside Women of the Brazilian Amazon. *Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia / Rbgo Gynecology And Obstetrics*, [S.L.], v. 39, n. 07, p. 350-357, 28 jun. 2017.

Elaboração Final: 11 de setembro de 2002 Participantes: Nicolau SM Papilomavírus Humano (HPV): Diagnóstico e Tratamento Autoria: Federação Brasileira das Sociedades de Ginecologia e Obstetrícia

EL-ZEIN, Mariam; BOUTEN, Sheila; LOUVANTO, Karolina; GILBERT, Lucy; GOTLIEB, Walter; HEMMINGS, Robert; BEHR, Marcel A.; FRANCO, Eduardo L.. Validation of a new HPV self-sampling device for cervical cancer screening: the cervical and self-sample in screening (cassis) study. *Gynecologic Oncology*, [S.L.], v. 149, n. 3, p. 491-497, jun. 2018.

FEDERAÇÃO BRASILEIRA DAS SOCIEDADES DE GINECOLOGIA E OBSTETRÍCIA (org.). Papilomavírus Humano (HPV): Diagnóstico e Tratamento. Projeto Diretrizes Associação Médica Brasileira e Conselho Federal de Medicina, Brasília, n. 2, p. 1-19, 12 set. 2002.

FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ. Instituto Nacional de Saúde da Mulher, da Criança e do Adolescente Fernandes Figueira. Portal de Boas Práticas em Saúde da Mulher, da Criança e do Adolescente. Postagens: Coleta e Indicações para o Exame Citopatológico do Colo Uterino. Rio de Janeiro, 25 mai. 2023.

GAO, Ge; WANG, Jintu; KASPERBAUER, Jan L.; TOMBERS, Nicole M.; TENG, Fei; GOU, Honglan; ZHAO, Yonggang; BAO, Zhenhong; SMITH, David I.. Whole genome sequencing reveals complexity in both HPV sequences present and HPV integrations in HPV-positive oropharyngeal squamous cell carcinomas. *Bmc Cancer*, [S.L.], v. 19, n. 1, p. 1-15, 11 abr. 2019.

GARLAND, Suzanne M.; HERNANDEZ-AVILA, Mauricio; WHEELER, Cosette M.; PEREZ, Gonzalo; HARPER, Diane M.; LEODOLTER, Sepp; TANG, Grace W.K.; FERRIS, Daron G.; STEBEN, Marc; BRYAN, Janine. Quadrivalent Vaccine against Human Papillomavirus to Prevent Anogenital Diseases. *New England Journal Of Medicine*, [S.L.], v. 356, n. 19, p. 1928-1943, 10 maio 2007.

GARLAND, Sm; GIULIANO, A.; BROTHERTON, Jml; MOSCICKI, Ab; STANLEY, M.; AMKAUFMANN,; BHATLA, N.; SANKARANARAYANAN, R.; PALEFSKY, Jm; SANJOSE, S. de. IPVS statement moving towards elimination of cervical cancer as a public health problem. *Papillomavirus Research*, [S.L.], v. 5, p. 87-88, jun. 2018.

GOCZE, Katalin. Expressões de MicroRNA em Displasia Cervical e Câncer Induzidos por HPV. *Anticancer Research*. Issue, p. 523-530. Janeiro de 2015.

GOODMAN, Steven R.. Message from the New Editor-in-Chief. *Experimental Biology And Medicine*, [S.L.], v. 231, n. 7, p. 1188-1188, jul. 2006.

GUPTA, Shilpi; KUMAR, Prabhat; DAS, Bhudev C.. HPV: molecular pathways and targets. *Current Problems In Cancer*, [S.L.], v. 42, n. 2, p. 161-174, mar. 2018.

HARDEN, Mallory E.; MUNGER, Karl. Human papillomavirus molecular biology. *Mutation Research/Reviews In Mutation Research*, [S.L.], v. 772, p. 3-12, abr. 2017.

HOORFAR, J.; MALORNY, B.; ABDULMAWJOOD, A.; COOK, N.; WAGNER, M.; FACH, P.. Practical Considerations in Design of Internal Amplification Controls for Diagnostic PCR Assays. *Journal Of Clinical Microbiology*, [S.L.], v. 42, n. 5, p. 1863-1868, maio 2004.

Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva. Coordenação de Prevenção e Vigilância. Divisão de Detecção Precoce e Apoio à Organização de Rede. Diretrizes brasileiras para o rastreamento do câncer do colo do útero /

Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva. Coordenação de Prevenção e Vigilância. Divisão de Detecção Precoce e Apoio à Organização de Rede. – 2. ed. rev. atual. – Rio de Janeiro: INCA, 2016.

JAIN, Shikha; NEHRA, Monika; KUMAR, Rajesh; DILBAGHI, Neeraj; HU, Tonyy.; KUMAR, Sandeep; KAUSHIK, Ajeet; LI, Chen-Zhong. Internet of medical things (IoMT)-integrated biosensors for point-of-care testing of infectious diseases. *Biosensors And Bioelectronics*, [S.L.], v. 179, p. 113074, maio 2021.

Karl Münger, Peter M Howley, Human papillomavirus immortalization and transformation functions, *Virus Research*, Volume 89, Issue 2, 2002, Pages 213-228

KATZ, Letícia Maria Correia; SOUZA, Alex Sandro Rolland; FITTIPALDI, Simone Oliveira; SANTOS, Gisele de Melo; AMORIM, Melania Maria Ramos. Concordância entre citologia, colposcopia e histopatologia cervical. *Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia*, [S.L.], v. 32, n. 8, p. 368-373, ago. 2010.

KEUNG, Jonathan J.; ESPIÕES, James B.; CARIDI, Theresa M.. Embolização das artérias uterinas: uma revisão dos conceitos atuais. *Melhores Práticas e Pesquisa Clínica em Obstetrícia e Ginecologia* , [SL], v. 66-73, jan. 2018.

KOMBE, Arnaud John Kombe; ZOA-ASSOUMOU, Samira; BOUNDA, Guy-Armel; NSOLE-BITEGHE, Fleury-Augustin; JIN, Tengchuan; ZOURÉ, Abdou Azaque. Advances in Etiopathological Role and Control of HPV in Cervical Cancer Oncogenesis. *Frontiers In Bioscience-Landmark*, [S.L.], v. 28, n. 10, p. 245, 19 out. 2023.

LACROIX, Guillaume; GOUYER, Valérie; GOTTRAND, Frédéric; DESSEYN, Jean-Luc. The Cervicovaginal Mucus Barrier. *International Journal Of Molecular Sciences*, [S.L.], v. 21, n. 21, p. 8266, 4 nov. 2020.

LETO, Maria das Graças Pereira; SANTOS JÚNIOR, Gildo Francisco dos; PORRO, Adriana Maria; TOMIMORI, Jane. Infecção pelo papilomavírus humano: etiopatogenia, biologia molecular e manifestações clínicas. *Anais Brasileiros de Dermatologia*, [S.L.], v. 86, n. 2, p. 306-317, abr. 2011.

LIU, Xiaoxing; CHEN, Haiyan; HOU, Yanli; MA, Xiumei; YE, Ming; HUANG, Renhua; HU, Bin; CAO, Hongbin; XU, Lei; LIU, Mengyao. Adaptive EGF expression sensitizes pancreatic cancer cells to ionizing radiation through activation of the cyclin D1/P53/PARP pathway. *International Journal Of Oncology*, [S.L.], v. 2, n. 2, p. 1466-1480, 19 fev. 2019.

LIMA, Hyale Melo; MENDES, Sara Araújo de Medeiros; TENÓRIO, Eduardo Nunes; NEVES, Paloma Gonçalves Pimenta da Veiga; FAGUNDES, Thais da

Silva Cardoso; FARIAS, Isabel Cristina Lemos; GOMES, Lauana; PAIVA, Thaís Teixeira Barbosa. Rastreo de Câncer de Colo de Útero pelo DNA do HPV. **Brazilian Journal Of Health Review**, [S.L.], v. 6, n. 2, p. 5897-5908, 20 mar. 2023.

LIN, Guigao; LI, Jinming. Circulating HPV DNA in HPV-associated cancers. *Clinica Chimica Acta*, [S.L.], v. 542, p. 117269, mar. 2023.

MARTEL, Catherine de; PLUMMER, Martyn; VIGNAT, Jerome; FRANCESCHI, Silvia. Worldwide burden of cancer attributable to HPV by site, country and HPV type. *International Journal Of Cancer*, [S.L.], v. 141, n. 4, p. 664-670, 8 jun. 2017.

MAVER, P.J.; POLJAK, M.. Primary HPV-based cervical cancer screening in Europe: implementation status, challenges, and future plans. *Clinical Microbiology And Infection*, [S.L.], v. 26, n. 5, p. 579-583, maio 2020.

MOODY, Cary A.; LAIMINS, Laimonis A.. Human papillomavirus oncoproteins: pathways to transformation. *Nature Reviews Cancer*, [S.L.], v. 10, n. 8, p. 550-560, 1 jul. 2010.

MONGELÓS, Pamela; PÁEZ, Malvina; RODRIGUEZ-RIVEROS, Isabel; GIMÉNEZ, Graciela; CASTRO, Amalia; MENDOZA, Laura. Detección del virus del papiloma humano de alto riesgo por captura híbrida II® según hallazgos citológicos en mujeres tratadas por lesiones escamosas intraepiteliales de cuello uterino, período 2006/2010. *Revista Brasileira de Epidemiologia*, [S.L.], v. 16, n. 1, p. 40-48, mar. 2013.

MUÑOZ, Nubia; BOSCH, F. Xavier; SANJOSÉ, Silvia de; HERRERO, Rolando; CASTELLSAGUÉ, Xavier; SHAH, Keerti V.; SNIJDERS, Peter J.F.; MEIJER, Chris J.L.M.. Epidemiologic Classification of Human Papillomavirus Types Associated with Cervical Cancer. *New England Journal Of Medicine*, [S.L.], v. 348, n. 6, p. 518-527, 6 fev. 2003.

MYKLEBUST, M P; BRULAND, O; FLUGE, Ø; A SKARSTEIN,; BALTESKARD, L; DAHL, O. MicroRNA-15b is induced with E2F-controlled genes in HPV-related cancer. *British Journal Of Cancer*, [S.L.], v. 105, n. 11, p. 1719-1725, nov. 2011.

NAHAND, Javid Sadri; MOGHOOFEI, Mohsen; SALMANINEJAD, Arash; BAHMANPOUR, Zahra; KARIMZADEH, Mohammad; NASIRI, Mitra; MIRZAEI, Hamid Reza; POURHANIFEH, Mohammad Hossein; BOKHARAEI-SALIM, Farah; MIRZAEI, Hamed. Pathogenic role of exosomes and microRNAs in HPV-mediated inflammation and cervical cancer: a review. *International Journal Of Cancer*, [S.L.], v. 146, n. 2, p. 305-320, 31 out. 2019.

OKUNADE, Kehinde Sharafadeen. Human papillomavirus and cervical cancer. *Journal Of Obstetrics And Gynaecology*, [S.L.], v. 40, n. 5, p. 602-608, 10 set. 2019.

ORAL, Evrim; SIMONSEN, Neal; BRENNAN, Christine; BERKEN, Jennifer; SU, L. Joseph; MOHLER, James L.; BENSEN, Jeannette T.; FONTHAM, Elizabeth T. H.. Unit Nonresponse in a Population-Based Study of Prostate Cancer. *Plos One*, [S.L.], v. 11, n. 12, p. 0168364, 16 dez. 2016.

PEREIRA-LOURENÇO, Mário; BRITO, Duarte Vieira e; ELISEU, Miguel; CASTELO-BRANCO, Noémia; PERALTA, João Pedro; GODINHO, Ricardo; CONCEIÇÃO, Paulo; REIS, Mário; RABAÇA, Carlos; SISMEIRO, Amílcar. Prognostic value of p16INK4a overexpression in penile cancer. **Archivio Italiano di Urologia e Andrologia**, [S.L.], v. WU, Qingqing; SHAO, Tingru; HUANG, Guangzhao; ZHENG, Zenan; JIANG, Yingtong; ZENG, Weisen; LV, Xiaozhi. FDCSP Is an Immune-Associated Prognostic Biomarker in HPV-Positive Head and Neck Squamous Carcinoma. **Biomolecules**, [S.L.], v. 12, n. 10, p. 1458, 12 out. 2022.

PETO, J; GILHAM, C; DEACON, J; TAYLOR, C; EVANS, C; BINNS, W; HAYWOOD, M; ELANKO, N; COLEMAN, D; YULE, R. Cervical HPV infection and neoplasia in a large population-based prospective study: the manchester cohort. **British Journal Of Cancer**, [S.L.], v. 91, n. 5, p. 942-953, ago. 2004.

PINATTI, L.M.; WALLINE, H.M.; CAREY, T.e.. Human Papillomavirus Genome Integration and Head and Neck Cancer. *Journal Of Dental Research*, [S.L.], v. 97, n. 6, p. 691-700, 11 dez. 2017.

PUNTAMBEKAR, Shailesh; MANCHANDA, Ranjit. Surgical pelvic anatomy in gynecologic oncology. *International Journal Of Gynecology & Obstetrics*, [S.L.], v. 143, n. 2, p. 86-92, out. 2018.

RAOULT, Didier. TRUC or the Need for a New Microbial Classification. *Intervirology*, [S.L.], v. 56, n. 6, p. 349-353, 2013.

REN, J.; XU, W.; SU, J.; REN, X.; BENDER, N.; HABBOUS, S.; ALMEIDA, J.R. de; GOLDSTEIN, D.P.; CHENG, D.; CHEN, Z.. HPV Status Improves Classification of Head and Neck Gray Zone Cancers. *Journal Of Dental Research*, [S.L.], v. 98, n. 8, p. 879-887, jul. 2019.

RÍO-OSPINA, Luisa del; LEÓN, Sara Cecilia Soto-De; CAMARGO, Milena; MORENO-PÉREZ, Darwin Andrés; SÁNCHEZ, Ricardo; PÉREZ-PRADOS, Antonio; PATARROYO, Manuel Elkin; PATARROYO, Manuel Alfonso. The DNA load of six high-risk human papillomavirus types and its association with cervical lesions. *Bmc Cancer*, [S.L.], v. 15, n. 1, p. 11-12, 5 mar. 2015.

RONCO, Guglielmo; DILLNER, Joakim; ELFSTRÖM, K Miriam; TUNESI, Sara; SNIJDERS, Peter J F; ARBYN, Marc; KITCHENER, Henry; SEGNAN, Nereo; GILHAM, Clare; GIORGI-ROSSI, Paolo. Efficacy of HPV-based screening for prevention of invasive cervical cancer: follow-up of four european randomised controlled trials. **The Lancet**, [S.L.], v. 383, n. 9916, p. 524-532, fev. 2014.

ROSA, Luciana Martins da; HAMES, Maria Eduarda; DIAS, Mirella; MIRANDA, Gisele Martins; BAGIO, Camila Beltrame; SANTOS, Maristela Jeci dos; KALINKE, Luciana Puchalski. Epidemiological profile of women with gynecological cancer in brachytherapy: a cross-sectional study. **Revista Brasileira de Enfermagem**, [S.L.], v. 74, n. 5, p. 9-22, nov. 2021.

ROSSI, Paolo Giorgi; CAROZZI, Francesca; RONCO, Guglielmo; ALLIA, Elena; BISANZI, Simonetta; GILLIO-TOS, Anna; MARCO, Laura de; RIZZOLO, Raffaella; GUSTINUCCI, Daniela; MISTRO, Annarosa del. P16/ki67 and E6/E7 mRNA Accuracy and Prognostic Value in Triaging HPV DNA-Positive Women. *Jnci: Journal of the National Cancer Institute*, [S.L.], v. 113, n. 3, p. 292-300, 3 ago. 2020.

SANJOSE, Silvia de; QUINT, Wim Gv; ALEMANY, Laia; GERAETS, Daan T; KLAUSTERMEIER, Jo Ellen; LLOVERAS, Belen; TOUS, Sara; FELIX, Ana; BRAVO, Luis Eduardo; SHIN, Hai-Rim. Human papillomavirus genotype attribution in invasive cervical cancer: a retrospective cross-sectional worldwide study. *The Lancet Oncology*, [S.L.], v. 11, n. 11, p. 1048-1056, nov. 2010.

SANTOS, Joana; SILVA, Sara Peixoto da; COSTA, Natália; COSTA, Rui Gil da; MEDEIROS, Rui. The Role of MicroRNAs in the Metastatic Process of High-Risk HPV-Induced Cancers. *Cancers*, [S.L.], v. 10, n. 12, p. 493, 5 dez. 2018.

SANTOS, Késia Camila de Souza. HPV: PRINCIPAIS MÉTODOS DE DETECÇÃO E PREVENÇÃO. *Revista Acadêmica Oswaldo Cruz*, São Paulo, n. 1, p. 1-12, set. 2022.

SCHIFFMAN, Mark; WENTZENSEN, Nicolas. From Human Papillomavirus to Cervical Cancer. **Obstetrics & Gynecology**, [S.L.], v. 116, n. 1, p. 177-185, jul. 2010.

SEGURA, Marcos Emanuel de Alcântara. Comments on: limitations of hpv dna testing in screening of cervical adenocarcinomas. *Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia / Rbgo Gynecology And Obstetrics*, [S.L.], v. 41, n. 02, p. 133-134, fev. 2019.

SILVA, Valéria Rufino da; LIMA, Luciene Ferreira de. Papilomavírus humano (hpv) e o câncer cervical: o entendimento de universitárias da unidade

descentralizada de campos sales : ce. **Revista da Biologia**, [S.L.], v. 20, n. 1, p. 4-9, 29 out. 2020.

SMITH, Elizabeth R.; GEORGE, Sophia H.; KOBETZ, Erin; XU, Xiang-Xi. New biological research and understanding of Papanicolaou's test. *Diagnostic Cytopathology*, [S.L.], v. 46, n. 6, p. 507-515, 16 abr. 2018.

TAO, Zexin; WANG, Haiyan; ZHANG, Wenqiang; XU, Aiqiang. Novel astrovirus types circulating in Shandong Province (Eastern China) during 2016: a clinical and environmental surveillance. *Journal Of Clinical Virology*, [S.L.], v. 116, p. 69-73, jul. 2019.

WOLFFS, Petra; NORLING, Börje; RÅDSTRÖM, Peter. Risk assessment of false-positive quantitative real-time PCR results in food, due to detection of DNA originating from dead cells. *Journal Of Microbiological Methods*, [S.L.], v. 60, n. 3, p. 315-323, mar. 2005.

XHAJA, Arjola; AHR, André; ZEISER, Ilona; IKENBERG, Hans. Two Years of Cytology and HPV Co-Testing in Germany: initial experience. *Geburtshilfe Und Frauenheilkunde*, [S.L.], v. 82, n. 12, p. 1378-1386, 16 ago. 2022.

XU, Zhiwei; ZHANG, Yaqin; OCANSEY, Dickson K. W.; WANG, Bo; MAO, Fei. Glycosylation in Cervical Cancer: new insights and clinical implications. *Frontiers In Oncology*, [S.L.], v. 11, p. 4-9, 16 ago. 2021.

ZENÓBIO, Fernandes Rodrigues de Oliveira. Comparação do desempenho entre a citopatologia-colposcopia e os achados da histopatologia nas lesões do colo uterino. 2007. 71 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Patologia, Ufpe, Pernambuco, 2008.

ZIĘBA, Sebastian; CHECHLIŃSKA, Magdalena; KOWALIK, Artur; KOWALEWSKA, Magdalena. Genes, pathways and vulvar carcinoma - New insights from next-generation sequencing studies. *Gynecologic Oncology*, [S.L.], v. 158, n. 2, p. 498-506, ago. 2020.

ZUR HAUSEN, Harald. Papillomaviruses and cancer: from basic studies to clinical application. *Nature Reviews Cancer*, [S.L.], v. 2, n. 5, p. 342-350, maio 2002.

