

PAPILOMAVÍRUS HUMANO (HPV) - MECANISMOS MOLECULARES ASSOCIADOS AO CÂNCER DE COLO DE ÚTERO, PROFILAXIA E TÉCNICAS PARA O DIAGNÓSTICO.

Suelen Rodrigues Lima ¹, Paulo César Gregório¹, Caroline Cardozo Gasparin¹

Artigo de Revisão

RESUMO

O *Papilomavírus humano* (HPV) pertence à família *Papillomaviridae* e demonstra uma grande variabilidade genética, havendo, atualmente, mais de 200 tipos virais. Dentre eles, alguns possuem uma forte associação com o câncer de colo de útero, terceiro tipo mais frequente em mulheres. Dada a relevância do assunto, o objetivo da pesquisa foi descrever a estrutura viral, classificações, doenças associadas à infecção, formas de detecção e prevenção. A partir de um levantamento de dados realizado em plataformas digitais (Pubmed e Scielo), sites governamentais e livros, verificou-se que há variantes do HPV classificadas como tendo “alto” ou “baixo potencial oncogênico”. Dentre os vírus considerados de alto risco oncogênico os mais frequentes são os genótipos 16 e 18, sendo possível destacar que combinações entre genótipos têm sido encontradas em cânceres de colo uterino. Acredita-se que a desregulação da expressão dos genes *E6* e *E7* estaria associada às manifestações do câncer. A neoplasia pré-maligna do colo de útero tem um impacto significativo na saúde pública e as alterações nas células e efeitos citopatológicos causados pelo HPV podem ser observados por meio do exame Papanicolaou, o qual é disponibilizado pelo Sistema Único de Saúde (SUS). Além disso, tem sido desenvolvido vários testes moleculares para a identificação do DNA viral, além de vacinas como instrumentos de profilaxia. Conclui-se, portanto, que há uma nítida associação entre infecções por HPV e vários tipos de câncer, sendo o que acomete o colo uterino o mais discutido e devido à problematização dele decorrente faz-se necessário cada vez mais um estudo aprofundado sobre o tema. Destaca-se ainda que a detecção precoce e a busca por assistência médica são essenciais para um bom prognóstico dessa neoplasia.

Palavras-chave: *Papilomavírus*, HPV, câncer de colo de útero, diagnóstico molecular.



HUMAN PAPILOMAVIRUS (HPV) - MOLECULAR MECHANISMS ASSOCIATED WITH CERVICAL CANCER, PROPHYLAXIS AND TECHNIQUES FOR DIAGNOSIS.

ABSTRACT

The *Human Papillomavirus* (HPV) belongs to the *Papillomaviridae* family and demonstrates a great genetic variability, currently having more than 200 viral types. Among them, some have a strong association with cervical cancer, the third most common type in women. Given the relevance of this topic, the objective of the research was to describe the viral structure, classifications, diseases associated with the infection, methods of detection and prevention. Scientific materials was analyzed from a digital platforms (Pubmed and Scielo), government websites and books and it was found that there are HPV classified as high and *low-risk* genotypes according to their *oncogenic potential*. Among the viruses considered of high-risk, the most frequent are genotypes 16 and 18, and it is possible to highlight that combinations between genotypes have been found in cervical cancers. It is possible that deregulation of the expression of the *E6* and *E7* genes would be associated with the manifestations of cancer. Cervical premalignant neoplasia has a significant impact on public health and changes in cells and cytopathological effects caused by HPV can be observed through the Papanicolaou test, which is provided by the Unified Health System (SUS). In addition, several molecular tests have been developed for the identification of viral DNA, besides vaccines as prophylaxis instruments. It is concluded, therefore, that there is a clear association between HPV infections and many types of cancer and the cervical cancer is the most discussed. Therefore, is relevant an in-depth study on the subject. It is also noteworthy that early detection and the search for medical assistance are essential for a good prognosis for this neoplasm.

Keywords: *Papillomavirus*, HPV, cervical cancer, molecular diagnosis.

Instituição afiliada– UniEnsino – Centro Universitário do Paraná

Dados da publicação: Artigo recebido em 20 de Dezembro e publicado em 30 de Janeiro de 2024.

DOI: <https://doi.org/10.36557/2674-8169.2024v6n1p215-2163>

Autor correspondente: *Caroline Cardozo Gasparin* carolinecardozogasparin@gmail.com

This work is licensed under a [Creative Commons Attribution 4.0 International License](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).





INTRODUÇÃO

O *Papilomavírus Humano* (HPV) tem se destacado grandemente como um precursor do câncer de colo de útero - terceiro tipo de câncer mais frequente em mulheres (INCA, 2023a). O estudo desse patógeno tem revelado um significativo aumento nas taxas de infecção por ele causadas e uma grande variabilidade genética. Dentre os mais de 200 tipos virais já identificados, alguns são classificados como tendo um alto potencial oncogênico, destacando-se o 16 e o 18, enquanto outros possuem uma baixa capacidade de desenvolver lesões cancerosas (INCA, 2023a; INCA, 2023b; FLORES; LAMBERT, 1997; BURD, 2003; INCA, 2022a).

Observa-se que alterações celulares associadas ao processo canceroso e efeitos citopáticos virais são observáveis através dos exames de Papanicolau, porém, testes moleculares têm contribuído de forma significativa para a detecção do patógeno (HARRO et al., 2001; CARVALHO; ZONZINI, 2023). Além disso, vacinas vêm sendo elaboradas e atualizadas como forma de profilaxia a determinados tipos virais (ANVISA, 2022; CHRYSOSTOMOU et al., 2018).

É notável ainda que muitas são as tecnologias capazes de detectar/identificar o genótipo de HPV, sendo esta uma característica relevante, visto que estes são classificados quanto sua capacidade oncogênica. Além disso, a genotipagem permite o acompanhamento dos tipos virais mais frequentes em determinadas regiões e em certo período de tempo. Assim, com o avanço tecnológico é possível não só avaliar o efeito citopático do vírus em lâmina de citopatologia, mas também é possível detectar seu próprio DNA através de metodologias de ponta, tais como PCR, Captura híbrida e Flow Chip (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2022; FILHO, 2021; RAMOS, 2013; OTHMAN; GOREAL; PITY, 2022; HERRAEZ-HERNANDEZ, et al., 2013; VITRO, 2023; VITRO, 2019; KUBISTA et al., 2006; RODRIGUES, et al., 2009; BRUCE et al., 2017).

Dessa forma, dada a forte associação entre infecções por certas variantes de HPV e câncer de colo de útero, bem como o grande impacto que essa doença tem sobre as políticas de saúde pública, o objetivo desse trabalho foi descrever a estrutura viral, atuais classificações, patologias por ele causadas, formas de detecção e prevenção.



METODOLOGIA

O presente trabalho constitui uma revisão literária, cujos dados foram coletados de artigos científicos procurados nos portais PubMed e Scielo, além de informações encontradas em livros e sites governamentais. Os descritores utilizados para a busca online foram “Papilomavírus”, “HPV” e “diagnóstico molecular de HPV”. Os documentos selecionados para essa pesquisa respondiam às seguintes perguntas norteadoras “Quais genótipos de HPV estão mais associados ao câncer de colo de útero?”, “Qual o mecanismo molecular do HPV associado ao câncer?” e “Qual a possibilidade de um diagnóstico e prognóstico mais precoce dessa infecção?”.

RESULTADOS

Dada a relevância do tema, a seguir algumas descrições elucidativas foram organizadas para permitir a melhor compreensão do tema, abordando desde a localização do colo do útero, estrutura e tipos de HPV até os métodos de detecção desse processo infeccioso.

Estrutura do colo uterino, diagnóstico de lesões e do HPV

O útero constitui o aparelho reprodutor feminino, localizado no abdômen inferior, posterior à bexiga e na frente do reto, sendo dividido em duas porções: o corpo e o colo. O colo, por sua vez, corresponde a porção inferior que se localiza dentro do canal vaginal. O colo uterino é dividido em duas partes, sendo elas a interna, que constitui o endocérvice, formado por células que se organizam em um epitélio colunar simples produtor de muco, e a externa denominada ectocérvice, revestida por várias camadas de tecidos de epitélio escamoso e estratificado, sendo a porção entre eles chamada de junção escamo-colunar (JEC). De acordo com a situação hormonal da mulher, a JEC pode estar mais próxima a ectocérvice ou a endocérvice e representa um local extremamente relevante para análise, pois mais de 90% das lesões precursoras



ou malignas do colo uterino aí se localizam (BRASIL, 2013).

Verifica-se que a citologia oncótica tem desempenhado papel fundamental na detecção precoce de lesões precursoras do câncer. O exame de Papanicolaou, desenvolvido por George N. Papanicolaou e HF Traut em 1941, conhecido como preventivo, é realizado através da raspagem da junção escamo-colunar (JEC), sendo realizado com esse material um esfregaço em lâmina, a qual é corada e, posteriormente, analisada via microscópio. O principal objetivo desta técnica é a identificação precoce de anomalias celulares relacionadas a câncer e a infecções, reduzindo, desta forma, a mortalidade das pacientes. Trata-se de uma técnica indolor, simples e de rápida coleta. Cabe ao profissional que irá realizar este exame orientar a paciente sobre os requisitos para sua realização, tais como a abstinência de relações sexuais nos dois dias que o antecedem, evitar uso de medicamentos vaginais e duchas, além da necessidade de estar fora do período menstrual (CHANTZANTONIOU *et al.*, 2017).

Câncer Cervical

Os casos de câncer cervical representam um importante problema na sociedade atual, sendo 84% de sua frequência associada a infecções pelo HPV. Observa-se que a faixa etária mais afetada pelo vírus corresponde a mulheres entre 30 e 60 anos, tendo, portanto, uma ampla faixa de abrangência e demonstrando um grande impacto na área de saúde pública (WHO, 2017). Além disso, sua transmissão se dá pela forma sexual, não havendo a necessidade de sexo com penetração (INCA, 2022a; INCA, 2022b).

Verifica-se a existência de uma grande variabilidade de HPV, tendo sido identificadas aproximadamente 200 variantes, das quais algumas vêm sendo fortemente associados ao desenvolvimento de diversos tipos de câncer, destacando-se os de colo de útero, de vulva, vagina, pênis, ânus e orofaringe (BURD, 2003; INCA, 2022a; INCA, 2022b). Assim, de acordo com a capacidade de desenvolver câncer, os vírus encontrados na região anogenital são classificados como tendo “baixo risco ou potencial oncológico” (9, 11, 40, 42, 43, 54, 61, 70, 72, 81) - usualmente associados ao



desenvolvimento de condilomas ou lesões de pequeno risco - e “HPVs de alto risco” (16, 18, 31, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68, 73, 82) – tipos com maior possibilidade de gerar lesões de alto risco oncológico, sendo o genótipo 16 o mais prevalente (WHO, 2017).

De acordo com o Instituto Nacional de Câncer (INCA), foram esperados 16.710 casos novos de câncer de colo de útero, com um risco estimado de 15,38 casos a cada 100 mil mulheres em 2022 (INCA, 2023a). Além disso, estima-se que essa neoplasia se manteria no Brasil, como o terceiro tipo de câncer com maior incidência entre o público feminino (INCA, 2022b).

Características estruturais do HPV e sua associação com o Câncer Cervical

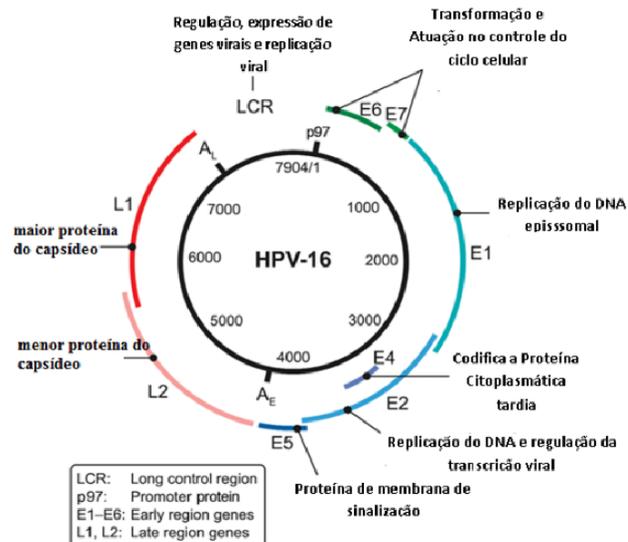
O HPV é um vírus tumoral de DNA não envelopado pertencente à família *Papillomaviridae*, com 55 nm de diâmetro e que apresenta tropismo por tecidos epiteliais escamosos estratificados (VIRALZONE, 2010, 2012). Na Figura 1, pode-se observar a estrutura básica dos vírus pertencentes a essa família. Seu genoma possui três regiões bastante relevantes: a região distal (L), que apresenta dois genes - *L1* e *L2* – os quais possuem importantes papéis estruturais e na entrada do vírus na célula; a região proximal E demonstra até oito genes (*E1* a *E8*), os quais estão associados a replicação do HPV (*E1* e *E2*), transcrição do DNA (*E2*), maturação e liberação das partículas virais (*E4*), transformação celular (*E5*, *E6*, *E7*) e imortalização (*E6* e *E7*); há, por fim, uma longa região de controle (LCR), associada a vários locais que contêm fatores de transcrição nucleares e virais (BURD, 2003; WHO, 2007; LETO *et al.*, 2011; SOUZA *et al.*, 2007; NAKAGAWA; SCHIRMER; BARBIERI; 2010).

Verifica-se que ao infectar a célula do colo uterino, o genoma de HPV pode ser integrado aos cromossomos humanos, sendo esse fato observado na maioria das lesões de alto grau e do câncer cervical. Tal integração é extremamente relevante para a transformação celular oncogênica. Acredita-se que a incorporação do DNA viral, desregula a expressão dos genes *E6* e *E7*. Estudos têm demonstrado que as proteínas expressas por esses genes, *E6* e *E7*, estariam relacionadas às manifestações do câncer. Estas interagem com importantes fatores relacionados ao ciclo celular. A *E6* inibe a função da *p53*, que, por sua vez, controla a resposta celular ao estresse, incluindo dano

ao DNA e infecção viral; já a proteína E7 inibe a função do Rb, que previne a divisão celular, bloqueando a atividade de fatores de transcrição (DOORBAR, 2005; DE VILLIERS, *et al.* 2004; BURD, 2003; MÜNGER, 2002; WHO, 2007; HEBNER; LAIMINS, 2006; NAKAGAWA; SCHIRMER; BARBIERI, 2010; INCA, 2023b).

Dessa forma, em decorrência dessas interações, haveria uma perturbação no ciclo celular, culminando em prejuízo da função da p53, redução do apoptose e, conseqüente, morte celular. Assim, a replicação exacerbada e desordenada do epitélio de revestimento do colo do útero, característica do câncer de colo de útero, seria proveniente dessas alterações moleculares. Observa-se ainda que o processo infeccioso se dá a nível epitelial, sendo que o tecido do paciente acometido por um ou mais tipos oncogênicos do HPV pode desenvolver uma lesão pré-cancerosa, a qual em cerca de uma década ou mais pode progredir para um carcinoma invasor (DE VILLIERS, *et al.* 2004; BURD, 2003; MÜNGER, 2002; WHO, 2007; HEBNER; LAIMINS, 2006; NAKAGAWA; SCHIRMER; BARBIERI, 2010; INCA, 2023b; KLEIN; WEINHOUSE, 1980).

Figura 1. Estrutura viral da família *Papillomaviridae*.



Fonte: LUVISARO (2018); PYEON; LAMBERT; AHLQUIST (2005).

Sendo os tipos de HPV classificados em alto ou baixo potencial oncogênico, verifica-se que algumas variantes possuem uma maior prevalência (WHO, 2017). Observa-se claramente que dentro do grupo de alto risco, há genótipos mais associados a casos de câncer, destacando-se o HPV 16 e 18 (COSTA *et al.*, 2019; INCA,



2022a). Tal fato é corroborado por Costa *et al.* (2019), os quais encontraram uma forte ligação entre a combinação de subtipos virais e a ocorrência dessa patologia. Ao avaliarem os genótipos 16, 18, 31, 33, 6 e 11 em 64 mulheres com adenocarcinoma cervical e 219 controles no estado de Pernambuco, observaram que a combinação entre dois ou mais subtipos de alto potencial oncogênico se revelou significativamente associada a esse tipo de câncer. Além disso, constataram que a ausência de realização de exames preventivos constituiu um fator importante para o desenvolvimento de neoplasia, demonstrando, assim, a urgente necessidade de uma maior cobertura dos programas de saúde, principalmente em regiões mais pobres (COSTA *et al.*, 2019).

De forma similar, Burd (2003) também destaca a ligação entre os tipos 16 e 18, além dos tipos 31 e 45, observados em cânceres cervicais (BURD, 2003). Esta ligação também é notável no estudo feito por Muñoz *et al.* (2003), onde analisou-se a presença do DNA do HPV em mulheres com câncer cervical (1.918 pacientes) e em pacientes controles (1.928 mulheres). Nesta pesquisa, seus resultados mostraram que o DNA do vírus estava presente em 90,7% das pacientes com câncer e 13,4% no grupo controle (MUÑOZ *et al.*, 2003). De acordo com o estudo, os tipos mais comuns encontrados nas pacientes com câncer cervical foram os genótipos 16, 18, 45, 31, 33, 52, 58 e 35, em ordem decrescente de frequência (MUÑOZ *et al.*, 2003). No entanto, verificou-se que nos controles se manteve a mesma prevalência, porém o genótipo 6 ocupou a posição da variante 52 (MUÑOZ *et al.*, 2003). A partir dessa análise, é possível perceber que genótipos classificados como sendo de alto potencial oncogênico têm uma forte associação com desenvolvimento de câncer de colo de útero, mas sua presença não constitui uma sentença para a ocorrência dessa patologia. Logo, mesmo na presença viral, outros fatores podem estar associados à doença. Porém, mulheres portadoras de genótipos específicos de HPV têm uma chance 158,2 vezes maior de desenvolver câncer cervical em comparação com aquelas sem HPV (MUÑOZ *et al.*, 2003).

Ademais, a pesquisa conduzida por Nakagawa (2010) também corrobora com outros autores, ao novamente destacar que mulheres com o HPV 16 e 18 têm um risco maior em desenvolver o câncer cervical comparado a infecções por outros tipos virais (NAKAGAWA; SCHIRMER; BARBIERI; 2010; COSTA *et al.*, 2019; INCA, 2022a; BURD, 2003; MUÑOZ *et al.*, 2003). Assim através de vários estudos está claro a importância



da detecção precoce e prevenção de HPV como uma forma de profilaxia contra o câncer cervical (COSTA *et al.*, 2019; BURD, 2003; MUÑOZ *et al.*, 2003).

Profilaxia

Dada a relevância dessa infecção viral, muitos testes moleculares vêm sendo elaborados para sua identificação precoce, e, como instrumento profilático, vacinas vêm sendo desenvolvidas (ANVISA, 2022; CHRYSOSTOMOU *et al.*, 2018).

A Organização Mundial de Saúde (OMS) preconiza a inclusão da vacinação contra o HPV nos programas nacionais de imunização, devendo-se destacar que a prevenção do câncer de colo de útero tem maior eficácia se a vacina for aplicada em meninas que ainda não iniciaram sua atividade sexual. A vacina usada no Brasil foi implementada em 2014 e abrangia a prevenção contra quatro genótipos de HPV (6, 11, 16 e 18), estando disponível para meninas de 9 a 14 anos, e para meninos de 11 a 14 anos (WHO, 2017). No entanto, no final de 2022, foi aprovado pela ANVISA, o Gardasil 9 - novo imunizante que protege o organismo contra sete tipos de HPV de alto risco e duas variantes de baixo potencial oncogênico. Fica, evidente, portanto, que a proteção proporcionada por essa vacina é mais ampla, devendo-se destacar que é indicada para jovens de ambos os gêneros com idade variando entre 9 a 26 anos (ANVISA, 2022; CHRYSOSTOMOU *et al.*, 2018). Assim, temos atualmente implementadas 3 vacinas licenciadas no Brasil, a bivalente (HPV2 - Licenciada pela GSK em 2007 embora tenha ocorrido interrupção de produção em 2021. O imunizante confere proteção contra infecções causadas pelo HPV-16 e 18), quadrivalente (HPV4 - fabricada pela MSD e licenciada desde 2006 e até hoje faz parte do calendário da rede pública, abrangendo proteção contra os genótipos 6, 11, 16 e 18), e a mais nova nonavalente (HPV9 - fabricação pela MSD e licenciada em 2017 com a disponibilidade a partir de 2023, conferindo proteção contra os tipos 6, 11, 16 e 18, além dos genótipos 31, 33, 45, 52 e 58) (ANVISA, 2022; WHO, 2017; CHRYSOSTOMOU *et al.*, 2018).

É notável que jovens do sexo feminino, quando vacinadas, contribuem para uma significativa redução de infecções em rapazes, cerca de 80%. No entanto, conforme destacado por Yurtçu *et al.*, (2022), também há a necessidade de programas e táticas para que mais pessoas tenham conhecimento e acesso a este imunizante. Há



ainda outras medidas profiláticas que podem e devem ser adotadas, incluindo estratégias de educação, de formação de profissionais de saúde, de informações às mulheres sobre rastreamento, diagnóstico e tratamento. Contudo, é importante destacar que a vacinação não elimina a necessidade de rastreamento futuro, uma vez que se trata de uma prevenção primária e, até o momento, não protege contra todos os genótipos de HPV de alto risco (WHO, 2017; YURTÇU *et al.*, 2022).

HPV, Lesões e Citologia

Há tempos são descritas associações entre HPV e a ocorrência de determinadas lesões (NAKAGAWA; SCHIRMER; BARBIERI; 2010; COSTA *et al.*, 2019; INCA, 2022a; BURD, 2003; MUÑOZ *et al.*, 2003). No entanto, pacientes infectados pelo HPV podem não apresentar sinais (visíveis a olho nu) ou manifestações subclínicas (não visíveis a olho nu) por meses ou anos. Porém, verifica-se que a redução da resistência do organismo pode culminar no aumento da carga viral do HPV e, conseqüentemente, provocar o aparecimento de lesões (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2022).

Exames clínicos e laboratoriais têm contribuído para o diagnóstico de HPV, sendo possível ressaltar a seguir algumas características de lesões clínicas e subclínicas (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2022):

- Lesões clínicas: aparecimento de condilomas na região genital e anal, podendo ser únicas ou múltiplas, com dimensões distintas, achatadas ou papulosas. Tais lesões tendem a ser assintomáticas, porém podem levar a coceira localizada. Os condilomas tendem a ser causados por HPV de baixo potencial oncogênico (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2022).
- Lesões subclínicas: tendem a não manifestar sinal/sintoma, podendo ser causadas por tipos de HPV de baixo e de alto potencial oncogênico (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2022; FILHO, 2021).

É importante ressaltar que as verrugas anogenitais (região genital e no ânus) são tratadas por procedimentos químicos, cirúrgicos e estimuladores da imunidade, conforme orientações médicas. No entanto, mesmo que o tratamento não seja



realizado as lesões podem desaparecer, permanecer inalteradas ou aumentar em número e/ou volume, visto que a terapêutica não elimina o vírus (BRASIL, 2022).

A vacuolização de células epiteliais (coilocitose), é um efeito citopático, frequentemente observado em lâminas de Papanicolaou de portadores de HPV (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2022; FILHO, 2021). No entanto, este método apresenta limitações, pois não detecta o vírus em si, mas somente as lesões dele decorrentes. Dessa forma, os testes moleculares para detecção do DNA viral têm se demonstrado extremamente úteis e sensíveis para a resolução desse problema. No item a seguir, algumas das principais técnicas moleculares são destacadas.

Diagnóstico molecular do HPV

Vários testes moleculares estão disponíveis para a detecção do HPV, dentre os quais alguns são ressaltados a seguir.

Captura Híbrida

Diferente da citologia, a captura híbrida tem capacidade de detectar o tipo viral do HPV, pois é um método de diagnóstico molecular. O teste Capture Hybrid II (CH II), por exemplo, se encontra disponível no mercado e tem capacidade de detectar 13 tipos de alto risco (16,18,31,33,35,39,45,51,52,56,58,59 e 68) e 5 tipos de baixo risco oncológico (6,11,42,43 e 44), sendo considerado um dos melhores para o diagnóstico do HPV. O teste se baseia na hibridação de sondas do DNA de 18 tipos de HPV, os quais são detectados através de uma reação de enzima-substrato com, posterior leitura realizada por método de quimiluminescência. Observa-se, porém, que a captura híbrida não é capaz de genotipar o patógeno, isto é, não consegue determinar o tipo específico do vírus, mas sim os graus de risco oncogênico: alto e baixo. O teste, executado em aproximadamente quatro horas, é aprovado pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) e pelo Food and Drugs Administration (FDA) dos Estados Unidos da América (RAMOS, 2013).

Vale destacar que contrário a diferentes testes biomoleculares, este não tem



preocupação com inibição ou contaminação cruzada (RAMOS, 2013).

Flow chip para HPV

Esta técnica tem o intuito de rastrear e genotipar mais de 30 tipos de HPV, baseando-se na amplificação por PCR da região viral L1 e hibridação com sondas de DNA específicas para cada variante viral. As sondas permanecem imobilizadas em uma membrana pela tecnologia DNA-Flow em um aparato denominado chip (OTHMAN; GOREAL; PITY, 2022). Diferentemente das outras técnicas moleculares, esta não necessita da extração prévia do DNA da amostra (HERRAEZ-HERNANDEZ, *et al.*, 2013).

O método se baseia em coleta do material cérvico-vaginal com swabs e meios de transporte padronizados pelos desenvolvedores. A amostra sofre alguns processamentos e posteriormente o DNA viral, se existente, é amplificado através de um termociclador convencional. Em passos posteriores, ocorrem as hibridações e lavagens através de reagentes específicos. Por fim, prossegue-se com a leitura do chip e identificação dos tipos de HPV presentes ou não (VITRO, 2023; VITRO, 2019).

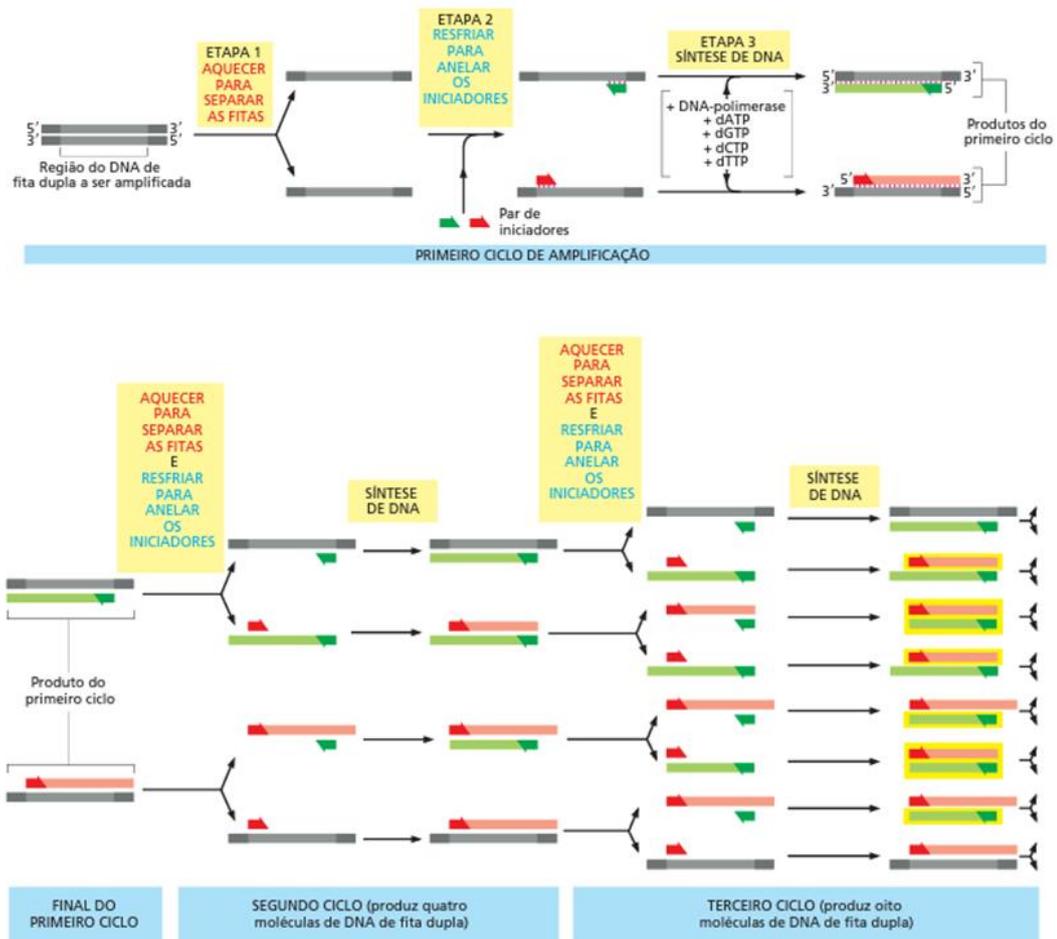
É válido destacar que o processo pode ser muito ou pouco automatizado, a depender dos equipamentos que o laboratório dispõem. O equipamento HS12, por exemplo, necessita que o analista manipule o tempo todo o equipamento e reagentes e, posteriormente realize a leitura em uma câmara acoplada a um computador, com o resultado sendo gerado por um software. Já as instituições dotadas de um aparato denominado HS12 auto, só realizam o processamento inicial da amostra, visto que a máquina possui um termociclador, locais para a inserção dos chips e braço mecânico que se encarrega de dispensar os reagentes no momento exato, bem como câmera que registra a imagem do chip para processamento (VITRO, 2023; VITRO, 2019).

Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) e suas variantes

A reação em Cadeia da Polimerase(PCR), tem se mostrado muito útil na detecção de HPV. Nela, um fragmento de DNA viral será amplificado inúmeras vezes pela ação de enzimas específicas e por alterações de temperatura. Essa técnica exige a existência de primers, sequências de oligonucleotídeos que flanqueiam a região de interesse a ser amplificada e de uma enzima que realiza a extensão, Taq polimerase.

Trata-se de um método sensível, específico e rápido. A Figura 2 exemplifica como ocorre as etapas envolvidas na PCR convencional: Desnaturação, Anelamento dos primers e Extensão (KUBISTA et al., 2006; RODRIGUES, et al., 2009; BRUCE et al., 2017).

Figura 2. Etapas da PCR. Inicialmente, observa-se a desnaturação, ou seja, a separação da dupla fita de DNA. Na sequência, ocorre o anelamento dos primers. Por fim, ocorre a extensão, processo no qual enzimas (Taq polimerase) adicionam nucleotídeos a partir dos primers. Estes processos se repetem ao longo de muitos ciclos e ocorrem em temperaturas específicas. Ao final dos processos muitas cópias do fragmento de interesse são obtidas.



Fonte: BRUCE et al. (2017).

Além disso, é válido destacar a PCR em Tempo Real. Trata-se de uma técnica extremamente sensível que está fundamentada na PCR Convencional, mas que possui



agentes fluorescentes, que emitem luz no decorrer da reação, dispensando a necessidade de eletroforese para a obtenção do resultado final. A análise é feita através de gráficos gerados pelo equipamento (RODRIGUES, et al., 2009).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Por meio desta revisão literária, pode-se demonstrar a estrutura viral do HPV, seu impacto na sociedade e dados epidemiológicos, os quais podem contribuir para atualizações de mecanismos de profilaxia e detecção do patógeno. Foi possível observar uma grande variabilidade genética deste patógeno, tendo sido identificados até o momento mais de 200 tipos virais. Essas variantes podem ser classificadas como sendo de baixo ou alto risco oncológico. Verificou-se que a integração do genoma viral aos cromossomos humanos pode estar associada à desregulação da expressão dos genes *E6* e *E7*, culminando em processos cancerosos. Os genótipos 16 e 18 são os mais frequentemente associados a casos de câncer de colo de útero, sendo importante destacar que combinações entre variantes também são prevalentes. Embora lesões associadas a doença e efeitos citopáticos causados pelo vírus sejam observadas através do exame de Papanicolau, os testes moleculares têm ganhado destaque pela possibilidade de detecção do próprio DNA do patógeno. Ensaio como Captura Híbrida, Flow Chip e PCR têm-se mostrado muito importantes para a detecção precoce dessas infecções, contribuindo, assim para um bom prognóstico do paciente e, conseqüentemente, afetando positivamente a saúde pública. Desta forma, o exame citopatológico realizado periodicamente, o diagnóstico precoce de genótipos de HPV, bem como a vacinação do público alvo são táticas que podem contribuir para a redução de casos de câncer de colo de útero.



REFERÊNCIAS

- ANVISA. **REGISTRADA VACINA DO HPV CONTRA 9 SUBTIPOS DO VÍRUS.** 2022. Disponível em: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/noticias-anvisa/2017/registrada-vacina-do-hpv-contra-9-subtipos-do-virus>. Acesso em: 25 jan. 2022.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. **CONTROLE DOS CÂNCERES DO COLO DO ÚTERO E DE MAMA/MINISTÉRIO DA SAÚDE, SECRETARIA DE ATENÇÃO À SAÚDE, DEPARTAMENTO DE ATENÇÃO BÁSICA.** – 2 ed. – Brasília: Editora do Ministério da Saúde, 2013.
- BRUCE, A. et al. **Biologia Molecular da Célula.** Porto Alegre: 6 ed. ArtMed, 2017
- BURD, E. M. Human papillomavirus and cervical cancer. **Clin Microbial Rev**, v. 16, n. 1, p. 1–17, 2003.
- CHANTZANTONIOU, N. et al. Inception and development of the papanicolaou stain method. **Acta Cytol.**, v. 61, n. 4-5, p. 266-280, 2017.
- CHRYSOSTOMOU, A. C. et al. Cervical cancer screening programs in Europe: The transition towards HPV vaccination and population-based HPV testing. **Viruses**, v. 10, n. 12, p. 729, 2018.
- COSTA, T. M. L. et al. Human papillomavirus and risk factors for cervical adenocarcinoma in the state of Pernambuco, Brazil. **Revista Brasileira de Saude Materno Infantil**, v. 19, n. 3, p. 641–649, 2019.
- DOORBAR, J. The papillomavirus life cycle. **Journal of Clinical Virology**, 2005.
- DE VILLIERS, E. M.; FAUQUET, C.; BROKER, T. R.; BERNARD, H. U.; ZUR HAUSSEN H. Classification of papillomaviruses. **Virology**, v. 324, n. 1, p. 17–27, 2004.
- FILHO, Geraldo B. **BOGLIOLO – PATOLOGIA.** Grupo GEN, 2021
- FLORES, E. R.; LAMBERT, P. F. Evidence for a Switch in the Mode of Human Papillomavirus Type 16 DNA Replication during the Viral Life Cycle. **Journal of Virology**. v. 71, n. 10, p. 7167-7179, 1997.
- HARRO, C. D. et al. Safety and Immunogenicity Trial in Adult Volunteers of a Human Papillomavirus 16 L1 Virus-Like Particle Vaccine. **J. Natl Cancer Inst.** v. 93, n. 4, p. 284-292, 2001.



HERRAEZ-HERNANDEZ, E.; PREDAS, O.; ALONSO, S.; PARDO, R. S.; OLMO, A. Detection and Genotyping of Human Papillomavirus DNA in Formalin-Fixed Paraffin-Embedded Specimens with the HPV Direct Flow CHIP System. **Open Virol J.** v. 7, p 91–95, 2013.

HEBNER, C. M.; LAIMINS, L. A. Human papillomaviruses: Basic mechanisms of pathogenesis and oncogenicity. **Reviews in Medical Virology**, v. 16, n. 2, p. 83–97, 2006.

INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER - INCA. **Incidência.** Disponível em: <[https://www.gov.br/inca/pt-br/assuntos/gestor-e-profissional-de-saude/controlado-cancer-do-colo-do-uterio/dados-e-numeros/incidencia#:~:text=No%20Brasil%2C%20excluídos%20os%20tumores,mulheres%20\(INCA%2C%202021\)](https://www.gov.br/inca/pt-br/assuntos/gestor-e-profissional-de-saude/controlado-cancer-do-colo-do-uterio/dados-e-numeros/incidencia#:~:text=No%20Brasil%2C%20excluídos%20os%20tumores,mulheres%20(INCA%2C%202021)>)>. Acesso em: 25 jan. 2023a.

INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER - INCA. **Conceito e Magnitude.** Disponível em: <<https://www.gov.br/inca/pt-br/assuntos/gestor-e-profissional-de-saude/controlado-cancer-do-colo-do-uterio/conceito-e-magnitude>>. Acesso em: 25 jan. 2023b.

INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER (INCA). **HPV.** Disponível em: <[https://www.gov.br/inca/pt-br/aceso-a-informacao/perguntas-frequentes/hpv#:~:text=Dentre os HPV de alto,laríngeos%2C são considerados não oncogênicos](https://www.gov.br/inca/pt-br/aceso-a-informacao/perguntas-frequentes/hpv#:~:text=Dentre%20os%20HPV%20de%20alto%20laríngeos%20são%20considerados%20não%20oncogênicos)>. Acesso em: 28 nov. 2022a.

INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER (INCA). **No Brasil, excluídos os tumores de tumores de pele não melanoma, o câncer do colo do útero é o terceiro tipo de câncer mais incidente entre mulheres.** Disponível em: <[https://www.gov.br/inca/pt-br/assuntos/gestor-e-profissional-de-saude/controlado-cancer-do-colo-do-uterio/dados-e-numeros/incidencia#:~:text=No Brasil%2C excluídos os tumores,mulheres](https://www.gov.br/inca/pt-br/assuntos/gestor-e-profissional-de-saude/controlado-cancer-do-colo-do-uterio/dados-e-numeros/incidencia#:~:text=No%20Brasil%2C%20excluídos%20os%20tumores,mulheres)>. Acesso em: 26 nov. 2022b.

KLEIN, G. J.; WEINHOUSE, S. **AVANÇOS NA PESQUISA DO CÂNCER.** v. 33, 1 ed. Imprensa Acadêmica: 1980.

KUBISTA, M. et al. The real-time polymerase chain reaction. **Molecular Aspects of Medicine.** v. 27, n. 2-3, p. 95-125, 2006.

LETO, M. DAS G. P. et al. Infecção pelo papilomavírus humano: Etiopatogenia, biologia molecular e manifestações clínicas. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 86, n. 2, p. 306–317, 2011.



LUVISARO, B. M. O. **Determinantes E Impacto Da Vacina Contra O Hpv Na Mortalidade Por Câncer Do Colo Uterino No Brasil.** Dissertação (Mestrado em Saúde da Mulher) - Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais. Belo Horizonte. 2018.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **HPV.** Disponível em: <<https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-de-a-a-z/h/hpv>>. Acesso em: 10/08/2022

MÜNGER, K; HOWLEY, P. M. Human papillomavirus immortalization and transformations functions. **Virus Research.** v. 89, n. 2, p 213-228, 2002.

MUÑOZ, N. et al. Epidemiologic Classification of Human Papillomavirus Types Associated with Cervical Cancer. **N Engl J Med.** v. 348, n. 6, p.518-527, 2003.

NAKAGAWA, J.T.T.; SCHIRMER, J.; BARBIERI, M. Vírus HPV e câncer de colo de útero. **Rev. Bras. Enferm.** v. 63, n.2, p. 307-311, 2010

OTHMAN, A.; GOREAL, A.; PITY, I. Molecular Detection of Human Papillomaviruses in Formalin Fixed Paraffin Embedded Sections from Different Anogenital Lesions in Duhok-Iraq. **Diagnostics,** v. 12, n. 10, 2022.

PYEON, D.; LAMBERT, P. F.; AHLQUIST, P. Production of infectious human papillomavirus independently of viral replication and epithelial cell differentiation. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America,** v. 102, n. 26, p. 9311-9316, 2005.

RAMOS, E. **A importância do teste de Captura Híbrida 2 no acompanhamento de pacientes tratadas por Lesão Intraepitelial cervical de alto grau.** Orientadora: Conceição Maria Passos de Queiroz. 2013. Dissertação (Mestrado) – Patologia Humana. **UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA. FACULDADE DE MEDICINA. FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ-FIOCRUZ. CENTRO DE PESQUISAS GONÇALO MONIZ** Curso de Pós-graduação em Patologia Humana **DISSERTAÇÃO DE MESTRADO FIOCRUZ.** Salvador, 2013. Disponível em: <<https://www.arca.fiocruz.br/bitstream/handle/icict/7137/Elenice%20Ramos.%20A%20importancia%20do%20teste...2013.pdf;jsessionid=BBEFABEDF2AD41B1F968BEC76C7AB402?sequence=1>> Acesso em 12/06/2023

RODRIGUES A. D.; CANTARELLI, V. V.; FRANTZ, M. A.; PILGER, D. A.; PEREIRA, F. S. Comparação das técnicas de captura de híbridos e PCR para a detecção de HPV em amostras clínicas. **J. Bras. Patol. Med. Lab.,** n. 6, v. 45, 2009.

SOUZA, D. R. S. et al. Relevance of apolipoprotein E4 for the lipid profile of Brazilian



patients with coronary artery disease. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 40, n. 2, p. 189–197, 2007.

VIRALZONE. **Papillomaviridae**. 2010. Disponível em: <<https://viralzone.expasy.org/5>>. Acesso em: 28 nov. 2022.

VIRALZONE. **Alternative splicing**. 2012. Disponível em: <<https://viralzone.expasy.org/1943>>. Acesso em: 28 nov. 2022.

VITRO. **Dna Flow Technology**. Disponível em: <https://www.vitro.bio/Nac/Content/Documentos/en-EN/DNA/GDNA_EN.pdf> Acesso em: 10 jan. 2023.

VITRO. **HybriSpot 12 PCR auto user manual**. 2019. Disponível em: <https://www.vitro.bio/DocumentosNAVVitro/VIT/VIT-HS12A_28619_926_HS12A%20User%20Manual%20V2_EN.pdf> Acesso em: 24 Jun. 2022.

WHO **Human papillomavirus vaccines: WHO position paper**. 2017.

WHO. **INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Human Papillomaviruses**. v. 90. France, 2007.

YURTÇU, E. *et al.* Relationship between awareness of cervical cancer and HPV infection and attitudes towards HPV vaccine among women aged 15-49 years: a cross-sectional study. **Sao Paulo Medical Journal**, v. 140, n. 3, p. 349–355, 2022.