

# RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo desta dissertação será disponibilizado somente a partir de 24/02/2028.



**Universidade Estadual Paulista ‘Júlio de Mesquita Filho’ – UNESP**  
**Faculdade de Medicina de Botucatu**  
**Unidade de Pesquisa Experimental (UNIPEX)**  
**Laboratório de Imunopatologia da Relação Materno-Fetal**

**ANA CAROLINA SPROCATTI DOS SANTOS**

**COMPONENTES DA MICROBIOTA VAGINAL COMO  
CORRELATOS DA INFECÇÃO CERVICAL PERSISTENTE PELO  
PAPILOMAVÍRUS HUMANO (HPV) EM MULHERES COM EXCIÇÃO  
DE LESÕES INTRAEPITELIAIS CERVICAIS DE ALTO GRAU**

BOTUCATU  
2026

Ana Carolina Sprocatti dos Santos

**COMPONENTES DA MICROBIOTA VAGINAL COMO CORRELATOS  
DA INFECÇÃO CERVICAL PERSISTENTE PELO PAPILOMAVÍRUS  
HUMANO (HPV) EM MULHERES COM EXCISÃO DE LESÕES  
INTRAEPITELIAIS CERVICAIS DE ALTO GRAU**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Patologia da Faculdade de Medicina de Botucatu - Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” - para obtenção do título de Mestre em Ciências, Área de Patologia.

Orientadora: Prof.<sup>a</sup> Associada Márcia Guimarães da Silva

Coorientador: Prof. Dr. Lucas Tadeu Bidinotto

Botucatu  
2026

Sa237c

Santos, Ana Carolina Sprocatti dos

Componentes da microbiota vaginal como correlatos da infecção cervical persistente pelo Papilomavírus Humano (HPV) em mulheres com excisão de lesões intraepiteliais cervicais de alto grau / Ana Carolina Sprocatti Dos Santos. -- Botucatu, 2026

87 p. : tabs., fotos

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Medicina, Botucatu

Orientadora: Marcia Guimarães da Silva

Coorientador: Lucas Tadeu Bidinotto

1. Papillomavírus Humano. 2. Microbiota Vaginal. 3. Infecção Persistente. 4. Clearance. 5. Metagenômica. I. Título.

## IMPACTO POTENCIAL DA PESQUISA

Impacto científico: O presente estudo apresenta relevante impacto científico ao aprofundar a compreensão da interação entre a microbiota vaginal e a persistência da infecção pelo HPV em um cenário prospectivo clínico de mulheres submetidas à excisão de lesões cervicais de alto grau (NIC 2 e NIC 3). O delineamento longitudinal permite avaliar a dinâmica temporal da microbiota e sua possível influência no *clearance* viral pós-tratamento de mulheres brasileiras por meio de sequenciamento de nova geração (NGS) e utilização do classificador VALENCIA, um robusto banco de dados taxonômicos da microbiota vaginal, representando um aspecto ainda pouco explorado na literatura.

Impacto social: Abordagem do o câncer do colo do útero, uma doença fortemente associada a desigualdades socioeconômicas e ainda prevalentes em países em desenvolvimento. Ao evidenciar a possível influência da microbiota vaginal no *clearance* do HPV, o estudo contribui para estratégias complementares de prevenção secundária, especialmente em mulheres já tratadas para lesões precursoras de forma individualizada, proporcionando a redução da recorrência de lesões cervicais, do impacto psicológico do seguimento prolongado e da carga assistencial sobre os serviços oncológicos.

ATA DA DEFESA PÚBLICA DA DISSERTAÇÃO DE MESTRADO DE ANA CAROLINA SPROCATTI DOS SANTOS, DISCENTE DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PATOLOGIA, DA FACULDADE DE MEDICINA - CÂMPUS DE BOTUCATU.

Aos 24 de fevereiro de 2026, às 14h, no(a) Anfiteatro Unipex - Faculdade de Medicina de Botucatu, realizou-se a defesa de DISSERTAÇÃO DE MESTRADO de ANA CAROLINA SPROCATTI DOS SANTOS, intitulada "Componentes da microbiota vaginal como correlatos da infecção cervical persistente pelo Papilomavírus Humano (HPV) em mulheres com excisão de lesões intraepiteliais cervicais de alto grau

". A Comissão Examinadora foi constituída pelos seguintes membros: Profa. Dra. MARCIA GUIMARÃES DA SILVA (Orientador(a) - Participação Presencial) do(a) Departamento de Patologia / UNESP / Câmpus de Botucatu - FMB, Profa. Dra. MICHELLE GARCIA DISCACCIATI DE CARVALHO (Participação Virtual) do(a) Departamento de Análise Clínicas e Toxicológicas / Universidade de São Paulo (USP), Prof. Dr. JULIANO NOVAK (Participação Virtual) do(a) Departamento de Biologia Celular e Molecular e Bioagentes patogênicos / FM/Ribeirão Preto - USP, Após a exposição pela mestranda e arguição pelos membros da Comissão Examinadora que participaram do ato, de forma presencial e/ou virtual, a discente recebeu o conceito final: Aprovada. Nada mais havendo, foi lavrada a presente ata, que após lida e aprovada, foi assinada pelo(a) Presidente(a) da Comissão Examinadora.



Profa. Dra. MARCIA GUIMARÃES DA SILVA

## DEDICATÓRIA

*“A mente que se abre a uma nova ideia jamais  
volta ao seu tamanho original.”*  
**Albert Einstein**

Dedico este trabalho a todos que caminham pela  
ciência, movidos pela curiosidade e pelo desejo de  
compreender.

## AGRADECIMENTOS

A realização desta dissertação só foi possível graças ao apoio e à contribuição de muitas pessoas que, direta ou indiretamente, fizeram parte desta trajetória. Expresso aqui minha profunda gratidão.

À minha família, em especial aos meus pais, **Elaine e Isaías**, pelo amor incondicional, compreensão e apoio em todos os momentos.

Aos meus avós maternos, **Judite e Argemiro** que me criaram com tanto carinho, expresso minha profunda gratidão.

Aos meus tios, **Fernanda e Eric**, que sempre me incentivaram e vibraram em todos os processos da minha vida. Vocês todos foram minha base, meu incentivo e meu porto seguro nos dias difíceis e nas conquistas, mesmo de tão longe.

Ao meu irmão de coração, **Guilherme Lopes**, que desde criança compartilha o mesmo sonho comigo. Hoje, vejo que já chegamos muito longe, sempre juntos. Obrigada por todo companheirismo em todas as fases da minha vida, por ser meu confidente e meu melhor amigo. Você é minha pessoa.

Aos meus colegas, **Marina, Guilherme, Rafael, Maria Eduarda e Bruna**, que compartilharam desafios, aprendizados e conquistas ao longo desta jornada, bem como as pausas necessárias e divertidas que trouxeram equilíbrio durante esse percurso. Em especial, à minha parceira de mestrado, **Laura**, que esteve comigo em todos os momentos, oferecendo apoio, companheirismo e incentivo constantes.

Aos meus orientadores, **Márcia Guimarães da Silva e Lucas Tadeu Bidinotto**, que compartilharam conhecimento, paciência e entusiasmo científico. Agradeço pela confiança depositada em meu trabalho, pelas críticas construtivas e pelo exemplo constante de comprometimento acadêmico.

À doutora **Mariana** e à doutoranda **Jeniffer**, que estiveram ao meu lado de forma constante e próxima ao longo de toda esta trajetória. O incentivo, apoio e disponibilidade de ambas foram essenciais não apenas para o desenvolvimento desta pesquisa, mas também para

o meu crescimento pessoal e para a minha formação como pesquisadora. A parceria, confiança e generosidade em compartilhar conhecimentos contribuíram de maneira significativa para o amadurecimento científico e humano que este trabalho representa. Sou grata não apenas pelo auxílio direto nas atividades acadêmicas, mas também pela motivação, parceria e confiança e amizade que tornaram esse caminho mais leve e possível.

À **Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES)**, pelo apoio financeiro que viabilizou a dedicação integral a esta pesquisa, bem como a **UNESP** por ter me proporcionado tantos momentos felizes e de grande aprendizado que levarei para sempre comigo.

A todos que, de alguma forma, contribuíram para a construção deste trabalho, minha sincera gratidão. Esta dissertação carrega um pouco de cada um de vocês.

Por fim, agradeço a **mim**, por não ter desistido nos momentos de cansaço, dúvida e insegurança. Por acreditar na ciência brasileira, no sonho de criança de ser “cientista” e, hoje, estar conquistando mais um título.

## RESUMO

**Introdução:** O câncer do colo do útero (CCU) permanece como um dos principais problemas de saúde pública entre mulheres, especialmente em países em desenvolvimento que possuem difícil acesso ao rastreamento e à vacinação contra o Papilomavírus Humano (HPV). Dessa forma, a persistência da infecção pelo HPV de alto risco oncogênico é condição necessária, embora não suficiente, para o desenvolvimento das lesões intraepiteliais cervicais e do carcinoma invasivo. Embora a maioria das infecções pelo HPV seja transitória, fatores comportamentais, ambientais, imunológicos e microbiológicos modulam o risco não só da aquisição viral, mas sobretudo, da sua persistência. Evidências recentes demonstram que a microbiota vaginal exerce influência determinante sobre a dinâmica da infecção pelo HPV. Comunidades dominadas por *Lactobacillus* spp., particularmente *L. crispatus*, mantêm pH ácido por meio da produção de ácido lático, peróxido de hidrogênio e bacteriocinas, criando um ambiente anti-inflamatório capaz de dificultar a infecção e favorecer o *clearance* viral. Em contraste, microbiotas caracterizadas por maior diversidade bacteriana, especialmente a *Community State Types* (CSTs) do tipo IV, associadas à vaginose bacteriana, apresentam redução de *Lactobacillus* spp. e, por vezes, aumento do pH, produção de aminas alifáticas e aumento da resposta inflamatória. Tais condições favorecem a infecção viral, prejudicam a resposta imune local e aumentam o risco de persistência e progressão das lesões cervicais. Em vista disso, estudos sugerem que determinados consórcios de microrganismos presentes no microambiente vaginal podem resultar na persistência do HPV e no desenvolvimento de lesões precursoras do CCU, da mesma maneira que a prevalência de espécies lactobacilares podem aumentar as taxas do *clearance* viral. Dessa forma, o estudo teve por objetivo avaliar a associação entre a composição taxonômica da microbiota vaginal e a persistência da infecção pelo HPV em mulheres submetidas à excisão de neoplasias intraepiteliais cervicais (NIC 2 e NIC 3), ao longo do período de seguimento de seis meses. **Pacientes e Métodos:** Trata-se de estudo satélite observacional e longitudinal, que incluiu 48 mulheres com NIC2 ou NIC 3 encaminhadas para conização de alta frequência no Departamento de Prevenção do Hospital do Câncer de Barretos (M0). Após seis meses de acompanhamento, as participantes foram estratificadas em dois grupos, de acordo com a evolução da infecção pelo HPV: **HPV-clearance**, mulheres com clareamento da infecção viral, e **HPV-Persistence**, mulheres com persistência da infecção por HPV de alto risco oncogênico. As participantes seguiram o protocolo padrão de acompanhamento do Hospital do Câncer de Barretos e, nos casos de corrimento vaginal, foi realizado o encaminhamento para as Unidades Básicas de Saúde (UBS), onde receberam tratamento conforme as diretrizes do município de Barretos. O estudo foi aprovado pelo sistema CEP/CONEP sob o número CAAE 71161023.5.0000.5437. Foram aplicados dois questionários nos dois momentos do estudo (M0 e M6), visando a coleta de informações referentes às características sociodemográficas, ao estilo de vida e ao comportamento sexual das participantes. Adicionalmente, incluíram variáveis relacionadas a fatores potenciais de interferência nos resultados da microbiota vaginal, como o uso de medicamentos intravaginais e antibioticoterapia recente. As amostras citológicas foram coletadas e preservadas em meio líquido (*BD SurePath™*). A genotipagem ampliada do HPV foi realizada utilizando a plataforma *BD Onclarity HPV Assay*, de acordo com as recomendações do fabricante. Para a análise molecular da microbiota vaginal, as amostras foram coletadas do terço médio da parede vaginal com *swabs* Copan e a extração total de DNA bacteriano foi realizada usando o kit *ZymoBIOMICS™ DNA Miniprep*. A biblioteca foi realizada seguindo o protocolo *Illumina 16S Metagenomic Sequencing Library Preparation*. A região hipervariável V3–V4 do gene 16S rRNA foi amplificada por PCR usando *primers* específicos do locus com sequências de adaptadores *Illumina overhang*. Os amplicons foram purificados com esferas *AMPure XP* (Illumina) e submetidos a uma segunda PCR para indexação dupla com o *Kit Nextera XT Index* (Illumina). Os amplicons indexados foram purificados novamente com esferas *AMPure XP*, quantificados usando *Qubit™ dsDNA HS Assay Kit*, normalizados e agrupados em concentrações equimolares. A biblioteca final agrupada foi sequenciada em uma plataforma *Illumina MiSeq* (Illumina Inc.) usando o kit de sequenciamento *paired-end 2 × 300 pb*, de acordo com as recomendações do fabricante. Os arquivos *fastq* de leituras *forward* e *reverse* foram importados para o *software* R e as leituras foram processadas usando o pacote *Dada2*. As CSTs foram definidas usando o classificador VALENCIA, com base na composição das espécies bacterianas e abundâncias relativas. A análise dos dados foi realizada no *software* R utilizando pacotes do repositório *Bioconductor* e *Tidyverse*. A estrutura e organização dos dados da microbiota foram gerenciadas por meio do pacote *Phyloseq*,

permitindo a integração das informações taxonômicas e clínicas. As análises estatísticas envolveram os pacotes *Vegan* e *DESeq2*, utilizados para avaliação da  $\alpha$ -diversidade e  $\beta$ -diversidade, bem como para a análise de abundância diferencial entre grupos. A manipulação e transformação dos dados foram realizadas com os pacotes *Dplyr*, *Tidyr* e *Reshape2*, enquanto a visualização gráfica dos resultados foi efetuada com os pacotes *Ggplot2* e *GridExtra*. As variáveis categóricas foram descritas por meio de frequências absolutas e relativas, e a associação entre elas foi avaliada utilizando-se o teste do qui-quadrado de Pearson, adotando-se um nível de significância de 5%. **Resultados:** Das 48 mulheres incluídas no estudo, 37 (77,1%) delas tiveram *clearance* viral e em 11 (22,9%) a infecção persistente pelo HPV foi detectada. No M0, a maioria das pacientes foi caracterizada como pertencentes à CST III (46%), seguidas pelas CST IV (32,4%) e CST I (21,6%). Seis meses após a excisão (M6), 50,0% das pacientes seguiram apresentando o perfil da CST III. Não foram observadas diferenças estatisticamente significativas entre as comunidades bacterianas (M0 ou M6) e o desfecho de *clearance* viral ( $p = 0,644$ ) ou persistência da infecção ( $p = 0,238$ ). No grupo com *clearance* viral, 68,0% apresentavam *L. iners* dominante, enquanto 32,0% apresentavam *L. crispatus*. Entre as mulheres com infecção persistente, a distribuição foi análoga, com 85,7% apresentando predomínio de *L. iners* e 14,3% de *L. crispatus*, sem diferença estatística entre os grupos ( $p = 0,343$ ). Após seis meses (M6), observou-se que todas as mulheres que apresentaram predominância de *L. crispatus* realizaram o *clearance* viral, em contraste com aquelas com predominância do *L. iners* ( $p=0,065$ ). **Conclusão:** Os dados desse estudo demonstram potencial correlação da microbiota vaginal associada à modulação do *clearance* viral do HPV, sugerindo não só um alvo terapêutico alternativo para os casos de câncer cervical, mas também aponta a importância da avaliação e manutenção da eubiose vaginal durante o curso da infecção pelo HPV.

**Palavras-chave:** Papilomavírus humano; Microbiota; Neoplasia intraepitelial cervical; Metagenômica; Infecção persistente.

## ABSTRACT

**Introduction:** Cervical cancer (CC) remains one of the main public health problems among women, especially in developing countries that have limited access to screening and vaccination against Human Papillomavirus (HPV). Thus, persistent infection with high-risk oncogenic HPV is a necessary, but not sufficient, condition for the development of cervical intraepithelial lesions and invasive carcinoma. Although most HPV infections are transient, behavioral, environmental, immunological, and microbiological factors modulate the risk not only of viral acquisition but, above all, of its persistence. Recent evidence shows that vaginal microbiota has a decisive influence on the dynamics of HPV infection. Communities dominated by *Lactobacillus* spp., particularly *L. crispatus*, maintain an acidic pH through the production of lactic acid, hydrogen peroxide, and bacteriocins, creating an anti-inflammatory environment that hinders infection and promotes viral clearance. In contrast, microbiota characterized by greater bacterial diversity, especially type IV Community State Types (CSTs) associated with bacterial vaginosis, show a reduction in *Lactobacillus* spp. and, sometimes, an increase in pH, production of aliphatic amines, and an increased inflammatory response. Such conditions favor viral infection, impair the local immune response, and increase the risk of persistence and progression of cervical lesions. In view of this, studies suggest that certain consortia of microorganisms present in the vaginal microenvironment may result in HPV persistence and the development of precancerous cervical lesions, just as the prevalence of lactobacillary species may increase viral clearance rates. Thus, the study aimed to evaluate the association between the taxonomic composition of the vaginal microbiota and the persistence of HPV infection in women undergoing excision of cervical intraepithelial neoplasia (CIN 2 and CIN 3) over a six-month follow-up period. **Patients and Methods:** This is an observational, longitudinal satellite study that included 48 women with CIN 2 or CIN 3 referred for high frequency conization at the Prevention Department of the Barretos Cancer Hospital (M0). After six months of follow-up, participants were stratified into two groups according to the evolution of HPV infection: HPV clearance, women with clearance of viral infection, and HPV persistence, women with persistent high-risk oncogenic HPV infection. The participants followed the standard follow-up protocol of the Barretos Cancer Hospital, and in cases of vaginal discharge, they were referred to Basic Health Units (UBS), where they received treatment according to the guidelines of the municipality of Barretos. The study was approved by the CEP/CONEP system under number CAAE 71161023.5.0000.5437. Two questionnaires were administered at two points in the study (M0 and M6) to collect information on the participants' sociodemographic characteristics, lifestyle, and sexual behavior. Additionally, variables related to potential factors that could interfere with the results of the vaginal microbiota, such as the use of intravaginal medications and recent antibiotic therapy, were included. Cytological samples were collected and preserved in liquid medium (BD SurePath™). Extended HPV genotyping was performed using the BD Onclarity HPV Assay platform, according to the manufacturer's recommendations. For molecular analysis of the vaginal microbiota, samples were collected from the middle third of the vaginal wall with Copan swabs, and total bacterial DNA extraction was performed using the ZymoBIOMICS™ DNA Miniprep kit. The library was prepared following the Illumina 16S Metagenomic Sequencing Library Preparation protocol. The hypervariable V3–V4 region of the 16S rRNA gene was amplified by PCR using locus-specific primers with Illumina overhang adapter sequences. The amplicons were purified with AMPure XP beads (Illumina) and subjected to a second PCR for double indexing with the Nextera XT Index Kit (Illumina). The indexed amplicons were purified again with AMPure XP beads, quantified using the Qubit™ dsDNA HS Assay Kit, normalized, and pooled in equimolar concentrations. The final pooled library was sequenced on an Illumina MiSeq platform (Illumina Inc.) using the 2 × 300 bp paired-end sequencing kit, according to the manufacturer's recommendations. The fastq files of forward and reverse reads were imported into R software, and the reads were processed using the Dada2 package. CSTs were defined using the VALENCIA classifier, based on bacterial species composition and relative abundances. Data analysis was performed in R software using packages from the Bioconductor and Tidyverse repositories. The structure and organization of the microbiota data were managed using the Phyloseq package, allowing the integration of taxonomic and clinical information. Statistical analyses involved the Vegan and DESeq2 packages, used to evaluate  $\alpha$ -diversity and  $\beta$ -diversity, as well as to analyze differential abundance between groups. Data manipulation and transformation were performed using the Dplyr, TidyR, and Reshape2 packages, while graphical visualization of the results was performed using the Ggplot2 and GridExtra packages.

Categorical variables were described using absolute and relative frequencies, and the association between them was evaluated using Pearson's chi-square test, adopting a significance level of 5%. **Results:** Of the 48 women included in the study, 37 (77.1%) had viral clearance, and persistent HPV infection was detected in 11 (22.9%). At TP1, most patients were characterized as belonging to CST III (46%), followed by CST IV (32.4%) and CST I (21.6%). Six months after excision (TP6), 50.0% of patients continued to present the CST III profile. No statistically significant differences were observed between bacterial communities (TP1 or TP6) and the outcome of viral clearance ( $p = 0.644$ ) or persistence of infection ( $p = 0.238$ ). In the group with viral clearance, 68.0% had dominant *L. iners*, while 32.0% had *L. crispatus*. Among women with persistent infection, the distribution was similar, with 85.7% having a predominance of *L. iners* and 14.3% of *L. crispatus*, with no statistical difference between the groups ( $p = 0.343$ ). After six months (TP6), was observed that all women who had a predominance of *L. crispatus* achieved viral clearance, in contrast to those with a predominance of *L. iners* ( $p = 0.065$ ). **Conclusion:** The data from this study demonstrate a potential correlation between vaginal microbiota and the modulation of HPV viral clearance, suggesting not only an alternative therapeutic target for cases of cervical cancer, but also pointing to the importance of assessing and maintaining vaginal eubiosis during HPV infection.

**Keywords:** Papillomavirus Infection; Microbiota; Cervical Intraepithelial Neoplasia; Metagenomics, Persistent Infection.

## LISTA DE TABELAS

---

<b>Tabela 1</b>	Dados sociodemográficos e comportamentais das pacientes incluídas no estudo de acordo com o <i>status</i> da infecção pelo HPV.....	42
<b>Tabela 2</b>	Classificação histológica e genótipos do HPV e <i>clearance</i> viral.....	43
<b>Tabela 3</b>	<i>Community State Types</i> (CSTs) e o <i>clearance</i> viral nos momentos M0 e no M6 do estudo.....	43
<b>Tabela 4</b>	Correlação das espécies predominantes de <i>Lactobacillus</i> e o <i>clearance</i> da infecção por HPV nos momentos M0 e M6 do estudo.....	45
<b>Tabela 5</b>	Análise da distribuição das <i>Community State Types</i> (CSTs) identificadas no momento do tratamento excisional em relação aos CST observadas no momento M6 das pacientes totais e das pacientes que fizeram o <i>clearance</i> .....	46
<b>Tabela 6</b>	Análise da distribuição das <i>Community State Types</i> (CSTs) identificadas no momento do tratamento excisional em relação às CST observadas após 6 meses (M6) nas pacientes que persistiram na infecção pelo HPV.....	46
<b>Tabela 7</b>	Associação entre as espécies lactobacilares (CST I e CST III) e não lactobacilares no momento do tratamento excisional (M0) e após seis meses (M6) das pacientes totais.....	47
<b>Tabela 8</b>	Associação entre as espécies lactobacilares (CST I e CST III) e não lactobacilares no momento do tratamento excisional (M0) e após seis meses (M6) de pacientes que não fizeram o <i>clearance</i> viral do HPV.....	47
<b>Tabela 9</b>	Associação entre as espécies lactobacilares (CST I e CST III) e não lactobacilares no momento do tratamento excisional (M0) e após seis meses (M6) de pacientes que atingiram o <i>clearance</i> viral do HPV.....	48

---

## LISTA DE FIGURAS

---

### Revisão de Literatura

<b>Figura 1</b>	Organização genômica do HPV16 e expressão de seus genes virais.....	19
<b>Figura 2</b>	Ciclo de infecção do HPV nas células epiteliais cervicais e estratégias de evasão imunológica.....	21
<b>Figura 3</b>	Classificação atualizada das comunidades bacterianas vaginais baseadas na composição microbiana de acordo com VALENCIA.....	25

---

### Artigo Científico

<b>Figure 1</b>	Schematic representation of the study design and follow-up .....	39
<b>Figure 2</b>	Relative abundance of bacterial taxa in the vaginal microbiota at time points TP1 and TP6.....	44

---

## LISTA DE ABREVIATURAS

---

AIM2	Ausente em melanoma 2
AIS	Adenocarcinoma <i>in situ</i>
ASV	Variante de sequência em amplicon
CAAE	Certificado de Apresentação para Apreciação Ética
CAF	Conização de alta frequência
CCU	Câncer de colo de útero
CDC	Centro de Controle e Prevenção de Doenças
CEP	Comissão de ética em pesquisa
cGAS	Enzima guanosina monofosfato-adenosina monofosfato cíclica sintase
CONEP	Comissão Nacional de Ética em Pesquisa.
CST	<i>Community State Types</i>
CXCL-8	<i>C-X-C motif chemokine ligand 8 (Interleucina 8)</i>
DNA	Ácido desoxirribonucleico
EGFR	Receptor do Fator de Crescimento Epidérmico
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Peróxido de hidrogênio
HPV	Papilomavírus humano
hrHPV	Papilomavírus humano de alto risco oncogênico
HSIL	Lesão intraepitelial escamosa de alto grau
IFI 16	Proteína 16 induzível por interferon
IgA	Imunoglobulina A
IgG	Imunoglobulina G
IL-10	Interleucina 10
IL-12	Interleucina 12
IL-1 $\alpha$	Interleucina 1 alfa
IL-1 $\beta$	Interleucina 1 beta
IL-6	Interleucina 6
INCA	Instituto Nacional do Câncer
IST	Infecção Sexualmente Transmissível
JEC	Junção escamo-colunar
LCR	Região de controle longa
lrHPV	Papilomavírus humano de baixo risco oncogênico
LSIL	Lesão intraepitelial escamosa de baixo grau
MAPK	Proteína Quinase Ativada por Mitógeno
MIP-3 $\alpha$	Proteína inflamatória de macrófagos 3 alfa
NF-kB	Fator Nuclear <i>kappa</i> B
NIC	Neoplasia Intraepitelial Cervical
NK	Células <i>Natural Killer</i>
ORF	Janelas de leitura aberta
pRB	Proteína Retinoblastoma
PRR	Receptores de reconhecimento padrão
RANTES	<i>Regulated upon Activation, Normal T cell Expressed and Secreted</i>
SUS	Sistema Único de Saúde
TCLE	Termo de consentimento livre e esclarecido
TLR	Receptores semelhante a Toll
TNF- $\alpha$	Fator de necrose tumoral alfa
UBS	Unidade Básica de Saúde
VB	Vaginose bacteriana
VE	Vesículas extracelulares
VLP	Partícula semelhante a vírus

---

## SUMÁRIO

<b>RESUMO</b> .....	<b>15</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>17</b>
<b>LISTA DE TABELAS</b> .....	<b>19</b>
<b>LISTA DE FIGURAS</b> .....	<b>20</b>
<b>LISTA DE ABREVIATURAS</b> .....	<b>21</b>
<b>Capítulo 1</b> .....	<b>12</b>
<b>Revisão da Literatura</b> .....	<b>12</b>
1. Introdução .....	13
1.1 Câncer de colo de útero .....	13
1.1.2 Diagnóstico e prevenção .....	14
1.2 Papilomavírus humano .....	16
1.2.1 Patogênese viral.....	19
1.2.2 Imunologia do hpv .....	22
1.3 Microbioma vaginal .....	23
Referências bibliográficas.....	28
<b>Capítulo 2</b> .....	<b>34</b>
Introduction.....	37
Patients and Methods .....	38
HPV genotyping.....	39
Molecular analysis of the vaginal microbiota .....	40
Statistical Analysis .....	41
Results .....	41
Correlation between sociodemographic data and HPV clearance.....	41
Histological classification of cervical cancer precursor lesions and HPV clearance .....	42
Community State Types and HPV clearance .....	43
Association between lactobacillary species and HPV clearance.....	45
Analysis of microbiota agreement at Time point 1 e Time point 6.....	45
Comparison between Lactobacillus-dominated and non-Lactobacillus-dominated communities at TP1 and TP6.....	46
Discussion .....	48
<b>References</b> .....	<b>54</b>
Appendix I.....	57

# **Capítulo 1**

## **Revisão da Literatura**

## 1. INTRODUÇÃO

### 1.1 CÂNCER DE COLO DE ÚTERO

O câncer de colo de útero (CCU), ou câncer cervical, é o quarto tipo de neoplasia mais incidente em mulheres em todo o mundo [1]. No Brasil, desconsiderando os casos de câncer de pele não melanoma, ocupa a terceira posição entre os tipos mais incidentes na população feminina [2]. A doença acomete as células do epitélio cervical [3], predominantemente os queratinócitos, e afeta, em sua maioria, mulheres entre 24 e 75 anos [4]. Para o ano de 2022, foram estimados 16.710 casos novos de CCU no país, o que corresponde ao risco considerado de 15,4 casos a cada 100 mil mulheres brasileiras [5]. Em 2020, o câncer cervical representou a terceira maior causa de mortalidade proporcional por neoplasias malignas em mulheres, correspondendo a 6,1% dos óbitos no país. Esse padrão é semelhante nas regiões Centro-Oeste e Nordeste, onde o CCU também ocupa a terceira posição, com 7,6% e 8,2% dos óbitos, respectivamente. Os menores percentuais foram observados nas regiões Sul (4,8%) e Sudeste (4,3%), onde a doença aparece como a sexta e a sétima causas de morte por câncer em mulheres, respectivamente. Em contraste, a região Norte apresentou o maior percentual de mortalidade e o CCU foi a principal causa de óbito por câncer entre mulheres, respondendo por 15,7% do total [6].

Estudos mais recentes indicam que o CCU é responsável por cerca de 7,5% dos óbitos por câncer em mulheres em todo mundo, sendo que 90% dessas mortes ocorrem em países subdesenvolvidos ou em desenvolvimento. Esse cenário reflete importantes desafios de saúde pública, como deficiências na infraestrutura, barreiras culturais, sociais e tecnológicas, além da baixa cobertura de rastreamento precoce da doença e de acesso limitado à vacinação contra o Papilomavírus Humano (HPV) [7].

As principais condições para o desenvolvimento da neoplasia envolvem fatores comportamentais e infecciosos [8]. Dentre os fatores comportamentais, destacam-se a multiplicidade de parceiros sexuais, em que o risco aumenta proporcionalmente ao número de parceiros [9]; início precoce da vida sexual, visto que, o início da atividade sexual antes dos 18 anos aumenta em duas vezes a chance de desenvolvimento da neoplasia [10]; uso de contraceptivos orais por mais de 5 anos [11]; e o tabagismo, uma vez que, o tabaco contribui para a eventos mutagênicos no DNA presente nas células do cérvix, dobrando o risco de desenvolvimento da doença comparado à pacientes não fumantes [12].

Dentre os fatores de risco associados ao desenvolvimento da neoplasia, destaca-se de

forma predominante a infecção persistente por genótipos de HPV de alto risco oncogênico, condição presente em praticamente 100% dos casos de câncer do colo do útero (CCU) [13]. A infecção pelo HPV constitui a Infecção Sexualmente Transmissível (IST) mais prevalente em todo o mundo. As ISTs são causadas por um grupo de agentes infecciosos transmitidos principalmente por contato sexual, com maior incidência em indivíduos entre 15 e 24 anos, podendo acarretar consequências imediatas e efeitos adversos a longo prazo. No caso específico do HPV, a infecção se inicia quando partículas virais alcançam as células da camada basal do epitélio cervical, geralmente por meio de microtraumas [14]. Estima-se que mais de 80% da população será exposta a um ou mais tipos de HPV ao longo da vida [15].

### 1.1.2 Diagnóstico e Prevenção

O exame citopatológico do colo do útero, popularmente conhecido como Papanicolau, foi proposto por George Papanicolaou (1883–1962), que em 1928 apresentou pela primeira vez a ideia de que alterações na celularidade do colo uterino poderiam ter correlação direta com o CCU. No entanto, foi apenas em 1943, com a publicação do livro *Diagnosis of Uterine Cancer by the Vaginal Smear*, em coautoria com Herbert Traut (1894–1963), que o método ganhou reconhecimento clínico e passou a ser usado com maior frequência como ferramenta de rastreamento [16].

No Brasil, a partir de 1980, o exame citopatológico passou a ser reconhecido e incorporado às políticas públicas como método de rastreamento de câncer de colo de útero. Com a criação do Sistema Único de Saúde (SUS) em 1988, o exame foi oficialmente estabelecido como padrão-ouro para diagnóstico e rastreamento do CCU, sendo ofertado gratuitamente para mulheres entre 25 e 64 anos. O rastreamento, enquanto forma de prevenção secundária, deve ser realizado anualmente, e após dois exames consecutivos com resultado normal, o intervalo entre os próximos exames pode ser ampliado para três anos [17,18].

O exame consiste na coleta de células esfoliadas do colo do útero, obtidas tanto da ectocérvice quanto da endocérvice, utilizando-se, respectivamente, a espátula de Ayre e escova endocervical. Após a coleta, as amostras são submetidas à coloração de Papanicolau em laboratório, e posteriormente, analisadas por microscopia óptica, permitindo a identificação de alterações morfológicas sugestivas de processos inflamatórios, metaplasia escamosa imatura, atrofia, efeitos de radiação, entre outras alterações celulares [19].

As lesões de baixo grau do colo uterino representam alterações epiteliais associadas, em geral, à infecção aguda ou transitória pelo HPV, com baixo potencial de progressão para

neoplasia de alto grau. Na citologia, elas são classificadas como LSIL (*Low-grade Squamous Intraepithelial Lesion*), enquanto na histopatologia correspondem à NIC I (Neoplasia Intraepitelial Cervical grau I). Essas alterações refletem a presença de efeito citopático viral — como coilocitose — e, na maioria dos casos, tendem à regressão espontânea, especialmente em mulheres jovens. Embora apresentem menor risco de evolução, as lesões de baixo grau requerem acompanhamento adequado, dada a possibilidade, ainda que menos frequente, de persistência da infecção pelo HPV e progressão para lesões de maior gravidade [20,21]. As lesões de alto grau do colo uterino compreendem alterações pré-neoplásicas com maior potencial de progressão para o câncer invasivo, envolvendo tanto o epitélio escamoso quanto o glandular. No epitélio escamoso, incluem-se as categorias citológicas classificadas como HSIL (*High-grade Squamous Intraepithelial Lesion*), que correspondem, do ponto de vista histopatológico, às neoplasias intraepiteliais cervicais de grau II (NIC II) e grau III (NIC III), esta última também denominada carcinoma *in situ*. No epitélio glandular, a principal lesão de alto grau é o adenocarcinoma *in situ* (AIS), considerado a forma pré-invasiva do adenocarcinoma cervical. Juntas, essas lesões representam estágios na trajetória de progressão neoplásica e exigem diagnóstico precoce e manejo adequado para prevenção do câncer do colo uterino [22,23].

Segundo Nota Técnica do INCA, a Portaria SECTICS/MS nº 13, de 29 de julho de 2025, incorpora os testes moleculares para detecção de HPV oncogênico (DNA-HPV) no SUS, com a meta de que o rastreamento com o teste DNA-HPV esteja presente em toda a rede pública brasileira [24]. Por se tratar de uma técnica mais sensível e avançada, o teste molecular permite a detecção precoce das infecções pelo HPV, considerando que a evolução temporal entre a infecção viral e o diagnóstico clínico da doença é prolongado, o que possibilita um rastreamento mais eficiente. Além disso, seu intervalo de repetição recomendado é de até cinco anos, conferindo maior custo-efetividade para o sistema de saúde [25,26]. Em caso de positividade para os genótipos de alto risco, excetuando-se os genótipos 16 e 18, a paciente deve realizar o exame de Papanicolau como citologia reflexa, para avaliar a possibilidade de alterações citopatológicas, e ser encaminhada para realização do tratamento de acordo com seus critérios [27,28].

Além do rastreamento por testes citopatológicos ou moleculares, importantes avanços na prevenção primária foram alcançados com a introdução das vacinas profiláticas contra a infecção pelo HPV. A vacinação já se mostrou altamente eficaz na redução de lesões de alto grau, bem como na prevenção de verrugas genitais. Além disso, a imunização também tem impacto na prevenção de outros cânceres HPV-relacionados, como os de orofaringe, pênis,

vulva, vagina e ânus. No Brasil, a vacina está disponível em Unidades Básicas de Saúde (UBS) para meninos e meninas de 9 a 14 anos de idade, em esquema vacinal de dose única, com o objetivo de imunizar os indivíduos antes do início da vida sexual e, conseqüentemente, antes da exposição ao vírus [27–29].

As vacinas contra o HPV são produzidas a partir da elaboração sintética de uma partícula que imita a proteína viral L1, conhecida como *Virus Like Particles* (VLP), e possui a capacidade de entrar na célula e produzir a resposta humoral necessária para a produção de anticorpos neutralizadores responsáveis por destruir o vírus em caso de infecção posterior [30]. Atualmente, três formulações vacinais estão disponíveis: a bivalente, que protege contra a infecção pelos HPV16 e 18, sendo os dois genótipos de alto risco mais agressivos e os principais envolvidos nos casos de câncer cervical; a quadrivalente, disponível no SUS [31], apresentando proteção contra os HPV6, 11, 16 e 18, sendo os dois primeiros causadores do condiloma acuminado; e a nonavalente, que protege contra a infecção pelos genótipos HPV6, 11, 16, 18, 31, 33, 45, 52 e 58, ampliando a proteção contra outros HPVs de alto risco oncogênico [32].

Diversos estudos já demonstraram que a vacina contra o HPV é eficaz tanto na prevenção da infecção viral quanto na redução da incidência do CCU, evidenciando que esse tipo de neoplasia é, em sua maioria, evitável. Contudo, ainda há necessidade de compreender os fatores que limitam a cobertura vacinal e desenvolver estratégias que facilitem o acesso, a aceitação e a adesão à vacina [33,34].

## 1.2 PAPILOMAVÍRUS HUMANO

Os Papilomavírus formam um grupo diverso de aproximadamente 200 genótipos virais pertencentes à família Papillomaviridae e são classificados em cinco gêneros, de acordo com seu tropismo epitelial e doenças relacionadas: *Alphapapillomavirus*, *Betapapillomavirus*, *Gammapapillomavirus*, *Mupapillomavirus* e *Nupapillomavirus* [14]. Trata-se de um vírus não envelopado, com diferentes ciclos de vida e tropismos, capazes de infectar uma ampla variedade de hospedeiros vertebrados [35]. Dentre todos os genótipos, cerca de 150 são classificados como HPV, por possuírem a capacidade de infectar exclusivamente o epitélio humano. Esses genótipos podem causar desde lesões epiteliais verrucosas, classificadas como benignas, que acometem a extensão epitelial do corpo, e/ou causar o desenvolvimento de neoplasia anogenital e orofaríngea, representando 30% de todos os cânceres relacionados à agentes infecciosos [36].

Os HPVs associados às infecções nas mucosas pertencem ao gênero *Alphapapillomavirus*, que apresenta tropismo por células do epitélio cervical, mais

especificamente pela Junção Escamo Colunar (JEC), sendo classificados quanto ao seu potencial oncogênico, definido principalmente pela semelhança entre suas sequências de nucleotídeos e pelo tipo de hospedeiro que infectam. Esse é o mais diverso dos gêneros, englobando 14 espécies distintas, e nele são encontrados os tipos que infectam preferencialmente as mucosas oral e anogenital em humanos e primatas, sendo subdivididos em dois grupos, conhecidos como alto risco e baixo risco oncogênicos [37–39].

Os genótipos de baixo risco oncogênico (lrHPV) possuem a capacidade de causar lesões genitais benignas e podem ser causadas pelos genótipos 6, 11, 40, 42, 43, 44, 54, 61, 70, 72, 81 e 89 (CP6108). Por outro lado, os genótipos de alto risco oncogênico (hrHPV), como HPV16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 e 68 possuem potencial de causar lesões pré-cancerosas quando a infecção por um ou mais subtipos persiste por longos períodos sem clareamento [40].

Dentre os genótipos hrHPV, os HPV16 e 18 são os mais frequentemente relacionados ao fenótipo maligno, estando presentes em 70% dos casos de cânceres de colo de útero, além de serem os mais implicados em cânceres localizados em outras regiões anatômicas, como vagina, vulva, ânus, orofaringe e pênis [41]. A maior prevalência de infecção por HPV (10-40%) é encontrada em mulheres com idade inferior a 25 anos e sexualmente ativas. No entanto, as lesões de alto grau são mais comumente observadas em mulheres com mais de 25 anos, com infecção persistente por genótipos de alto risco oncogênico, sugerindo um mecanismo de defesa ineficiente para o *clearance* viral [42].

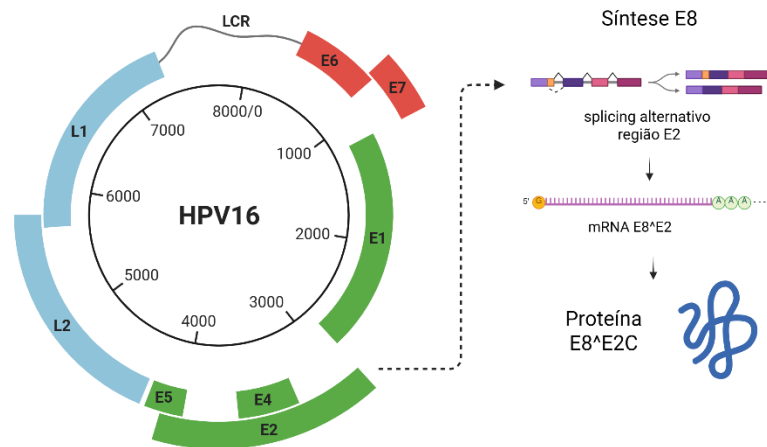
A estrutura física do HPV contribui diretamente para sua capacidade de infecção e evasão imunológica. A partícula viral, também denominada como vírion, é formada por uma capa proteica chamada capsídeo, que tem como principal função proteger o material genético [43]. O capsídeo, com 2 nanômetros de espessura, é formado por 72 capsômeros sintetizados a partir das proteínas estruturais L1 e L2, e, portanto, responsáveis pela estrutura viral icosaédrica, arredondada e com diâmetro de aproximadamente 55 nanômetros [44].

Seu genoma é composto por DNA circular de fita dupla, com aproximadamente 8kb, e está funcionalmente dividido em três regiões: 1) *Long Control Region* ou *Upper Regulatory Region*, com aproximadamente 400 bp a 1000 bp, sendo uma região regulatória da replicação viral e não codificante, responsável pelo controle da transcrição dos sítios genômicos, conhecidos como *Open Reading Frames* (ORFs); 2) *Early Region*, que apresenta os genes envolvidos na replicação viral, transcrição e oncogênese, responsáveis por transcrever as principais proteínas virais (E1, E2, E4, E5, E6 e E7), expressas a partir do momento em que há a interação com o genoma do hospedeiro, produzindo pequenas partículas virais que serão

encapsuladas com o início da síntese da 3) *Late Region*, que compreende genes de duas proteínas estruturais importantes para a síntese do capsídeo viral, L1 e L2, as quais serão fundamentais para o encapsulamento do genoma e a liberação de novas partículas [45,46].

O conjunto de proteínas virais pode ser funcionalmente agrupado em dois importantes blocos: as proteínas estruturais (L1 e L2) que constituem o capsídeo viral, e as proteínas precoces (E1, E2, E4, E5, E6 e E7), responsáveis por regular funções relacionadas a replicação viral, ciclo celular e oncogênese. Dentre essas, a proteína E1, está intrinsecamente ligada ao funcionamento da helicase devido à capacidade de se ligar a regiões ricas em bases nucleotídicas AT, elementos essenciais da replicação viral, enquanto E2 participa do particionamento e transcrição do genoma, necessárias para a replicação do HPV na célula hospedeira e a síntese proteica. A proteína E4 contribui com a liberação das novas partículas virais por meio da disruptura das camadas de queratina do epitélio, enquanto a E5 é responsável por codificar proteínas transmembrana responsáveis pela evasão imune e estímulos anti-apoptóticos, favorecendo a persistência da infecção [47].

As principais proteínas envolvidas na transformação celular – principal característica do hrHPV - são a E6 e E7. Essas proteínas promovem a degradação proteossômica mediada por ubiquitina, além de interagirem com componentes da maquinaria celular do hospedeiro formando complexos proteicos que favorecem a replicação viral e a transformação neoplásica [48]. A E6 inibe a apoptose por meio da ativação da telomerase e da degradação da proteína supressora tumoral p53, além de interferir negativamente na resposta imune inata ao inativar o fator de transcrição Fator Nuclear *kappa* B (NF- $\kappa$ B). Já a E7, promove a degradação da proteína do retinoblastoma (pRb), liberando os fatores de transcrição E2F e induzindo a entrada desregulada da fase S do ciclo celular. Essa cascata de eventos leva à proliferação celular descontrolada, à prevenção da senescência e a maior expressão de receptores como Receptor do Fator de Crescimento Epidérmico (EGFR), contribuindo para a progressão tumoral [49,50].



**Figura 1. Organização genômica do HPV16 e expressão de seus genes virais.** O genoma circular de fita dupla do HPV16 possui aproximadamente 8kb e está funcionalmente dividido em três regiões: *Long Control Region (LCR)*, *Early Region* (E1, E2, E4, E5, E6 e E7) e *Late Region* (L1 e L2). As regiões precoces são responsáveis pela regulação da replicação viral, modulação da resposta imune do hospedeiro e transformação celular. As regiões tardias codificam as proteínas estruturais L1 e L2, que compõem o capsídeo viral. A figura mostra também a transcrição e tradução dos genes E6 e E7, que estão implicados nos processos de oncogênese viral por meio da degradação das proteínas supressoras tumorais, bem como a síntese da proteína E8. Imagem de autoria própria criada com BioRender.

### 1.2.1 Patogênese Viral

A infecção pelo HPV se inicia com a entrada do vírus nas células metaplásicas da Zona de Transformação do epitélio cervical, mais especificamente nos queratinócitos presentes na camada basal [51]. Esse processo, normalmente assintomático, ocorre por meio da interação entre a proteína L1 do capsídeo viral e receptores celulares específicos expressos na superfície das células epiteliais basais, juntamente com a ação de proteoglicanos como o sulfato de heparano, e perdura por aproximadamente 3 a 4 meses, conhecido como tempo de incubação do vírus [52]. Esse proteoglicano ancorado na membrana é essencial para funções fisiológicas como angiogênese, coagulação e homeostase celular, além de ser responsável pelo acoplamento viral. A ligação entre o HPV e a célula hospedeira ocorre por meio da interação eletrostática entre a proteína L1 com a superfície celular dos queratinócitos [53].

O HPV apresenta mecanismos para escapar da detecção dos sistemas inato e adaptativo do hospedeiro. Um desses mecanismos é a regulação epigenética, através da metilação do DNA e da modificação de histonas, resultando na supressão da transcrição de genes cruciais envolvidos na resposta antiviral. Essa regulação negativa está associada a genes que codificam os *Toll-Like Receptors (TLRs)*, moléculas de adesão, citocinas, quimiocinas e moléculas coestimuladoras, todos essenciais para ativação e coordenação da imunidade antiviral [54].

Além disso, o HPV atenua a primeira linha de defesa do hospedeiro ao inibir a transdução de sinal induzido por Receptores de Reconhecimento de Padrão (PPRs) e a subsequente produção de Interferon tipo 1. As proteínas virais E5 e E6 desempenham papel central nesse processo, suprimindo tanto a resposta inflamatória quanto expressão de genes relacionados à resposta antigênica. Por consequência, o vírus compromete a maquinaria de processamento de antígenos, dificultando o reconhecimento do vírus pelas células T citotóxicas [55].

Na infecção produtiva inicial pelo HPV, o genoma viral é endocitado pela membrana celular e transportado para o citoplasma onde ocorre a lise do capsídeo viral, permanecendo predominantemente na forma episomal e replicando-se de maneira sincronizada com o ciclo celular dos queratinócitos, sob controle da proteína reguladora E2 [56]. Entretanto, em infecções persistentes por hrHPVs, ocorre integração do DNA viral ao genoma da célula hospedeira, processo fundamental para a progressão das lesões já que, resulta na interrupção ou perda funcional do gene E2, inibindo o efeito repressivo da proteína e exacerbando a expressão de genes E6 e E7 [57]. Nesse contexto, a proteína E7 degrada o complexo da pRb - importante reguladora da fase S do ciclo celular, cuja função é prevenir a proliferação descontrolada das células [58]. A perda dessa regulação leva à estimulação da divisão celular, aumento da síntese de DNA e desmetilação das histonas, que posteriormente induzem expressão de p53, conhecida como guardião do genoma celular. Em resposta, a proteína E6 se liga à ubiquitina ligase celular (E6AP), formando um complexo E6/E6AP/p53, que leva a degradação proteolítica da p53. Ademais, a E6 também exerce papel fundamental na estimulação da telomerase, promovendo inibição da senescência celular, característica intrínseca das neoplasias [59,60].

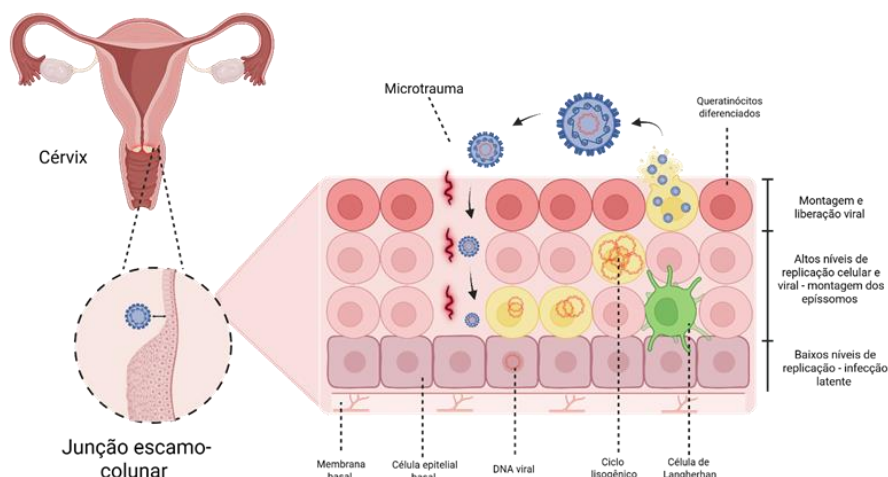
Por consequência, o ciclo viral do HPV favorece a infecção persistente ao atenuar a resposta imune inata, principalmente através da supressão da transdução de sinal induzida por PRRs, produção de Interferon tipo 1 e a modificação da maquinaria de processamento de antígenos, impedindo o reconhecimento do vírus pelas células T, que juntamente com o acúmulo de erros genéticos induzidos pelas proteínas E6 e E7, levam a progressão da lesão cervical [61,62].

Estudos recentes demonstraram que as proteínas E6 e E7 do HPV possuem a capacidade de modular a composição dos miRNAs exossomais presentes nas vesículas extracelulares (VEs), estruturas envolvidas na transmissão viral e na modulação imunológica do ambiente tumoral, por meio do transporte de proteínas e oncogenes relacionados à infecção [63]. Além disso, as VEs liberadas por células acometidas pelo HPV são capazes de levar a progressão tumoral por meio da influência do microambiente local e do estímulo pró-

inflamatório, facilitando a evasão do sistema imune e o processo de metástase, já que a potencialização da comunicação intercelular pró-oncogênica e remodelação do microambiente envolvido estão bem estabelecidas [64].

Outros estudos apontam a existência de outra importante proteína - embora pouco mencionada na literatura - responsável por modular a resposta imunológica do hospedeiro: a E8. Essa proteína participa ativamente na regulação da replicação viral e consequentemente, da evasão do sistema imune, por manter baixos níveis replicativos, porém persistentes, permitindo que o vírus se estabilize dentro do ambiente celular sem gerar respostas inflamatórias significativas (infecção latente) para sua detecção e destruição [65,66].

A proteína E8 não possui um gene responsável pela sua transcrição como ocorre entre as demais proteínas precoces. Em vez disso, é formada por um transcrito originado por *splicing* alternativo que conecta um segmento codificador do gene E8 com a porção C-terminal do gene E2, originando a proteína E8<sup>E2C</sup> [67]. Dessa forma, a E8 é essencial para a persistência viral, pois se liga nas mesmas regiões da proteína E2, no entanto, atua como repressor da replicação viral por meio da inibição de genes precoces E5 e E6. Essa repressão contribui para a manutenção de uma baixa carga viral, dificultando sua detecção pelo sistema imune e promovendo infecção persistente. Os genótipos virais que não apresentam a proteína E8 tendem a ter altas taxas replicativas e, consequentemente, ativação imediata da resposta imunológica e o *clearance* total [68].



**Figura 2.** Ciclo de infecção do HPV nas células epiteliais cervicais e estratégias de evasão imunológica. Após atingir a Zona de Transformação do colo uterino, o HPV infecta os queratinócitos da camada basal epitelial. A entrada viral ocorre pela ligação da proteína L1 a receptores celulares, seguida de internalização e transporte nuclear. A infecção progride conforme os queratinócitos se diferenciam, com expressão coordenada das proteínas precoces (E1-E7) e tardias (L1 e L2). As oncoproteínas E6 e E7 promovem desregulação do ciclo celular, inibição da apoptose e evasão imune, favorecendo a persistência viral e possível transformação neoplásica. Imagem modificada de autoria de Yousefi, et al., 2022 [69].

### 1.2.2 Imunologia do HPV

A maioria das infecções por HPV é controlada pelo sistema imune após a entrada do vírus na célula hospedeira. Nesse processo, os queratinócitos passam a aumentar a expressão e a produção de mediadores inflamatórios, como citocinas e quimiocinas, responsáveis pelo recrutamento de linfócitos T, monócitos, neutrófilos, eosinófilos e outras células imunes para o local da infecção. As células *Natural killer* (NKs) possuem papel fundamental no controle imunológico das células cancerígenas e infectadas por vírus, sendo encontradas principalmente nas lesões intraepiteliais [70]. Ademais, a associação do HPV com o câncer é altamente dependente das células de Langerhans e das células dendríticas que são cruciais para a proteção imunológica da pele e mucosas, já que o vírus é capaz de modular a função dessas células reduzindo a apresentação antigênica e ativação da resposta imune [71].

O sistema imunológico tem papel imprescindível na defesa contra o vírus e possui grande importância para impedir a ocorrência de infecções disseminadas e, no caso do HPV, a progressão para o câncer [54]. Os PRRs, como por exemplo TLR3, 7, 8 e 9, possuem função central na indução da resposta imune inata por meio da identificação da origem da infecção e da ativação subsequente da resposta adaptativa [72]. A ativação dos PRRs induz a síntese e liberação de citocinas por vias parácrinas e exócrinas, permitindo tanto a inibição genética viral, como a regulação do microambiente imunológico. Estudos feitos com amostras de *cytobrush* e lavados cervicais de mulheres com metaplasia cervical mostraram que a expressão aumentada dos PRRs [73] e de citocinas inflamatórias [74] como Interleucina (IL)-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-10, IL-12 e CXCL8 estão altamente associadas com o *clearance* viral.

Além dos TLRs, a presença do DNA viral também ativa outras classes de receptores, como por exemplo, o receptor Ausente em Melanoma 2 (AIM2), a proteína 16 induzível por interferon (IFI16) e a enzima guanossina monofosfato-adenosina monofosfato sintase cíclica (cGAS). O AIM2, juntamente com a cGAS, atuam como sensores de DNA viral, que ao detectarem as cadeias de ácidos nucleicos, desencadeiam a resposta inflamatória através da ativação de inflamassoma. Esse processo culmina na ativação da Caspase-1, levando a morte celular programada. Já a IFI16 está envolvida no controle do ciclo celular e sua ativação pode levar à inibição da proliferação de células epiteliais infectadas, contribuindo para contenção do vírus [75,76].

Uma vez ligado aos receptores, os vírus desencadeiam uma cascata de sinalização celular que envolve a produção do Interferon tipo 1 (sinalizador celular que bloqueia a replicação viral) e a ativação do NF- $\kappa$ B e a Proteína Quinase Ativada por Mitógeno (MAPK).

Esses elementos funcionam como sinalizadores celulares da inflamação e, por conseguinte, promovem a ativação do sistema imunológico incluindo a resposta mediada por linfócitos T, que culminarão na destruição do vírus [77].

A imunidade humoral do trato genital inferior feminino é mediada pelas imunoglobulinas IgG e IgA, que são secretadas na lâmina própria da cérvix, e oferecem proteção contra as partículas virais presentes no local [78]. Além disso, estudos recentes documentaram que o trato genital inferior feminino apresenta locais de resposta imune inata especializada, que agem por meio da produção de moléculas antimicrobianas como lisozima, lactoferrina, inibidores de serina leucocitária, além de alfa e beta-defensinas. Essas moléculas contribuem para defesa do organismo contra patógenos, junto à ação coordenada de linfócitos T, células NK, e células apresentadoras de antígenos, que são essenciais para o *clearance* viral [79].

Apesar do alto risco de contrair a infecção pelo HPV durante a vida sexualmente ativa, a capacidade de fazer o *clearance* viral está intrinsecamente relacionada ao êxito do sistema imunológico. Dessa forma, em até 80% dos casos de infecção por HPV pode haver o *clearance* espontâneo, diminuindo ou até zerando a taxa viral em 1 ou 2 anos, representando o estado de controle imunológico [80]. Estudos que correlacionam inversamente o *clearance* viral com os fatores de risco envolvendo o HPV, como o hábito tabagista [81,82], multiplicidade de parceiros [83] e coinfeção por outros agentes clássicos de ISTs [84,85], já são bem estabelecidos na literatura. Recentemente, o papel do microambiente vaginal, especialmente a composição da microbiota, tem sido amplamente reconhecido como influente na modulação do *clearance* e no curso da infecção pelo HPV [86,87].

### 1.3 MICROBIOMA VAGINAL

O corpo humano abriga uma vasta comunidade de microrganismos que colonizam diferentes nichos, como o intestino, a nasofaringe, a orofaringe, a pele e superfícies mucosas, incluindo o canal vaginal, formando o que denominamos de microbioma [88]. O microbioma está intrinsecamente e ativamente correlacionado com funções metabólicas, imunológicas, nutricionais e fisiológicas, exercendo papel fundamental na manutenção da saúde do hospedeiro [89].

No ambiente vaginal, a microbiota apresenta relação mutualística com o organismo feminino, funcionando como importante barreira de defesa contra organismos patogênicos. Durante a vida da mulher, a sua composição é influenciada por diversos fatores fisiológicos e

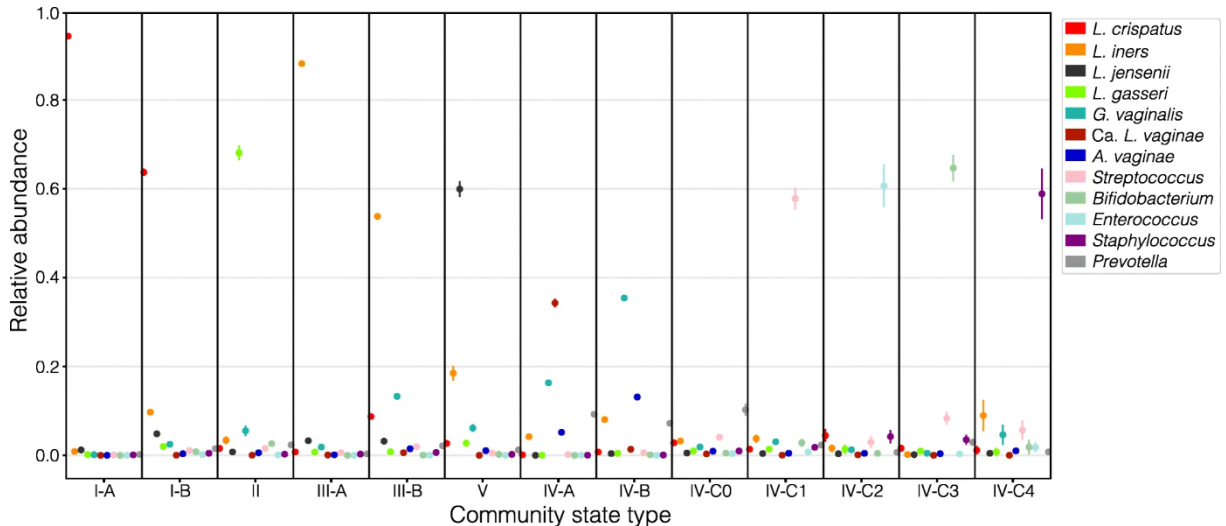
hormonais, como o ciclo menstrual, puberdade, período gestacional e menopausa. Essas mudanças afetam, bem como são afetadas pela fisiologia do hospedeiro, impactando diretamente no equilíbrio ecológico da microbiota vaginal [90].

De acordo com Ravel *et al.* [91], a microbiota vaginal pode ser dividida em cinco comunidades bacterianas distintas, intituladas *Community State Types* (CSTs) I, II, III, IV e V. As CSTs I, II, III e V são dominadas por diferentes espécies de lactobacilos, consideradas benéficas à saúde vaginal. Já a CST IV é composta por uma riqueza de táxons bacterianos, principalmente anaeróbios, estando fortemente associada aos casos de vaginose bacteriana (VB). No referido estudo, a CST I, dominada por *L. crispatus*, e esteve presente em 26,2% das mulheres incluídas no estudo, CST II, dominada por *L. gasseri* (6,3%); CST III, dominada por *L. iners* (34,1%); e CST V, dominada por *L. jensenii* (5,3%). Por sua vez, a CST IV não apresenta domínio de espécies lactobacilares, sendo caracterizada por uma comunidade composta por gêneros como *Prevotella*, *Sneathia*, *Megasphaera* e *Streptococcus*, considerados principais representantes do *core* patológico da VB [91].

Com o objetivo de aprimorar a classificação do microbioma vaginal, foi desenvolvido, pelo mesmo grupo de pesquisa, o método VALENCIA, constituído de um robusto banco de dados, com mais de 13 mil perfis taxonômicos, permitindo identificar e caracterizar, de forma mais abrangente os tipos de comunidades presentes na microbiota vaginal de mulheres em idade reprodutiva [92]. Essa atualização permitiu a categorização das comunidades microbianas em 13 diferentes CSTs, com base em sua composição taxonômica e abundância entre as espécies.

Diferentemente da abordagem de clusterização adotada em 2011, considerada menos fidedigna por capturar apenas um momento específico da microbiota, a caracterização pelo VALENCIA usa um algoritmo de classificação por centroide mais próximo. Isso significa que cada CST é definida por central de referência, aos quais novas amostras são comparadas para determinar a classificação mais semelhante [93]. Como consequência, o método apresenta maior estabilidade e reprodutibilidade, tendo em vista que a mudança no conjunto de dados analisados não altera a clusterização, garantindo consistência nas atribuições das amostras ao longo do tempo.

Deste modo, as comunidades foram subdivididas em 13 CSTs, sendo classificados como IA e IB, CST II, CST III A e IIIB, CST V, CST IV-A, IV-B, IV-C0, IV-C1, IV-C2, IV-C3 e IV-C4, e suas características estão apresentadas na Figura 3.



**Figura 3.** Classificação atualizada das comunidades bacterianas vaginais baseadas na composição microbiana de acordo com VALENCIA [92].

Assim, as CSTs I, II, III e V são dominadas por *Lactobacillus* spp. e, portanto, estão classicamente associadas a microbiota vaginal saudável. Por outro lado, as CSTs IV-A e IV-B estão majoritariamente relacionadas ao *core* patológico da VB, devido abundância de táxons anaeróbios associados à essa disbiose. A CST IV-C, foi subdividida em 5 grupos contendo diferentes táxons abundantes presentes e não é dominada por espécies lactobacilares: IV-C0, mais homogênea e com moderada abundância de *Prevotella*; IV-C1, dominada por *Streptococcus*; IV-C2, dominada por *Enterococcus*; IV-C3, dominada por *Bifidobacterium*; e IV-C4, dominada por *Staphylococcus* [94].

A mucosa vaginal é composta por epitélio escamoso estratificado não queratinizado, recoberto por uma camada mucosa lubrificada pelo fluido cervicovaginal que atua como uma barreira física contra microrganismos por possuir o pH ácido e moléculas antimicrobianas, como defensinas, mucinas, anticorpos e fatores surfactantes [95]. A acidificação do pH intravaginal é promovida pela ação dos isômeros L-lactato e D-lactato produzido pelas espécies lactobacilares. Em concentrações fisiológicas (110mM) [96], o ácido láctico em sua forma protonada reduz os níveis do pH vaginal e exacerba os efeitos protetivos do peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ) e das bacteriocinas contra patógenos como a *Gardnerella vaginalis*, *Trichomonas vaginalis*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Chlamydia trachomatis* e o próprio HPV [97].

Além disso, ambas as formas do ácido láctico contribuem para formação de um microambiente anti-inflamatório ao induzir a produção da citocina IL-10 e suprimir a expressão de mediadores pró-inflamatórios como Fator de Necrose Tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ) e IL-6, C-X-C motif chemokine ligand 8 (CXCL-8), *Regulated upon Activation, Normal T cell Expressed and*

*Secreted* (RANTES) e Proteína inflamatória de macrófagos 3 alfa (MIP-3 $\alpha$ ). O ácido láctico também inibe a translocação do NF- $\kappa$ B, importante regulador da inflamação e resposta imune local. Adicionalmente, também exerce papel na manutenção da estabilidade genômica ao inibir a atividade da histona desacetilase, promovendo o relaxamento da cromatina por meio da diminuição das interações entre as histonas e o DNA, permitindo o reparo de danos e a prevenção das mutações genéticas [98].

Outra importante atribuição dos *Lactobacillus* spp. é a produção ativa de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, que inibe o crescimento de organismos aeróbios catalase-negativos através da síntese de radicais livres de hidroxila. Também são capazes de prevenir, através de mecanismos de competição, que outros microrganismos patogênicos se fixem às células epiteliais [99].

Com o início da puberdade e durante a gravidez, há um aumento na produção de hormônios femininos - estrogênio e progesterona - fundamentais para a maturação epitelial e deposição de glicogênio nas células cervicais. Quando essas células sofrem lise, o glicogênio é liberado e sofre catabolização pela enzima  $\alpha$ -amilase, se transformando em maltose, maltotriose e  $\alpha$ -dextrina, açúcares simples que servem como substrato para o metabolismo dos *Lactobacillus* spp. para a produção do ácido láctico [100].

A microbiota vaginal é caracterizada como um ecossistema dinâmico, influenciado por fatores internos e externos, incluindo ciclo menstrual, terapias medicamentosas, uso de métodos contraceptivos, menopausa, gravidez, lactação, diabetes, estresse e práticas ginecológicas desfavoráveis, como a ducha vaginal. Apesar dessas influências serem bem documentadas, a etiopatogenia exata das disbioses vaginais ainda não está completamente elucidada na literatura [101].

Dessa forma, a depleção dos *Lactobacillus* spp. e a subsequente colonização por espécies anaeróbias, como as do gênero *Gardnerella*, *Mycoplasma*, *Prevotella*, *Ureaplasma* e *Bacteroides* está associada ao desenvolvimento da VB, uma condição muito comum entre mulheres em idade reprodutiva. Embora sua prevalência varie conforme fatores geográficos, sociodemográficos e culturais, possui maior incidência em mulheres negras e com menores índices educacionais [102]. Nos países em desenvolvimento, a prevalência varia entre 20% e 47% [103] enquanto nos Estados Unidos, o Centro de Controle e Prevenção de Doenças (CDC) relatou uma taxa de 29% de VB em mulheres entre 14 e 49 anos [104]. No Brasil, embora ainda haja poucos dados descrevendo a prevalência dessa disbiose, um estudo conduzido por nosso grupo de pesquisa, em 2015, que incluiu 1519 mulheres na região sudeste descreveu prevalência de 30,1% de VB [105].

Apesar de a VB ser caracterizada pela depleção dos *Lactobacillus* spp., com

diminuição da produção de ácido láctico e, conseqüentemente, aumento do pH vaginal e de ácidos graxos de cadeia curta, essa disbiose vaginal não institui resposta inflamatória neutrofílica, mas aumentam os níveis de produção de algumas citocinas inflamatórias [106]. Além disso, os microrganismos anaeróbios presentes produzem aminas a partir da conversão de aminoácidos, que se combinam com os nitratos e formam a nitrosamina, compostos capazes de gerar adutos no DNA, promovendo eventos mutagênicos que contribuem para a transformação do epitélio cervical e a progressão de lesões já existentes [107,108].

Há uma forte associação, já descrita em literatura, entre a VB e a redução da taxa de *clearance* do HPV. Esse desequilíbrio do microbioma favorece a degradação do muco cervical, a formação de biofilmes bacterianos e a produção de metabólitos inflamatórios, que induzem uma inflamação crônica de baixo grau, prejudicando a resposta imune antiviral, bem como o aumento do pH vaginal, observado em quadros de disbiose, o qual ativa a expressão da proteína E5 e favorece alterações no epitélio cervical, como a metaplasia. [109–111]. Além disso, a VB está associada à disrupção da integridade da barreira de células epiteliais e ao aumento da suscetibilidade a microlesões e, portanto, facilitando a persistência viral nas células basais do epitélio cervical [112].

Embora a infecção pelo hrHPV seja necessária para o desenvolvimento de neoplasias cervicais, ela não é, por si só, suficiente para desencadear o processo carcinogênico [113]. Estudos metagenômicos demonstram que a persistência do HPV está associada com a diminuição da abundância de *Lactobacillus* spp. e conseqüentemente, o aumento da diversidade microbiana vaginal. Esse desequilíbrio apresenta um ambiente propício à manutenção da infecção, aumento da persistência e progressão do HPV, por meio do aumento dos níveis inflamatórios moleculares e disrupção do sistema imunológico [114,115].

Estudos recentes da microbiota vaginal mostram que mulheres com microbiota vaginal depletada de *Lactobacillus* spp. apresentam não só maior associação com infecção por hrHPV, como também maior poder preditivo para o desenvolvimento de lesões neoplásicas do que as variáveis sociodemográficas e comportamentais, sugerindo que a composição bacteriana vaginal pode atuar como marcador biológico de risco. Esses achados reforçam a hipótese de que a disbiose vaginal contribui para um microambiente inflamatório e permissivo à persistência viral, condição fundamental para a progressão das lesões cervicais associadas ao HPV oncogênico [87,116].

A microbiota vaginal, portanto, exerce papel central na modulação do microambiente local, e por esse motivo, está relacionada com a defesa contra o HPV tanto no estado de pré infecção, quanto no *clearance* viral pós infecção. Em vista disso, estudos sugerem que o

consórcio de microrganismos presentes no microambiente vaginal pode contribuir para a persistência do HPV e no desenvolvimento de lesões precursoras do CCU, da mesma maneira que a prevalência de espécies lactobacilares podem aumentar as taxas de *clearance* do HPV [117–119].

Em última análise, estudos que confirmem a potencial correlação da microbiota vaginal associada à modulação do *clearance* viral do HPV, podem contribuir para desenvolvimento de alvos terapêuticos alternativos para os casos de câncer cervical, e ainda, podem deferir a importância da avaliação e manutenção da eubiose vaginal durante o curso da infecção pelo HPV.

## **Referências Bibliográficas**

- [1] International Agency for Research on Cancer. Cervical Cancer. World Health Organization; 2024. Disponível em: <https://www.iarc.who.int/cancer-type/cervical-cancer/>. Acessado em 18 de setembro de 2025.
- [2] Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva. Estimativa 2018: Incidência de Câncer no Brasil. Rio de Janeiro: Instituto Nacional de Câncer (INCA); 2017. Disponível em: <https://ninho.inca.gov.br/jspui/handle/123456789/3331>. Acessado em 18 de setembro de 2025.
- [3] Xu Y, Qiu Y, Yuan S, Wang H. Prognostic implication of human papillomavirus types in cervical cancer patients: a systematic review and meta-analysis. *Infect Agent Cancer*. 2020; 15:66.
- [4] Instituto Nacional de Câncer José Alencar da Silva (INCA). Câncer do colo do útero: dados e números. Rio de Janeiro: INCA; 2023. Disponível em: [https://www.inca.gov.br/sites/ufu.sti.inca.local/files/media/document/dados\\_e\\_numeros\\_colo\\_22marco2023.pdf](https://www.inca.gov.br/sites/ufu.sti.inca.local/files/media/document/dados_e_numeros_colo_22marco2023.pdf). Acessado em 10 de novembro de 2025.
- [5] Instituto Nacional do Câncer José Alencar Gomes da Silva. Atlas da Mortalidade. 2022. Disponível em: <https://www.gov.br/inca/pt-br/centrais-de-conteudo/aplicativos/atlas-de-mortalidade-por-cancer>. Acessado em 12 de novembro de 2025.
- [6] de Martel C, Plummer M, Vignat J, Franceschi S. Worldwide burden of cancer attributable to HPV by site, country and HPV type. *Int J Cancer*. 2017; 141:664–70.
- [7] Vu M, Yu J, Awolude OA, Chuang L. Cervical cancer worldwide. *Curr Probl Cancer*. 2018; 42:457–65.
- [8] Johnson CA, James D, Marzan A, Armaos M. Cervical Cancer: An Overview of Pathophysiology and Management. *Semin Oncol Nurs*. 2019; 35:166–74.
- [9] Frumovitz M, Sun CC, Schover LR, Munsell MF, Jhingran A, Wharton JT, et al. Quality of life and sexual functioning in cervical cancer survivors. *J Clin Oncol*. 2005; 23:7428–36.
- [10] Ribeiro AA, Costa MC, Alves RRF, Villa LL, Saddi VA, Carneiro MADs, et al. HPV infection and cervical neoplasia: Associated risk factors. *Infect Agent Cancer*. 2015; 10:10.
- [11] Vesco KK, Whitlock EP, Eder M, Burda BU, Senger CA, Lutz K. Risk Factors and Other Epidemiologic Considerations for Cervical Cancer Screening: A Narrative Review for the U.S. Preventive Services Task Force. *Ann Intern Med*. 2011; 155:698–705.
- [12] Collins S, Rollason TP, Young LS, Woodman CBJ. Cigarette smoking is an independent risk factor for cervical intraepithelial neoplasia in young women: A longitudinal study. *Eur J Cancer*. 2010; 46:405–11.
- [13] World Health Organization. Human papillomavirus (HPV) and cervical cancer 2023. Disponível em: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/human-papillomavirus-%28hpv%29-and-cervical-cancer>. Acessado em 13 de novembro de 2025
- [14] Doorbar J, Quint W, Banks L, Bravo IG, Stoler M, Broker TR, et al. The Biology and Life-Cycle of Human Papillomaviruses. *Vaccine*. 2012;30: F55–70.
- [15] International Agency for Research on Cancer; ICO/IARC HPV Information Centre. Human papillomavirus and related diseases report 2023. IARC; 2023. Disponível em: <https://hpvcentre.net>
- [16] Papanicolaou GN, Traut HF. Diagnosis of Uterine Cancer by the Vaginal Smear. New York: The Commonwealth Fund; 1943.
- [17] Ministério da Saúde. Câncer do colo do útero: exame para detecção é oferecido no SUS 2022. Câncer do colo do útero: exame para detecção é oferecido no SUS. Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/noticias/2022/marco/cancer-do-colo-do-utero-exame-para-deteccao-e-oferecido-no-sus>. Acessado em 21 de novembro de 2025
- [18] McBride AA. Human malignancies associated with persistent HPV infection. *Oncologist*. 2024; 29:457–64.
- [19] Pangarkar MA. The Bethesda System for reporting cervical cytology. *Cytojournal*. 2022; 19:28.
- [20] González-Yebra B, Mojica-Larrea M, Alonso R, González AL, Romero-Morelos P, Taniguchi-Ponciano K, et al. HPV infection profile in cervical lesions. *Gaceta de Mexico* 2022;158.
- [21] Neagu N, Dianzani C, Venuti A, Bonin S, Voidăzan S, Zalaudek I, et al. The role of HPV in keratinocyte skin cancer development: A systematic review. *J. Eur. Acad. Dermatol. Venereol*. 2023; 37:40–6.
- [22] Qin Y, Li Q, Ke X, Zhang Y, Shen X, Wang W, et al. Clearance of HR-HPV within one year after focused ultrasound or loop electrosurgical excision procedure in patients with HSIL under 30. *Int. J. Hyperther*; 39:15–21.
- [23] Loopik DL, Bentley HA, Eijgenraam MN, IntHout J, Bekkers RLM, Bentley JR. The Natural History of Cervical Intraepithelial Neoplasia Grades 1, 2, and 3: A Systematic Review and Meta-analysis. *J Low Genit Tract Dis* 2021; 25:221–31.
- [24] Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva (INCA). Nota Técnica no 1/2024-INCA/DIDEPRE/INCA/CONPREV/INCA/SAES/MS: Incorporação dos testes moleculares para detecção de HPV oncogênico (DNA-HPV) no SUS 2024. Disponível em: [https://www.inca.gov.br/sites/ufu.sti.inca.local/files/media/document/nota\\_informativa\\_sobre\\_dna-hpv.pdf](https://www.inca.gov.br/sites/ufu.sti.inca.local/files/media/document/nota_informativa_sobre_dna-hpv.pdf). Acessado em 28 de novembro de 2025.

- [25] Ministério da Saúde. SUS passa a ter teste inovador para detecção do HPV em mulheres 2024. Disponível em: <https://www.gov.br/inca/pt-br/assuntos/noticias/2024/sus-passa-a-ter-teste-inovador-para-deteccao-do-hpv-em-mulheres>. Acessado em 28 de novembro de 2025.
- [26] Instituto Nacional do Câncer (INCA). INCA alerta gestores para mudança nas diretrizes do rastreamento do câncer do colo do útero 2024. Disponível em: <https://www.gov.br/inca/pt-br/assuntos/noticias/2024/inca-alerta-gestores-para-mudanca-nas-diretrizes-do-rastreamento-do-cancer-do-colo-do-uterio>. Acessado em 28 de novembro de 2025.
- [27] Sadan O, Yarden H, Schejter E, Bilavsky E, Bachar R, Lurie S. Treatment of high-grade squamous intraepithelial lesions: A “see and treat” versus a three-step approach. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2007; 131:73–5.
- [28] Instituto Nacional do Câncer INCA. Controle do Câncer do Colo do Útero -Tratamento 2022. Disponível em: <https://www.gov.br/inca/pt-br/assuntos/gestor-e-profissional-de-saude/controle-do-cancer-do-colo-do-uterio/acoes/tratamento>. Acessado em 03 de dezembro de 2025.
- [29] Ministério da Saúde. Vacina é a medida mais eficaz de prevenção contra o HPV 2025. Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-com-ciencia/noticias/2025/marco/vacina-e-a-medida-mais-eficaz-de-prevencao-contra-o-hpv>. Acessado em 03 de dezembro de 2025.
- [30] Leggatt GR, Frazer IH. HPV vaccines: the beginning of the end for cervical cancer. *Curr Opin Immunol* 2007; 19:232–8.
- [31] Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ). Quais As Diferenças Entre Os Tipos de Vacina Existentes Contra o HPV? 2019. Disponível em: <https://fiocruz.br/pergunta/quais-diferencas-entre-os-tipos-de-vacina-existentis-contra-o-hpv>. Acessado em 03 de dezembro de 2025.
- [32] Goldstone SE. Human papillomavirus (HPV) vaccines in adults: Learnings from long-term follow-up of quadrivalent HPV vaccine clinical trials. *Hum Vaccin Immunother* 2023;19.
- [33] Shapiro GK. HPV Vaccination: An Underused Strategy for the Prevention of Cancer. *Curr Oncol* 2022; 29:3780–92.
- [34] Porras C, Tsang SH, Herrero R, Guillén D, Darragh TM, Stoler MH, et al. Efficacy of the bivalent HPV vaccine against HPV 16/18-associated precancer: long-term follow-up results from the Costa Rica Vaccine Trial. *Lancet Oncol* 2020; 21:1643–52.
- [35] Bernard H-U, Burk RD, Chen Z, van Doorslaer K, zur Hausen H, de Villiers E-M. Classification of papillomaviruses (PVs) based on 189 PV types and proposal of taxonomic amendments. *Virology* 2010; 401:70–9.
- [36] Araldi RP, Sant’Ana TA, Módolo DG, de Melo TC, Spadacci-Morena DD, de Cassia Stocco R, et al. The human papillomavirus (HPV)-related cancer biology: An overview. *Biomed. Pharmacother* 2018; 106:1537–56.
- [37] de Villiers E-M. Cross-roads in the classification of papillomaviruses. *Virology* 2013; 445:2–
- [38] Zhao M, Kang P, Zhu L, Zhou D, Cui M, Zhang M, et al. Global pattern of persistent human papillomavirus infection in female genital tract: an updated systematic review and meta-analysis. *iScience.* 2024; 27:110991.
- [39] Camara GNNL, Cruz MR, Veras VS, Martins CRF. Os papilomavírus humanos – HPV: histórico, morfologia e ciclo biológico. *Univ Cienc Saude.* 2008;1(1):149-158.
- [40] Van Doorslaer K. Evolution of the Papillomaviridae. *Virology* 2013; 445:11–20.
- [41] Chelimo C, Wouldes TA, Cameron LD, Elwood JM. Risk factors for and prevention of human papillomaviruses (HPV), genital warts and cervical cancer. *J. Infect.* 2013; 66:207.
- [42] Limberger A, Oliveira CF de, Correa MP, Reus TL, Oda JMM, Carneiro NK, et al. Aspectos imunológicos da infecção pelo vírus do papiloma humano (HPV). *Semina cienc. biol. Saúde.* 2012; 33.
- [43] Mac M, Moody CA. Epigenetic Regulation of the Human Papillomavirus Life Cycle. *Pathogens* 2020; 9:483.
- [44] Burd EM. Human Papillomavirus and Cervical Cancer. *Clin Microbiol Rev.* 2003; 16:1–17.
- [45] Day PM, Schelhaas M. Concepts of papillomavirus entry into host cells. *Curr Opin Virol* 2014; 4:24–31.
- [46] Vashisht S, Mishra H, Mishra PK, Ekielski A, Talegaonkar S. Structure, Genome, Infection Cycle and Clinical Manifestations Associated with Human Papillomavirus. *Curr Pharm Biotechnol.* 2019; 20:1260–80.
- [47] Graham SV. The human papillomavirus replication cycle, and its links to cancer progression: a comprehensive review. *Clin Sci.* 2017; 131:2201–21.
- [48] McLaughlin-Drubin ME, Meyers J, Munger K. Cancer associated human papillomaviruses. *Curr Opin Virol.* 2012; 2:459–66.
- [49] Della Fera AN, Warburton A, Coursey TL, Khurana S, McBride AA. Persistent Human Papillomavirus Infection. *Viruses.* 2021; 13:321.
- [50] Travé G, Zanier K. HPV-mediated inactivation of tumor suppressor p53. *Cell Cycle* 2016; 15:2231–2.
- [51] Bosch FX, Lorincz A, Munoz N, Meijer CJLM, Shah K V. The causal relation between human

- papillomavirus and cervical cancer. *J Clin Pathol.* 2002; 55:244–65.
- [52] Giroglou T, Florin L, Schäfer F, Streeck RE, Sapp M. Human Papillomavirus Infection Requires Cell Surface Heparan Sulfate. *J Virol* 2001; 75:1565–70.
- [53] Cagno V, Tseligka ED, Jones ST, Tapparel C. Heparan Sulfate Proteoglycans and Viral Attachment: True Receptors or Adaptation Bias? *Viruses.* 2019; 11:596.
- [54] Feller L, Wood NH, Khammissa RAG, Chikte UME, Meyerov R, Lemmer J. HPV modulation of host immune responses. *S. Afr. Dent. J.* 2010; 65:266–8.
- [55] Jee B, Yadav R, Pankaj S, Shahi SK. Immunology of HPV-mediated cervical cancer: current understanding. *Int Rev Immunol.* 2021; 40:359–78.
- [56] Porter SS, Stepp WH, Stamos JD, McBride AA. Host cell restriction factors that limit transcription and replication of human papillomavirus. *Virus Res.* 2017; 231:10–20.
- [57] Frattini MG, Laimins LA. Binding of the human papillomavirus E1 origin-recognition protein is regulated through complex formation with the E2 enhancer-binding protein. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 1994; 91:12398–402.
- [58] Pett M, Coleman N. Integration of high-risk human papillomavirus: a key event in cervical carcinogenesis? *J Pathol.* 2007; 212:356–67.
- [59] Scheffner M, Huibregtse JM, Vierstra RD, Howley PM. The HPV-16 E6 and E6-AP complex functions as a ubiquitin-protein ligase in the ubiquitination of p53. *Cell* 1993; 75:495–505.
- [60] Hoppe-Seyler K, Bossler F, Braun JA, Herrmann AL, Hoppe-Seyler F. The HPV E6/E7 Oncogenes: Key Factors for Viral Carcinogenesis and Therapeutic Targets. *Trends Microbiol.* 2018; 26:158–68.
- [61] Zhou C, Tuong ZK, Frazer IH. Papillomavirus Immune Evasion Strategies Target the Infected Cell and the Local Immune System. *Front Oncol* 2019;9.
- [62] Senba M, Mori N. Mechanisms of virus immune evasion lead to development from chronic inflammation to cancer formation associated with human papillomavirus infection. *Oncol Rev* 2012; 6:17.
- [63] Guenat D, Hermetet F, Prétet J-L, Mougin C. Exosomes and Other Extracellular Vesicles in HPV Transmission and Carcinogenesis. *Viruses* 2017; 9:211.
- [64] Chiantore MV, Mangino G, Iuliano M, Zangrillo MS, De Lillis I, Vaccari G, et al. Human papillomavirus E6 and E7 oncoproteins affect the expression of cancer-related microRNAs: additional evidence in HPV-induced tumorigenesis. *J Cancer Res Clin Oncol* 2016; 142:1751–63.
- [65] Oyouni AAA. Human papillomavirus in cancer: Infection, disease transmission, and progress in vaccines. *J Infect Public Health* 2023; 16:626–31.
- [66] Harden ME, Munger K. Human papillomavirus molecular biology. *Mutat. Res. Rev. Mutat. Res.* 2017; 772:3–12.
- [67] Dreer M, Fertey J, van de Poel S, Straub E, Madlung J, Macek B, et al. Interaction of NCOR/SMRT Repressor Complexes with Papillomavirus E8<sup>E2C</sup> Proteins Inhibits Viral Replication. *PLoS Pathog* 2016;12: e1005556.
- [68] Dreer M, van de Poel S, Stubenrauch F. Control of viral replication and transcription by the papillomavirus E8<sup>E2</sup> protein. *Virus Res* 2017; 231:96–102.
- [69] Yousefi Z, Aria H, Ghaedrahmati F, Bakhtiari T, Azizi M, Bastan R, et al. An Update on Human Papilloma Virus Vaccines: History, Types, Protection, and Efficacy. *Front Immunol* 2022;12.
- [70] Vitale M, Cantoni C, Pietra G, Mingari MC, Moretta L. Effect of tumor cells and tumor microenvironment on NK-cell function. *Eur J Immunol* 2014; 44:1582–92.
- [71] Blauvelt A, Katz SI, Udey MC. Human Langerhans Cells Express E-Cadherin. *J Invest Dermatol* 1995; 104:293–6.
- [72] Moerman-Herzog A, Nakagawa M. Early Defensive Mechanisms against Human Papillomavirus Infection. *Clin. Vaccine Immunol.* 2015; 22:850–7.
- [73] Daud II, Scott ME, Ma Y, Shiboski S, Farhat S, Moscicki A. Association between toll-like receptor expression and human papillomavirus type 16 persistence. *Int J Cancer* 2011; 128:879–86.
- [74] Hwang LY, Scott ME, Ma Y, Moscicki A-B. Higher levels of cervicovaginal inflammatory and regulatory cytokines and chemokines in healthy young women with immature cervical epithelium. *J Reprod Immunol.* 2011; 88:66–71.
- [75] Westrich JA, Warren CJ, Pyeon D. Evasion of host immune defenses by human papillomavirus. *Virus Res.* 2017; 231:21–33.
- [76] Hornung V, Ablasser A, Charrel-Dennis M, Bauernfeind F, Horvath G, Caffrey DanielR, et al. AIM2 recognizes cytosolic dsDNA and forms a caspase-1-activating inflammasome with ASC. *Nature* 2009; 458:514–8.
- [77] Takeuchi O, Akira S. Pattern Recognition Receptors and Inflammation. *Cell* 2010; 140:805–20.
- [78] Pudney J, Quayle AJ, Anderson DJ. Immunological Microenvironments in the Human Vagina and Cervix: Mediators of Cellular Immunity Are Concentrated in the Cervical Transformation Zone1. *Biol Reprod* 2005; 73:1253–63.

- [79] Russell MW, Hedges SR, Wu H, Hook EW, Mestecky J. Mucosal Immunity in the Genital Tract: Prospects for Vaccines Against Sexually Transmitted Diseases—A Review. *Am. J. Reprod. Immunol.* 1999; 42:58–63.
- [80] Ryser MD, Myers ER, Durrett R. HPV Clearance and the Neglected Role of Stochasticity. *PLoS Comput Biol* 2015;11: e1004113.
- [81] Koshiol J, Schroeder J, Jamieson DJ, Marshall SW, Duerr A, Heilig CM, et al. Smoking and Time to Clearance of Human Papillomavirus Infection in HIV-Seropositive and HIV-Seronegative Women. *Am J Epidemiol* 2006; 164:176–83.
- [82] Ma\* K, Li\* S, Wu S, Zhu J, Yang Y. Impact of smoking exposure on human papillomavirus clearance among Chinese women: A follow-up propensity score matching study. *Tob Induc Dis.* 2023; 21:1–11.
- [83] Chaturvedi AK, Katki HA, Hildesheim A, Rodríguez AC, Quint W, Schiffman M, et al. Human Papillomavirus Infection with Multiple Types: Pattern of Coinfection and Risk of Cervical Disease. *J Infect Dis* 2011; 203:910–20.
- [84] Travassos AG, Netto E, Xavier-Souza E, Nóbrega I, Adami K, Timbó M, et al. Predictors of HPV incidence and clearance in a cohort of Brazilian HIV-infected women. *PLoS One* 2017;12: e0185423.
- [85] Kops NL, Bessel M, Horvath JDC, Domingues C, de Souza FMA, Benzaken AS, et al. Factors associated with HPV and other self-reported STI coinfections among sexually active Brazilian young adults: cross-sectional nationwide study. *BMJ Open* 2019;9:e027438.
- [86] Usyk M, Zolnik CP, Castle PE, Porras C, Herrero R, Gradissimo A, et al. Cervicovaginal microbiome and natural history of HPV in a longitudinal study. *PLoS Pathog* 2020;16: e1008376.
- [87] Andrade Pessoa Morales J, Marconi C, El-Zein M, Ravel J, da Silva Pinto GV, Silveira R, et al. Vaginal Microbiome Components as Correlates of Cervical Human Papillomavirus Infection. *J Infect Dis.* 2022; 226:1084–97.
- [88] Zheng D, Liwinski T, Elinav E. Interaction between microbiota and immunity in health and disease. *Cell Res* 2020; 30:492–506.
- [89] Lynch JB, Hsiao EY. Microbiomes as sources of emergent host phenotypes. *Science* (1979) 2019; 365:1405–9.
- [90] Farage M, Maibach H. Lifetime changes in the vulva and vagina. *Arch Gynecol Obstet* 2006; 273:195–202.
- [91] Ravel J, Gajer P, Abdo Z, Schneider GM, Koenig SSK, McCulle SL, et al. Vaginal microbiome of reproductive-age women. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 2011; 108:4680–7.
- [92] France MT, Ma B, Gajer P, Brown S, Humphrys MS, Holm JB, et al. VALENCIA: a nearest centroid classification method for vaginal microbial communities based on composition. *Microbiome* 2020; 8:166.
- [93] Kiecka A, Rak K, Białecka J, Białecka A, Szczepanik M. The Presence of *Lactobacillus* spp. and its Effect on the Occurrence of Other Microorganisms in the Reproductive Tract of Polish Women. *Pol J Microbiol* 2024; 73:265–73.
- [94] Coleman JS, Gaydos CA. Molecular Diagnosis of Bacterial Vaginosis: an Update. *J Clin Microbiol* 2018;56.
- [95] Witkin S, Linhares I. Why do lactobacilli dominate the human vaginal microbiota? *BJOG* 2017; 124:606–11.
- [96] Witkin SS, Mendes-Soares H, Linhares IM, Jayaram A, Ledger WJ, Forney LJ. Influence of Vaginal Bacteria and D and L Lactic Acid Isomers on Vaginal Extracellular Matrix Metalloproteinase Inducer: Implications for Protection against Upper Genital Tract Infections. *MBio* 2013;4.
- [97] Aldunate M, Tyssen D, Johnson A, Zakir T, Sonza S, Moench T, et al. Vaginal concentrations of lactic acid potentially inactivate HIV. *J. Antimicrob. Chemother.* 2013; 68:2015–25.
- [98] Lee JM, Hwang K-T, Jun WJ, Park C-S, Lee M-Y. Antiinflammatory effect of lactic acid bacteria: inhibition of cyclooxygenase-2 by suppressing nuclear factor-kappaB in Raw264.7 macrophage cells. *J Microbiol Biotechnol* 2008; 18:1683–8.
- [99] Rose WA, McGowin CL, Spagnuolo RA, Eaves-Pyles TD, Popov VL, Pyles RB. Commensal bacteria modulate innate immune responses of vaginal epithelial cell multilayer cultures. *PLoS One.* 2012;7(7): e32728.
- [100] Amabebe E, Anumba DOC. The Vaginal Microenvironment: The Physiologic Role of Lactobacilli. *Front Med (Lausanne)* 2018; 5.
- [101] MacIntyre DA, Chandiramani M, Lee YS, Kindinger L, Smith A, Angelopoulos N, et al. The vaginal microbiome during pregnancy and the postpartum period in a European population. *Sci Rep* 2015; 5:8988.
- [102] Allsworth JE, Peipert JF. Prevalence of Bacterial Vaginosis. *Obstetrics & Gynecology* 2007; 109:114–20.
- [103] Bhujel R, Mishra SK, Yadav SK, Bista KD, Parajuli K. Comparative study of Amsel’s criteria and Nugent scoring for diagnosis of bacterial vaginosis in a tertiary care hospital, Nepal. *BMC Infect Dis* 2021; 21:825.
- [104] Workowski KA, Berman S, Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Sexually transmitted diseases treatment guidelines, 2010. *MMWR Recomm Rep.* 2010; 59:1–110.

- [105] Marconi C, Duarte MTC, Silva DC, Silva MG. Prevalence of and risk factors for bacterial vaginosis among women of reproductive age attending cervical screening in southeastern Brazil. *Int. J. Gynecol. Obstet.* 2015; 131:137–41.
- [106] Ghattargi S, Sheela N, Dias M. Prevalence and risk factors for bacterial vaginosis and comparison of diagnostic criteria. *Int J Reprod Contracept Obstet Gynecol.* 2018 Sep;7(9):3478–3484.
- [107] Witkin S. The vaginal microbiome, vaginal anti-microbial defence mechanisms and the clinical challenge of reducing infection-related preterm birth. *BJOG* 2015; 122:213–8.
- [108] Gillet E, Meys JFA, Verstraelen H, Verhelst R, De Sutter P, Temmerman M, et al. Association between Bacterial Vaginosis and Cervical Intraepithelial Neoplasia: Systematic Review and Meta-Analysis. *PLoS One* 2012;7: e45201.
- [109] Lin D, Kouzy R, Abi Jaoude J, Noticewala SS, Delgado Medrano AY, Klopp AH, et al. Microbiome factors in HPV-driven carcinogenesis and cancers. *PLoS Pathog* 2020;16: e1008524.
- [110] Mitra A, MacIntyre DA, Marchesi JR, Lee YS, Bennett PR, Kyrgiou M. The vaginal microbiota, human papillomavirus infection and cervical intraepithelial neoplasia: what do we know and where are we going next? *Microbiome* 2016; 4:58.
- [111] Kwon M, Seo S-S, Kim MK, Lee DO, Lim MC. Compositional and Functional Differences between Microbiota and Cervical Carcinogenesis as Identified by Shotgun Metagenomic Sequencing. *Cancers (Basel)* 2019; 11:309.
- [112] Brotman RM. Vaginal microbiome and sexually transmitted infections: an epidemiologic perspective. *J. Clin. Invest.* 2011; 121:4610–7.
- [113] Muñoz N, Castellsagué X, de González AB, Gissmann L. Chapter 1: HPV in the etiology of human cancer. *Vaccine* 2006;24: S1–10.
- [114] Klein C, Gonzalez D, Samwel K, Kahesa C, Mwaiselage J, Aluthge N, et al. Relationship between the Cervical Microbiome, HIV Status, and Precancerous Lesions. *MBio* 2019;10.
- [115] Łaniewski P, Barnes D, Goulder A, Cui H, Roe DJ, Chase DM, et al. Linking cervicovaginal immune signatures, HPV and microbiota composition in cervical carcinogenesis in non-Hispanic and Hispanic women. *Sci Rep* 2018; 8:7593.
- [116] Bautista J, Altamirano-Colina A, López-Cortés A. The vaginal microbiome in HPV persistence and cervical cancer progression. *Front Cell Infect Microbiol* 2025,15.

## **Capítulo 2**

Artigo Científico I

*Journal of Infectious Diseases* (FI: 4.5)