



**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE MEDICINA**

MARIANA BOTREL CUNHA

**Prevalência e genotipagem do Papilomavírus Humano em
biópsias de retinoblastoma e respectivas amostras
cervicais maternas: revisão sistemática e metanálise**

Dissertação apresentada à Faculdade de
Medicina, Universidade Estadual Paulista
“Júlio de Mesquita Filho”, Campus de
Botucatu, para obtenção do título de
Mestre em Tocoginecologia.

Orientador: Prof. Dr. Agnaldo Lopes da Silva Filho
Coorientadores: Profa. Dra. Meline Rossetto Kron Rodrigues
Prof. Dr. Raimo Tuuminen

**Botucatu
2023**

Mariana Botrel Cunha

Prevalência e genotipagem do Papilomavírus Humano em
biópsias de retinoblastoma e respectivas amostras cervicais
maternas: revisão sistemática e metanálise

Dissertação apresentada à Faculdade de
Medicina, Universidade Estadual Paulista
“Júlio de Mesquita Filho”, Campus de
Botucatu, para obtenção do título de
Mestre em Tocoginecologia.

Orientador: Prof. Dr. Agnaldo Lopes da Silva Filho
Coorientadores: Profa. Dra. Meline Rossetto Kron Rodrigues
Prof. Dr. Raimo Tuuminen

**Botucatu
2023**

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSEMEIRE APARECIDA VICENTE-CRB 8/5651

Cunha, Mariana Botrel.

Prevalência e genotipagem do Papilomavírus Humano em biópsias de retinoblastoma e respectivas amostras cervicais maternas : revisão sistemática e metanálise / Mariana Botrel Cunha. - Botucatu, 2023

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Faculdade de Medicina de Botucatu
Orientador: Agnaldo Lopes da Silva Filho
Coorientador: Meline Rossetto Kron Rodrigues
Coorientador: Raimo Tuuminen
Capes: 40101177

1. Prevalência. 2. Técnicas de genotipagem. 3. Revisão. 4. Metanálise. 5. Papillomaviridae. 6. Retinoblastoma - Biópsia.

Palavras-chave: Genotipagem viral; Papilomavírus humano; Prevalência; Retinoblastoma; Revisão sistemática e metanálise.

Mariana Botrel Cunha

Prevalência e genotipagem do Papilomavírus Humano em biópsias de
retinoblastoma e respectivas amostras cervicais maternas: revisão
sistemática e metanálise

Dissertação apresentada à Faculdade de Medicina, Universidade Estadual Paulista
“Júlio de Mesquita Filho”, Campus de Botucatu, para obtenção do título de Mestre
em Tocoginecologia.

Orientador: Prof. Dr. Agnaldo Lopes da Silva Filho

Comissão examinadora

Prof. Dr. Agnaldo Lopes da Silva Filho
Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”

Prof. Dra. Eliane Chaves Jorge
Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”

Prof. Dra. Ana Cláudia Molina
Prefeitura Municipal de Botucatu

Botucatu, 24 de abril de 2023

Dedico este trabalho primeiramente a Deus, pela oportunidade da vida e pela saúde.

Aos meus amados pais, Eliane e Rodrigo, pelo incentivo diário dos meus objetivos profissionais e pessoais. Por me ensinarem a ter paciência, humildade e valores intactos e fortes.

À Carol, minha irmã, eterna dupla e fonte de alegria e amor, pelo incentivo à minha paixão e determinação nos estudos.

À minha estimada avó Mary, cujo amor, sabedoria e fé inspiram-me e emocionam-me. Aos meus preciosos avôs Ronald, Chico e Maria, não presentes entre nós, pelos exemplos de força, persistência, ética e coragem.

À minha amiga e estimada co-orientadora Professora Meline Rossetto Kron Rodrigues, a quem admiro por ser exemplo de pessoa bondosa e profissional muito competente, dedicada e apaixonada pelo o que faz. Muito obrigada pelos ensinamentos valiosos, didáticos e por sempre ter me conduzido com leveza e alegria.

AGRADECIMENTOS

Ao meu querido orientador, Professor Agnaldo Lopes da Silva Filho, por ser um grande exemplo, ter me acolhido e lecionado de forma tão salutar, profissional e científica.

Ao meu prezado co-orientador Professor Raimo Tuuminen pela oportunidade, orientação e presteza em sempre ajudar.

Aos Professores colaboradores Christian Marcellus de Camargo Campos e Eliane Chaves Jorge pela ajuda, conhecimento científico e correções preciosas.

Ao amigo e grande educador Marcelo Gobbo Júnior pelo dom de orientar e ensinar de forma tão didática, prática e motivadora.

A todos os meus queridos amigos, que entendem na minha ausência a minha dedicação. Especialmente, aos amigos Pedro, Lucas e Pri pelo suporte, alegria e companheirismo ao longo dessa jornada, obrigada pelo carinho e pelos momentos especiais que passamos juntos. Aos amigos do mestrado, Carol Nakano, Renata Lack e Pedro, muito obrigada pelas dicas de ouro e apoio gigante.

A todos os responsáveis pelo Programa de Pós-Graduação em Tocoginecologia da Faculdade de Medicina de Botucatu, desde professores a funcionários, pela dedicação aos alunos e pela importância científica que possuem. Em especial, à Professora Tamara Beres Lederer Goldberg pelas aulas de revisão sistemática muito enriquecedoras e incentivadoras. Muito obrigada à Marluci Betini pela ajuda grandiosa, pelos webinars excelentes e à Solange Sako Cagliari pela disponibilidade, prontidão e assistência cuidadosa.

“Só existem dois dias no ano que nada pode ser feito. Um se chama ontem e o outro se chama amanhã, portanto hoje é o dia certo para amar, acreditar, fazer e principalmente viver.”

Dalai Lama

RESUMO

CUNHA, M. B. **Prevalência e genotipagem do Papilomavírus humano em biópsias de retinoblastoma e respectivas amostras cervicais maternas**: revisão sistemática e metanálise. 2023. Dissertação (Mestrado em Tocoginecologia) – Faculdade de Medicina de Botucatu, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2023.

Introdução: Vários estudos têm demonstrado a associação entre o Papilomavírus Humano (HPV) de alto risco e o retinoblastoma (RB), especialmente nos países em desenvolvimento. O HPV pode representar um fator de risco importante no desenvolvimento de tal neoplasia, estando presente em até 82,3% das biópsias de RB esporádico. Além disso, presume-se que a transmissão vertical do HPV pode ser uma possível via de infecção. Objetivos: Avaliar a prevalência e a genotipagem do HPV em biópsias de RB e respectivas amostras cervicais maternas, determinar o percentual e o coeficiente de concordância entre os resultados dos testes de genotipagem do HPV das crianças com RB e suas mães. Métodos: A revisão sistemática com metanálise foi realizada por meio da consulta nas bases de dados PubMed, EMBASE, Lilacs, Scielo, Medline, IBECs e Cochrane Central Register of Controlled Trials (CENTRAL). Informações sobre ensaios clínicos em andamento foram pesquisadas pelos sites <http://www.ensaiosclinicos.gov.br/> e <http://clinicaltrials.gov> e a literatura cinzenta foi rastreada através do Google Acadêmico e Catálogo de Teses & Dissertações – CAPES até janeiro de 2023. Os descritores incluíram "Gammapapillomavirus", "Papillomavirus infections", "Papillomaviridae", "Retinoblastoma", "Eye Neoplasms", "Infectious Disease Transmission, Vertical" e "Vaginal Smears". Foram incluídos estudos que avaliaram a prevalência e a genotipagem do HPV em biópsias de RB e amostras cervicais maternas correspondentes. A Escala Newcastle-Ottawa (ENO) foi utilizada para avaliar a qualidade metodológica. Os desfechos em comum dos artigos incluídos foram analisados quantitativamente e o coeficiente de concordância entre a presença/ausência de HPV foi avaliado pelo teste kappa. A qualidade das evidências foi gerada de acordo com a classificação, desenvolvimento e avaliação da classificação das recomendações (GRADE). As análises estatísticas foram realizadas pelos softwares RevMan versão 5.3 (risco de viés) e Stata versão 14 (metanálises e teste kappa). Resultados: Foram identificados 133 estudos nas bases de dados pesquisadas. Após triagem e seleção conforme os critérios de inclusão e de exclusão,

foram incluídos dois estudos na presente revisão, com heterogeneidade nula ($I^2 = 0\%$) entre eles. Os achados demonstraram uma alta prevalência agregada de HPV (62%, IC 95% 0.45 – 0.79), de HPV de alto risco (45%, IC 95% = 0.28 – 0.63) e de HPV-16 (42%, IC 95% = 0.25 – 0.59) nas biópsias de RB. Também apontaram uma alta prevalência agregada de HPV (53%, IC 95% = 0.34 – 0.72), de HPV de alto risco (53%, IC 95% = 0.34 – 0.72) e de HPV-16 (35%, IC 95% = 0.17 – 0.53) nos esfregaços cervicais maternos respectivos. O percentual de concordância agregada entre os resultados dos testes de genotipagem de HPV realizados em ambas as amostras foi de 43% (IC 95% 0.26 – 0.61), evidência de muito baixa qualidade. O teste kappa não alcançou significância estatística em ambos os estudos. Conclusões: Não há evidências robustas ou de alta qualidade para confirmar a hipótese de que esse câncer pode estar relacionado ou causado pelo HPV. Conclui-se que as prevalências agregadas de HPV, de HPV de alto risco e de HPV-16 em amostras de RB e cervicais maternas podem ser consideráveis; embora a transmissão vertical seja questionável.

Registro

PROSPERO:

CRD42021256625.

Palavras-chave: Papilomavírus humano, prevalência, genotipagem viral, retinoblastoma, revisão sistemática, metanálise.

ABSTRACT

CUNHA, M. B. **Human papillomavirus prevalence and genotyping in retinoblastoma biopsies and respective maternal cervical specimens: systematic review and metanalysis.** 2023. Dissertation (Master's in Tocogynecology) – Medical School of Botucatu, São Paulo State University, Botucatu, 2023.

Introduction: Several studies have demonstrated the association between the high-risk Human Papillomavirus (HPV) and retinoblastoma (RB), especially in developing countries. HPV may represent an important risk factor in the development of such neoplasm, being present in up to 82.3% of sporadic RB biopsies. In addition, it is presumed that vertical transmission of HPV may be a possible route of infection. Objectives: To evaluate the prevalence and genotyping of HPV in RB biopsies and respective maternal cervical specimens, and to determine the percentage and coefficient of agreement between the results of HPV genotyping tests of children with RB and their mothers. Methods: A systematic review with meta-analysis was performed by searching PubMed, EMBASE, Lilacs, Scielo, Medline, IBECs, and Cochrane Central Register of Controlled Trials (CENTRAL) databases. Information on ongoing clinical trials was searched through <http://www.ensaiosclinicos.gov.br/> and <http://clinicaltrials.gov>, and grey literature was screened through Google Scholar and CAPES Theses & Dissertations Catalog until January 2023. The descriptors included "Gammapapillomavirus", "Papillomavirus infections", "Papillomaviridae", "Retinoblastoma", "Eye Neoplasms", "Infectious Disease Transmission, Vertical" and "Vaginal Smears". Studies that evaluated the prevalence and genotyping of HPV in RB biopsies and corresponding maternal cervical specimens were included. The Newcastle-Ottawa Scale (ENO) was used to assess methodological quality. The common outcomes of the included articles were quantitatively analyzed and the coefficient of agreement between the presence/absence of HPV was assessed by the kappa test. The quality of evidence was generated according to the classification, development and evaluation of the classification of recommendations (GRADE). Statistical analyses were performed by RevMan version 5.3 (risk of bias) and Stata version 14 (meta-analysis and kappa test) software. Results: 133 studies were identified in the searched databases. After screening and selection according to the inclusion and exclusion criteria, two studies were included in the present review, with

null heterogeneity ($I^2 = 0\%$) between them. The findings demonstrated a high pooled prevalence of HPV (62%, 95% CI 0.45 - 0.79), high-risk HPV (45%, 95% CI = 0.28 - 0.63) and HPV-16 (42%, 95% CI = 0.25 - 0.59) in RB biopsies. They also pointed to a high pooled prevalence of HPV (53%, 95% CI = 0.34 - 0.72), high-risk HPV (53%, 95% CI = 0.34 - 0.72) and HPV-16 (35%, 95% CI = 0.17 - 0.53) in the respective maternal cervical smears. The pooled agreement rate between the results of HPV genotyping tests performed on both samples was 43% (95% CI 0.26 - 0.61), evidence of very low quality. The kappa test did not reach statistical significance in both studies. Conclusions: There is no robust or high-quality evidence to confirm the hypothesis that this cancer may be related to or caused by HPV. We conclude that the aggregate prevalences of HPV, high-risk HPV, and HPV-16 in maternal RB and cervical specimens may be considerable; although vertical transmission is questionable. PROSPERO Registration: CRD42021256625.

Keywords: Human papillomavirus, prevalence, viral genotyping, retinoblastoma, maternal transmission, systematic review, metanalysis.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Localização do gene RB1 no cromossomo 13, indicada pela seta amarela	17
Figura 2 - Diagrama de fluxo PRISMA e seleção dos estudos incluídos	28
Figura 3 - Avaliação do risco de viés em gráfico do tipo “barras ponderadas”, com julgamento de risco de viés para cada domínio dos estudos incluídos	33
Figura 4 - Avaliação do risco de viés em gráfico do tipo “semáforo”, com resultados individuais para cada domínio dos estudos incluídos	33
Figura 5 - Metanálise da prevalência de HPV nas biópsias de RB	34
Figura 6 - Metanálise da prevalência de HPV de alto risco nas biópsias de RB	35
Figura 7 - Metanálise da prevalência de HPV-16 nas biópsias de RB	35
Figura 8 - Metanálise da prevalência de HPV nas amostras cervicais maternas	36
Figura 9 - Metanálise da prevalência de HPV de alto risco nas amostras cervicais maternas	37
Figura 10 - Metanálise da prevalência de HPV-16 nas amostras cervicais maternas	37
Figura 11 - Metanálise do percentual de concordância entre os resultados dos testes de genotipagem do HPV mãe-filho com RB	38

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Distribuição dos tipos de HPV conforme seu potencial oncogênico	16
Tabela 2 - Características dos estudos quanto ao título da publicação, autor/ano, local do estudo, presença de financiamento, critérios de inclusão e de exclusão	29
Tabela 3 - Características das pesquisas relacionadas ao autor/ano, número de participantes, métodos de detecção de HPV, principais desfechos, tempo de recrutamento dos participantes e o escore da escala New Castle-Ottawa	30
Tabela 4 - Avaliação da qualidade da evidência de acordo com o GRADE	39
Tabela 5 - Coeficiente de concordância entre a presença/ausência de HPV nas crianças com RB e suas respectivas mães, conforme estudo dos autores Shetty <i>et al.</i> , 2012	41
Tabela 6 - Coeficiente de concordância entre a presença/ausência de HPV nas crianças com RB e suas respectivas mães, conforme estudo dos autores Bhuvaneswari <i>et al.</i> , 2012	41

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ALSF	Aginaldo Lopes da Silva Filho (Professor orientador)
CENTRAL	Cochrane Central Register of Controlled Trials
DeCS	Descritores em Ciências da Saúde
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
E2F	Fator de transcrição E2F
ENO	Escala Newcastle-Ottawa
Fase G1	Primeiro intervalo do ciclo celular
Fase S	Fase de síntese do ciclo celular
IC	Intervalo de Confiança
HPV	Papilomavírus Humano
KMIO	Kidwai Memorial Institute of Oncology
MBC	Mariana Botrel Cunha (aluna pesquisadora)
MeSH	<i>Medical Subject Headings</i>
MOOSE	<i>Metanalyses Of Observational Studies in Epidemiology</i>
MRKR	Meline Rosseto Kron Rodrigues (Professora co-orientadora)
NOS	<i>Newcastle-Ottawa Scale</i>
PCR	<i>Polymerase chain reaction</i>
PICO	<i>Population, Intervention, Comparison and Outcomes</i>
pRB	Proteína do retinoblastoma
PRISMA	<i>Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Metanalyses</i>
PROSPERO	<i>The International Prospective Register of Systematic Reviews</i>
RB	Retinoblastoma
RT-PCR	<i>Reverse transcription polymerase chain reaction</i>
TMH	Tata Memorial Hospital
Unesp	Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	16
2 JUSTIFICATIVA	20
3 OBJETIVOS.....	21
3.1 OBJETIVO GERAL	21
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	21
4 MÉTODOS	21
4.1 PROTOCOLO E REGISTRO	21
4.2 CRITÉRIOS DE ELEGIBILIDADE	21
4.3 ESTRATÉGIA DE BUSCA.....	22
4.4 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO E EXCLUSÃO.....	23
4.5 DESFECHOS PRIMÁRIOS PRÉ-ESTABELECIDOS	23
4.6 DESFECHOS SECUNDÁRIOS PRÉ-ESTABELECIDOS:	23
4.7 SELEÇÃO DOS ESTUDOS	23
4.8 EXTRAÇÃO DE DADOS.....	24
4.9 AVALIAÇÃO DE RISCO DE VIÉS E DA QUALIDADE DA EVIDÊNCIA DISPONÍVEL	24
4.10 ANÁLISES ESTATÍSTICAS	25
5 RESULTADOS	26
5.1 SELEÇÃO DOS ESTUDOS	26
5.2 DESCRIÇÃO DOS ESTUDOS.....	29
5.3 RISCO DE VIÉS	31
5.4 ANÁLISES QUANTITATIVAS (METANÁLISES)	34
5.5 AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DA EVIDÊNCIA DE ACORDO COM O GRADE.....	38
5.6 TESTE KAPPA	40
6 DISCUSSÃO	42
6.1 SUMÁRIO DA EVIDÊNCIA.....	42
6.2 LIMITAÇÕES.....	43
7 CONCLUSÃO	44
7.1 IMPLICAÇÕES PARA PRÁTICA	44

7.2 IMPLICAÇÕES PARA PESQUISAS FUTURAS.....	44
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	45
APÊNDICE A - PROTOCOLO PROSPERO PUBLICADO.....	57
APÊNDICE B - ESTRATÉGIA DE BUSCA – PUBMED.....	63
APÊNDICE C - FICHAS DE EXTRAÇÃO DE DADOS.....	65
APÊNDICE D - ANÁLISE DE RISCO DE VIÉS – ESCALA NEWCASTLE-OTTAWA	74
APÊNDICE E - TABELA DOS ESTUDOS EXCLUÍDOS.....	75
ANEXO 1 - PRIMEIRO ARTIGO.....	76

1 INTRODUÇÃO

O papilomavírus humano (HPV) é o mais prevalente dentre os vírus envolvidos nas infecções sexualmente transmissíveis e representa um relevante desafio de saúde pública mundial. Mais de 200 tipos de HPV já foram sequenciados e correlacionados com neoplasias benignas e malignas nas mucosas e epitélios humanos (1), conforme exposto na Tabela 1. Mais de 600.000 neoplasias são atribuídas à infecção pelo HPV globalmente. Nos Estados Unidos, estima-se a incidência de novos tumores associados ao HPV em 26.800 casos/ano (2). De fato, a mais estudada das neoplasias malignas associadas ao HPV é o câncer cervical, mas diversos outros tumores a ele atrelados podem ser citados, como o câncer de vagina, vulva, pênis, ânus, cabeça e pescoço, retinoblastoma (RB), dentre outros (3–6).

Tabela 1 – Distribuição dos tipos de Papilomavírus Humano conforme seu potencial oncogênico

Potencial oncogênico	Tipo de HPV
Alto risco	16,18, 31 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59
Possivelmente alto risco	26, 53, 66, 67, 68, 70, 73, 82
Baixo risco	2, 6, 7, 11, 13, 27, 28, 29, 32, 40, 44, 57, 61, 62, 72, 74, 77, 81, 82, 84, 86, 87, 89, 90, 91, 106

Fonte: Doorbar *et al.*, 2012(1).

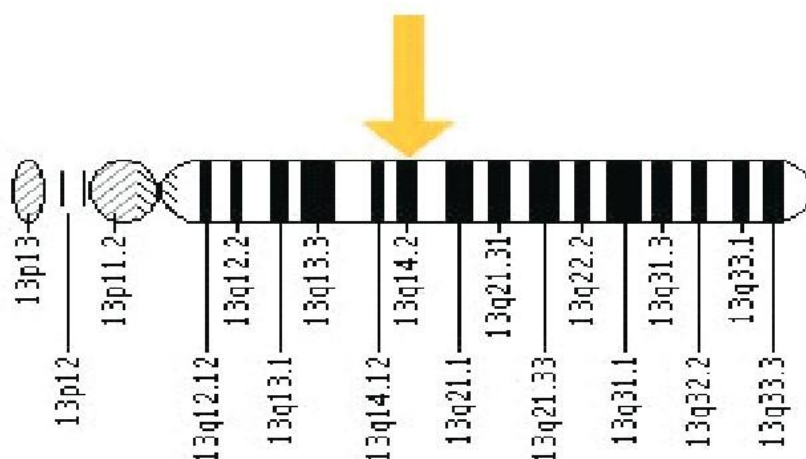
O RB é um tumor maligno que pode ser fatal se não for diagnosticado precocemente. Tal câncer ocorre em uma a cada 15.000-18.000 crianças. Dessa forma, corresponde à neoplasia intraocular pediátrica mais comum e ao segundo tumor sólido intraocular mais frequente em todas as faixas etárias (6,7). Mais de 80% dos casos de RB ocorrem em países de baixa e média renda. Além disso, são observadas menores taxas de sobrevida para esse tumor nesses países, em torno de 30% (8,9), em comparação aos países desenvolvidos, em que a taxa de sobrevida para o RB é acima de 95% (10).

A razão para isso vincula-se ao fato de que o diagnóstico e tratamento de tal câncer são tardios nos países subdesenvolvidos ou em desenvolvimento e há possivelmente maior prevalência de fatores de risco para o RB nesses locais (11–14). Além disso, as publicações dessas regiões são escassas e muitos países não publicam seus dados sobre tal câncer infantil (15). Portanto, estudar os fatores de risco que podem contribuir para essa maior prevalência de RB nos países de baixa

renda é fundamental para melhorar o planejamento e as políticas públicas de saúde mundialmente.

De fato, o primeiro gene supressor tumoral identificado, sendo associado ao desenvolvimento e progressão tumoral do RB é o gene Retinoblastoma 1 (RB1), localizado no cromossomo 13, mais precisamente no 13q14.2, conforme a Figura 1 (16). Ele sintetiza a proteína do retinoblastoma (pRb), uma proteína supressora tumoral proto-oncogênica que é disfuncional em diversos tipos de câncer (17,18). Como consequência da inativação bialélica do gene RB1, inicia-se o desenvolvimento tumoral do RB, tanto nas formas esporádicas quanto hereditárias do tumor (19,20).

Figura 1 - Localização do gene RB1 no cromossomo 13, indicada pela seta amarela



Fonte: Figura adaptado pelos autores com base em <http://ghr.nlm.nih.gov/gene/RB1>.

O RB esporádico ou não hereditário afeta a maioria dos pacientes com RB - cerca de 60% dos casos. São necessários dois eventos somáticos independentes para que ocorra a inativação das duas cópias do gene RB1, determinando o aparecimento dos tumores de RB esporádico em idade mais tardia, em torno dos dois anos de idade. Já o RB hereditário representa aproximadamente 40% de todos os casos de RB. Neste último, um alelo mutado é herdado pelo paciente, resultando no aparecimento dos tumores em idade mais precoce, em que a média da idade do diagnóstico é de três a 18 meses de vida. Além da herança do primeiro alelo mutado, a inativação somática do segundo alelo é crucial para o desenvolvimento tumoral do RB hereditário (21,22).

Uma característica comum às duas formas do tumor supracitadas é que o gene RB1 não é capaz de sintetizar a proteína supressora tumoral pRb funcional. Tal proteína normalmente se liga e inativa fatores de transcrição como E2F (fator de transcrição E2F), permitindo a regulação do ciclo celular (23). Como a pRb se torna disfuncional nos casos de RB, ocorre progressão descontrolada do ciclo celular da fase G1 (primeiro intervalo) para a S (fase de síntese) (24). Dessa forma, a maior parte dos casos de RB resulta da inativação dos dois alelos ou da perda do gene RB1, ocorrendo a síntese da pRb não funcional (25).

Entretanto, há casos de tal neoplasia com o gene RB1 intacto, o que aventa mecanismos alternativos de inativação da pRb. Como tal proteína pertence à família das proteínas de bolso (“pocket protein family”), ela possui receptores para a ligação funcional de outras proteínas. Já foi demonstrado que certas oncoproteínas do HPV se unem à pRb e a inativam, levando à superexpressão de p16, outra proteína supressora tumoral, o que ocasiona proliferação celular irrestrita e progressão neoplásica (26,27).

Especificamente, a proteína E7 do HPV se liga e inativa a pRb (26), sendo que a aludida proteína E7 de HPVs de alto risco interage com maior eficiência do que a de HPVs de baixo risco (28,29). Além disso, a proteína viral E6 degrada e inibe diretamente a ação da p53, outra relevante proteína supressora tumoral – por meio da via de degradação ubiquitina-proteossoma - também resultando em proliferação celular descontrolada e desenvolvimento neoplásico. Tais mecanismos já são descritos na patogênese do câncer cervical, classicamente associado ao HPV (30).

Recentemente, vários estudos têm demonstrado a relação entre o HPV de alto risco e o RB não hereditário, principalmente em países em desenvolvimento, como a Índia, Brasil e México (15,31–34). De fato, há uma sobreposição importante dos fatores de risco epidemiológicos para a infecção pelo HPV e o desenvolvimento do RB. Estudos moleculares e epidemiológicos corroboram que o HPV pode representar um fator de risco importante no desenvolvimento de tal neoplasia, estando presente em até 82,3% das amostras tumorais de RBs esporádicos. Variações étnicas e nos fatores socioepidemiológicos podem contribuir para as diferentes frequências e subtipos virais de HPV encontradas pelo mundo (6,11–15,31–37).

Notadamente, foram encontrados subtipos virais de HPV de alto risco nas amostras de RB esporádico. Estudos prévios evidenciaram que a presença do HPV em tal neoplasia está ligada a uma maior diferenciação celular e uma menor taxa de

proliferação tumoral (15,31–33). O HPV-18, por sua vez, foi associado ao estadiamento mais avançado do RB, conforme visto no câncer cervical, em que este tipo viral é relacionado ao estadiamento mais grave da doença e à maior mortalidade (15,38).

Atualmente, o consenso é que o recém-nascido pode ser exposto de diversas formas ao HPV cérvico-vaginal da mãe. A concordância dos subtipos virais de HPV detectados nos recém-nascidos e em suas mães oscila entre 57% a 69%, indicando que estes também podem adquirir a infecção no período pós-natal por várias fontes. Há evidências de que é possível a transmissão materna do HPV via intraútero, durante o trabalho de parto e no período pós-natal (39,40).

De fato, em um dos maiores estudos coorte sobre o HPV perinatal, tal vírus foi detectado em 14% das amostras de placentas e em 11,2% de recém-nascidos (ao nascer e/ou aos 3 meses de idade) de mães positivas para HPV. Nesses últimos, o HPV foi encontrado em amostras orais, genitais, conjuntivais e faríngeas, com a prevalência de 8,1%; 4,8%; 4,8% e 1,6%, respectivamente (41).

Além da taxa de transmissão perinatal do HPV ser considerável, estimada em 20% por um estudo de metanálise (42), pesquisas corroboraram que a prevalência e a incidência da infecção pelo HPV são maiores em mulheres jovens e em gestantes. Um estudo canadense identificou a prevalência de HPV de 44,9% em grávidas (41,43). Essa maior prevalência de HPV em mulheres gestantes pode favorecer a transmissão vertical do HPV.

Apesar das evidências apontarem que a transmissão materna do HPV é possível via intrauterina, durante o trabalho de parto e no período pós-natal, somente dois estudos apontaram que 20 e 50% das amostras de RB apresentaram o mesmo subtipo viral de HPV que o esfregaço cervical materno correspondente (15,37). Tal achado pode ser explicada pelo clearance viral do HPV em recém-nascidos, que ocorre até cerca dos dois anos de idade, sendo mais frequente entre seis a 12 meses de idade (44). Até o momento, ainda não há revisões sistemáticas sobre a prevalência e a genotipagem do HPV nas biópsias de RB e nas amostras cervicais maternas correspondentes, avaliando a hipótese de que a transmissão vertical do HPV representa uma possível via de infecção.

Considerando esse contexto, o objetivo do presente estudo foi, por meio de uma revisão sistemática e metanálise dos estudos observacionais disponíveis, investigar a prevalência do HPV em biópsias de RB e amostras cervicais maternas

respectivas. Além do mais, visou determinar o percentual de concordância entre os resultados dos testes de genotipagem do HPV das crianças com RB e suas mães e investigar o coeficiente de concordância entre a presença/ausência de HPV nessas duas amostras. Dessa forma, essa pesquisa almejou averiguar a hipótese de que esse câncer pode estar relacionado ou ser causado pela transmissão materna do HPV.

2 JUSTIFICATIVA

Pesquisas cujo enfoque recai sobre a prevalência e a genotipagem do HPV em biópsias de RB e respectivas amostras cervicais maternas são raras na literatura e possuem amostras relativamente pequenas. De fato, não há estudos sobre esse tópico no Brasil. Tais pesquisas são de suma importância, visto que o HPV pode representar um fator de risco para o desenvolvimento do RB por interferir diretamente nos marcadores do ciclo celular p16 e p53, sendo também um fator de risco para neoplasias cervicais, orofaríngeas, dentre outras. Além disso, a relevância desse tema é ainda maior, admitindo-se que a transmissão do HPV se dá, provavelmente, por via materna (37,40).

Ademais, a detecção do HPV nos casos de RB esporádico varia amplamente na literatura, dependendo da população estudada e dos métodos utilizados para detecção do vírus (6,12,14,15,32–36). De fato, trabalhos que estudam a prevalência e a genotipagem do HPV são importantes para a compreensão das muitas neoplasias relacionadas ao HPV, como os tumores cervicais, orais, orofaríngeos, neoplasia escamosa da superfície ocular (NESO), dentre outros. A obtenção de tais evidências possui relevância epidemiológica e potencial impacto nas políticas de saúde pública relacionadas à prevenção de tumores, reforçando as medidas de prevenção da transmissão do HPV – vertical, em especial - e da vacinação contra o HPV.

Mediante o exposto, propõe-se esta pesquisa, com os objetivos de avaliar a prevalência e a genotipagem do HPV em biópsias de RB e respectivas amostras cervicais maternas, por meio de uma revisão sistemática e metanálise da literatura atual, além determinar o percentual de concordância entre os resultados dos testes de genotipagem do HPV das crianças com RB e suas mães e investigar o coeficiente de concordância entre a presença/ausência de HPV nessas duas amostras.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Avaliar a prevalência e a genotipagem do HPV em biópsias de RB e respectivas amostras cervicais maternas, por meio de uma revisão sistemática e metanálise da literatura atual.

3.2 Objetivos específicos

- a) Determinar o percentual de concordância entre os resultados dos testes de genotipagem do HPV das crianças com RB e suas respectivas mães, e
- b) Investigar o coeficiente de concordância entre a presença/ausência de HPV nas biópsias de RB e nas respectivas amostras cervicais maternas.

4 MÉTODOS

4.1 Protocolo e Registro

O presente estudo é uma revisão sistemática vinculada ao Departamento de Ginecologia e Obstetrícia da Unesp. O protocolo da revisão sistemática foi publicado (PROSPERO: CRD42021256625, Apêndice A) e foi submetida a seguinte atualização na seção de notas de revisão: “Observational studies were included in this systematic review, as no randomized clinical trials were found addressing our specific PICO questions” (Estudos observacionais foram incluídos nesta revisão sistemática, pois não foram encontrados ensaios clínicos randomizados abordando nossas questões específicas do PICO - Population, Intervention, Comparison and Outcomes). Além disso, este trabalho foi conduzido de acordo com as diretrizes de metanálise do checklist MOOSE (Metanalyses Of Observational Studies in Epidemiology) (45) e foi dispensado de análise ética por tratar-se de revisão da literatura científica (46). O primeiro artigo contendo o protocolo da revisão sistemática encontra-se no Anexo 1 e foi submetido à revista internacional Medicine.

4.2 Critérios de Elegibilidade

O presente estudo visa responder as seguintes perguntas: Qual a prevalência do HPV, do HPV de alto risco e do HPV-16 nas biópsias de RB e esfregaços cervicais maternos correspondentes? Há concordância entre os resultados dos testes de genotipagem de HPV nessas duas amostras, corroborando a transmissão vertical desse vírus?

Dessa forma, foram incluídos estudos observacionais que avaliaram a prevalência e a genotipagem do HPV em biópsias de RB e amostras cervicais maternas correspondentes, conforme a metodologia "PICO" descrita a diante. População: Biópsias de RB e amostras cervicais maternas correspondentes. Intervenção: Prevalência e genotipagem do HPV. Comparação: Biópsias de olhos sem neoplasias e amostras cervicais maternas correspondentes. Outcomes/Desfechos: Prevalência de HPV, HPV de alto risco e HPV-16 nas biópsias de RB e nas amostras cervicais maternas correspondentes, percentual de concordância entre os resultados dos testes de genotipagem do HPV das crianças com RB e suas respectivas mães e o coeficiente de concordância entre a presença/ausência de HPV nessas duas amostras. Os resultados dos testes de genotipagem de HPV foram considerados concordantes caso as crianças com RB e suas respectivas mães compartilhem, pelo menos, um único genótipo de HPV ou caso ambos os resultados forem negativos para HPV.

4.3 Estratégia de busca

Foram consultadas as bases de dados eletrônicas: PubMed, EMBASE, Biblioteca Virtual de Saúde da BIREME (Lilacs, Scielo, Medline, IBECs) e Cochrane Central Register of Controlled Trials (CENTRAL). Informações sobre ensaios clínicos em andamento foram pesquisadas por meio do Registro Brasileiro de Ensaios Clínicos-ReBEC (<http://www.ensaiosclinicos.gov.br/>) e do website de ensaios clínicos do Instituto Nacional de Saúde (<http://clinicaltrials.gov>). A literatura cinzenta foi rastreada por meio das bases Google Acadêmico e pelo Catálogo de Teses & Dissertações – CAPES. Todas as consultas foram realizadas até janeiro de 2023.

A estratégia de pesquisa básica foi desenvolvida para o PubMed (Apêndice B) e modificada conforme necessário para outras bases de dados. Foram utilizados os descritores em saúde disponíveis em Descritores em Ciências da Saúde (DeCS) e no Medical Subject Headings (MeSH). Os descritores e seus respectivos sinônimos incluíram "Gammapapillomavirus", "Papillomavirus infections", "Papillomaviridae", "Retinoblastoma", "Eye Neoplasms", "Infectious Disease Transmission, Vertical" e "Vaginal Smears". Não houve restrição de idioma, mas somente estudos em humanos foram incluídos. Referências dos artigos selecionados, incluindo artigos de revisão sistemática relacionados, foram revisados para identificar todos os estudos importantes. Além disso, foi realizada busca manual de referências bibliográficas em congressos e revistas da área.

4.4 Critérios de inclusão e exclusão

Foram incluídos para leitura dos resumos os trabalhos cujo título encontrava-se no eixo temático: prevalência do HPV em esfregaços cervicais maternos e em tumores oculares (incluindo o RB) e a transmissão vertical do HPV. Para a leitura do texto completo e inclusão na revisão sistemática foram selecionados apenas os estudos originais, revisados por pares, realizados em biópsias de RB e amostras cervicais maternas correspondentes, nos quais um dos objetivos foi avaliar a prevalência e genotipagem do HPV nessas duas amostras, o percentual de concordância entre os resultados dos testes de genotipagem do HPV das crianças com RB e suas respectivas mães e o coeficiente de concordância entre a presença/ausência de HPV em tais amostras, além de estudos originais que em sua metodologia permitiam inferir tal prevalência, percentual e/ou coeficiente de concordância supracitados. Os estudos foram excluídos conforme os seguintes critérios: não abranger a população de interesse, não incluir a avaliação da prevalência e genotipagem do HPV nas amostras de RB e cervicais maternas respectivas (ou não for possível a sua inferência), estudos de revisão integrativa e de literatura, livros, capítulos e resenhas de livros, manuais, relatórios técnicos ou representar uma versão menos recente do estudo de interesse.

4.5 Desfechos primários pré-estabelecidos

Os desfechos primários foram: Prevalência de HPV, HPV de alto risco e HPV-16 nas biópsias de RB e nas amostras cervicais maternas correspondentes.

4.6 Desfechos secundários pré-estabelecidos:

Os desfechos secundários foram: Percentual de concordância entre os resultados dos testes de genotipagem do HPV das crianças com RB e suas respectivas mães e o coeficiente de concordância entre a presença/ausência de HPV nessas duas amostras.

4.7 Seleção dos estudos

Duas pesquisadoras (MBC e MRKR) revisaram os títulos e resumos de elegibilidade de forma independente. Os estudos potencialmente elegíveis para inclusão na revisão foram selecionados para leitura na íntegra e analisados se

estavam conforme o PICO do presente trabalho. Discordâncias em relação à seleção dos artigos foram resolvidas por discussão ou consenso com um terceiro investigador (ALSF). O fluxograma de seleção dos estudos foi criado conforme as diretrizes PRISMA (47).

4.8 Extração de dados

Duas pesquisadoras (MBC e MRKR) extraíram independentemente os dados relevantes de cada artigo de texto completo utilizando o formulário padronizado baseado no Cochrane Handbook (48) com as seguintes informações: local do estudo, autores, estudo com financiamento, número de participantes, objetivo do estudo, população do estudo, método de detecção do HPV, desfechos analisados e follow-up (Apêndice C). A seleção foi comparada para precisão, e quaisquer discrepâncias foram resolvidas por discussão ou consenso com outro investigador (ALSF). Os autores dos artigos relevantes foram contatados para fornecer informações adicionais sempre que necessário e as referências dos artigos incluídos foram pesquisadas manualmente para artigos extras.

4.9 Avaliação de risco de viés e da qualidade da evidência disponível

A Escala Newcastle-Ottawa (ENO) (49) foi utilizada para avaliar a qualidade metodológica dos estudos observacionais incluídos por dois avaliadores independentes (MBC e MRKR). Algumas discrepâncias foram resolvidas pela discussão com o terceiro autor (ALSF). A escala é composta por oito itens que abrangem três dimensões: 1) seleção de pacientes (quatro itens: definição adequada dos casos, representatividade dos casos, seleção e definição dos controles); 2) comparabilidade dos dois ramos do estudo (um item: comparabilidade de casos e controles baseados no desenho ou na análise do estudo); e 3) avaliação da exposição (três itens: determinação da exposição; mesmo método de determinação para casos e controles e taxa de não-resposta) (Apêndice D). Para cada estudo observacional, cada item foi classificado como definitivamente sim (baixo risco de viés), provavelmente sim (incerto), provavelmente não (incerto) ou definitivamente não (alto risco de viés). Após, o gráfico risco de viés foi elaborado no software Review Manager (versão 5.3; Nordic Cochrane Centre, Cochrane) e encontra-se nas Figuras 3 e 4 (50).

A avaliação da qualidade da evidência foi avaliada pelo Sistema Grading of Recommendations, Assessment, Development and Evaluation (GRADE) (51) para os desfechos prevalência de HPV, de HPV de alto risco e HPV-16 tanto nas biópsias de RB, quanto nas amostras cervicais maternas, além do percentual de concordância entre os resultados dos testes de genotipagem do HPV das crianças com RB e suas respectivas mães. Foi empregado o software GRADE profiler (GRADEpro) para a elaboração dos resumos de evidências e das recomendações de cuidados de saúde (52).

O GRADE examina a qualidade da evidência de determinada tecnologia em saúde sobre um desfecho clinicamente relevante. Como os estudos não-randomizados ou observacionais têm menor qualidade da evidência em relação aos ensaios randomizados, eles partem de uma pontuação inicial baixa (somente dois níveis). Porém a qualidade reduz se os mesmos têm grandes limitações. Estas limitações abrangem, além do risco de viés citado acima: 1) a presença de inconsistência; 2) evidência indireta; 3) imprecisão e 4) viés de publicação de cada desfecho analisado. A primeira está relacionada à variabilidade entre os resultados dos estudos incluídos na metanálise; a segunda avalia se os estudos incluídos compararam a intervenção/exposição de interesse, na população de interesse, cujos resultados são também sobre desfechos de interesse; o terceiro julga a precisão da estimativa de efeito pela amplitude do IC 95% e o último refere-se à diminuição da qualidade de evidência quando se suspeita que não foram publicados os “estudos negativos”, ou seja, aqueles que não demonstram efeito significativo da intervenção/exposição. Além disso, os estudos observacionais podem aumentar sua qualidade de evidência a depender de três domínios: efeito de grande magnitude, potenciais fatores de confusão e gradiente de dose-resposta (51). Tal avaliação da qualidade da evidência conforme o GRADE encontra-se mais detalhada no item 5.5 (Tabela 4).

4.10 Análises estatísticas

Foram extraídos os seguintes dados em comum dos artigos incluídos: a prevalência de HPV, de HPV de alto risco e de HPV-16 em biópsias de RB e amostras cervicais maternas correspondentes e o percentual de concordância entre os resultados dos testes de genotipagem do HPV das crianças com RB e suas

respectivas mães. Intervalos de confiança de 95% (IC 95%) foram calculados para cada estimativa de prevalência (53).

A heterogeneidade foi testada com o teste de Cochran χ^2 e o grau de heterogeneidade foi quantificado usando a medida I^2 e seu IC de 95%. A heterogeneidade I^2 foi categorizada da seguinte forma: <25% baixa, 25 a 50% moderada e >50% alta (54). Como a heterogeneidade entre os estudos incluídos para as metanálises é nula, ou seja, a diferença metodológica entre os artigos é ínfima; modelos de efeitos fixos foram selecionados para as metanálises. Os modelos randômicos também foram avaliados e seus resultados foram equivalentes aos dos modelos fixos para todas as análises.

Como menos de dez estudos foram incluídos nesta revisão, não foi possível analisar a presença de viés de publicação por testes estatísticos ou de sensibilidade. Dessa forma, o viés de publicação foi avaliado pela análise da estratégia de busca e pela presença/ausência de financiamento da indústria nos estudos.

A concordância entre a presença/ausência de HPV nas biópsias de RB e respectivas amostras cervicais maternas foi avaliada pelo teste kappa. Conforme Landis & Koch (55), os valores do índice de concordância Kappa correspondem a: Kappa > 0,8 (concordância quase perfeita), Kappa 0,61 – 0,8 (concordância substancial), Kappa 0,41 – 0,6 (concordância moderada), Kappa 0,21 - 0,4 (concordância razoável), Kappa 0 – 0,2 (concordância fraca), kappa < 0 (concordância insignificante). Todos os testes foram bicaudais e o nível de significância estatística foi definido como $p < 0,05$. As análises estatísticas (metanálises e teste kappa) foram realizadas usando o software Stata versão 14 (56).

5 RESULTADOS

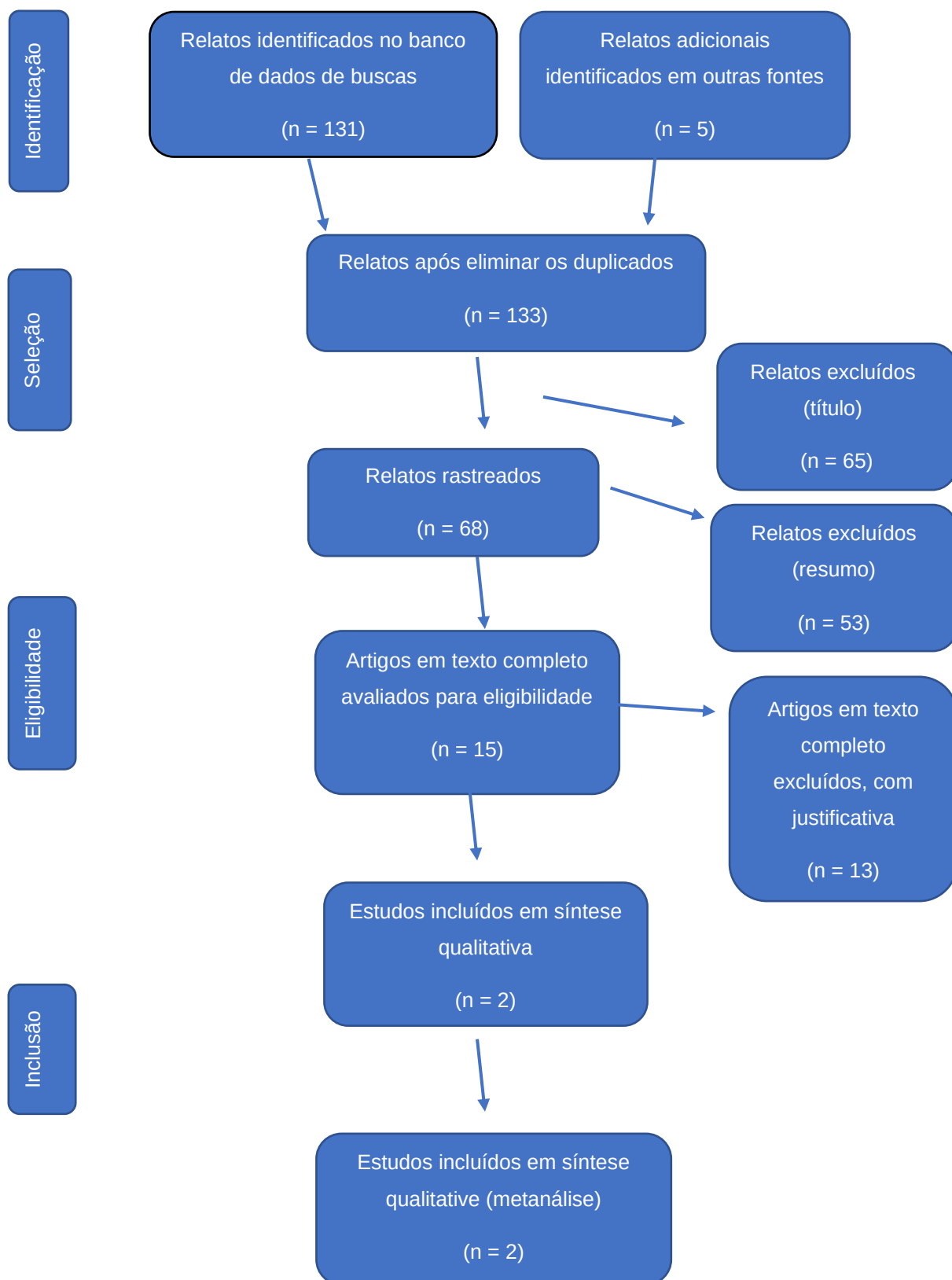
5.1 Seleção dos estudos

Após pesquisa nas bases de dados eletrônicas de saúde e remoção das duplicatas, foram identificadas 133 referências, 118 referências foram excluídas após triagem por título e resumo e 15 artigos eram potencialmente elegíveis para inclusão nesta revisão e, portanto, foram lidos na íntegra. A literatura cinzenta não reportou achados de acordo com os critérios de elegibilidade. Não foram identificados ensaios clínicos em andamento no Registro Brasileiro de Ensaios Clínicos-ReBEC

(<http://www.ensaiosclinicos.gov.br/>) e no website de ensaios clínicos do Instituto Nacional de Saúde (<http://clinicaltrials.gov>) elegíveis à presente revisão sistemática.

Após leitura na íntegra, somente dois artigos atenderam o critério de inclusão e exclusão e foram incluídos para a análise qualitativa. Em seguida, esses dois artigos foram inseridos nas análises quantitativas (metanálises) (15,37), conforme demonstrado na Figura 2. 13 estudos (5,6,11,12,31-34,57-61) foram excluídos pois a população desses estudos não incluiu as amostras cervicais maternas, somente as biópsias de RB. A tabela dos estudos excluídos contendo o autor/ano, o título da publicação e as razões para a exclusão está exposta no Apêndice E.

Figura 2 - Diagrama de fluxo PRISMA e seleção dos estudos incluídos



Fonte: elaboração própria dos autores (2023).

5.2 Descrição dos estudos

Os dois estudos observacionais - transversais do tipo série de casos - incluídos na análise totalizaram 31 resultados de testes de genotipagem de HPV em biópsias de RB e 25 resultados em amostras cervicais maternas correspondentes. Adicionalmente, totalizaram 30 resultados de testes negativos para HPV em amostras-controle (olhos sem neoplasia), não pareadas. Além do mais, ambos os estudos são indianos, um realizado no Tata Memorial Hospital, em Mumbai (15) e outro no Kidwai Memorial Institute of Oncology, em Bangalore (37).

As tabelas 2 e 3 a seguir descrevem o título das duas publicações, autor/ano, local do estudo, presença de financiamento e critérios de inclusão e de exclusão (Tabela 2), além do número de participantes de cada grupo, métodos de detecção do HPV, principais desfechos, tempo de recrutamento dos participantes e escore da ENO (análise de risco de viés para estudos observacionais - Apêndice D) (Tabela 3). A primeira autora do estudo Shetty *et al.*, 2012 foi contactada por e-mail e gentilmente nos cedeu os detalhes sobre os critérios de inclusão, exclusão e o material suplementar do seu artigo publicado (15).

Tabela 2 - Características dos estudos quanto ao título da publicação, autor/ano, local do estudo, presença de financiamento, critérios de inclusão e de exclusão

Título da publicação	Autor/ano	Local do estudo	Estudo com financiamento	Critérios de inclusão	Critérios de exclusão
Evidence for the Presence of High Risk Human Papillomavirus in Retinoblastoma Tissue From Nonfamilial Retinoblastoma in Developing Countries.	Shetty <i>et al.</i> / 2012	Tata Memorial Hospital (TMH), Mumbai - India	Sim	- Todas as amostras de globos oculares enucleados de pacientes com RB – confirmados pelo exame histopatológico - de 1990 a 2007 no TMH, Mumbai - Mães das crianças incluídas com RB que concordaram em participar do estudo e assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido para a coleta do esfregaço cervical	- Todas as amostras de globos oculares enucleados, não diagnosticadas com RB – diagnóstico excluído pelo exame histopatológico - de 1990 a 2007 no TMH, Mumbai. - Mães das crianças

Tabela 2 - Características dos estudos quanto ao título da publicação, autor/ano, local do estudo, presença de financiamento, critérios de inclusão e de exclusão (continua)

Maternal transmission of human papillomavirus in retinoblastoma: A possible route of transfer.			incluídas com RB que não concordaram em participar do estudo e não assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido para a coleta do esfregaço cervical.	
			- Todas as amostras frescas de RB obtidas de crianças que foram clinicamente diagnosticadas como RB e submetidas a enucleação ou exenteração orbitária como um dos procedimentos de tratamento e posteriormente confirmadas por exame histopatológico de 2007 a 2010 no KMIO, em Bangalore. - Mães das crianças incluídas com RB que concordaram em participar do estudo e assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido para coleta das amostras de esfregaço cervical - Amostras com DNA de boa qualidade para PCR multiplex e análise de genotipagem viral do HPV	- Todas as amostras frescas de RB obtidas de crianças que foram clinicamente diagnosticadas como RB e submetidas a enucleação ou exenteração orbitária como um dos procedimentos de tratamento e não foram posteriormente confirmadas por exame histopatológico de 2007 a 2010 no KMIO, em Bangalore - Mães das crianças incluídas com RB que não puderam ou não quiseram dar o consentimento para a coleta das amostras de esfregaço cervical - Amostras com DNA de qualidade baixa/inadequada para PCR multiplex e análise de genotipagem viral do HPV.
Bhuvaneswari <i>et al.</i> / 2012	Kidwai Memorial Institute of Oncology (KMIO), Bangalore, India	Não		

Fonte: elaboração própria dos autores (2023).

Tabela 3 - Características das pesquisas relacionadas ao autor/ano, número de participantes, métodos de detecção de HPV, principais desfechos, tempo de recrutamento dos participantes e escore da escala New Castle-Ottawa

Autor/a no	Número de participantes	Métodos de detecção do HPV	Prevalência e genotipagem do HPV	Percentual de concordância entre os resultados dos testes de genotipagem de HPV mãe-filho com RB	Período de recrutamento	Escore da Escala Newcastle-Ottawa
Shetty <i>et al.</i> / 2012.	10 casos prospectivos de RB associados a 10 esfregaços cervicais maternos correspondentes. Controles: 10 globos oculares não neoplásicos	- RT-PCR para HPV - Southern Blottin: verificar a especificidade dos resultados do PCR - A genotipagem viral do HPV foi realizada por hibridização in situ: sondas marcadas com biotina para HPV-16 e HPV-18 (oferta do Dr. Mark Evans, Universidade de Vermont, EUA) - Imunohistoquímica: Analisar a expressão das proteínas reguladoras do ciclo celular nos casos pré-quimioterapia	- HPV: 70% das amostras RB e seus respectivos espécimes cervicais maternos - HPV de alto risco: 40% das biópsias de RB e em 70% das amostras cervicais maternas - HPV-16: 40% das biópsias de RB e em 50% das amostras cervicais maternas - HPV-18: 40% das biópsias de RB e em 40% das amostras cervicais maternas correspondentes (há concordância do subtipo viral)	- 70% - Dois casos (de RB e suas amostras cervicais maternas respectivas) foram positivos para ambos os HPV-16/18; Dois casos compartilharam somente o HPV-18 e três casos foram negativos para HPV	17 anos (1990 a 2007)	Baixo risco de viés
Bhuvan eswari <i>et al.</i> / 2012	21 casos prospectivos de RB esporádicos e 15/21 esfregaços cervicais das mães correspondentes. Controles: 5 blocos arquivados, fixados em formalina e embebidos em parafina de olhos não-neoplásicos obtidos de espécimes de autópsia fetal e 15 olhos não-neoplásicos coletados prospectivamente do Banco de Olhos Lions, em Bangalore.	- PCR Multiplex para HPV - A genotipagem viral do HPV foi realizada por hibridização in situ com uma matriz de sonda linear contendo 37 tipos de HPV e b-globina (Roche Molecular Systems, Branchburg, EUA).	- HPV: 57% das biópsias de RB e 40% das amostras cervicais maternas - HPV de alto risco: 47,61% das biópsias de RB e 40% das amostras cervicais maternas - HPV-16: 42,86% das biópsias de RB e em 26,67% das amostras cervicais maternas - HPV-18: 0% das biópsias de RB e em 6,67% das amostras cervicais maternas. - HPV-59: 9,52% das biópsias de RB e em 0% das amostras cervicais maternas - HPV-35: 4,76% das biópsias de RB e em 6,67% das amostras cervicais maternas.	- 26,67% - Três casos de RB e suas respectivas amostras cervicais maternas apresentaram o HPV-16; um caso de RB e sua amostra cervical materna foram negativos para HPV.	3 anos (2007 a 2010)	Baixo risco de viés

Fonte: elaboração própria dos autores (2023).

5.3 Risco de viés

A avaliação do risco de viés dos estudos observacionais foi realizada pela ENO, conforme recomendado pelas diretrizes metodológicas do Ministério da Saúde

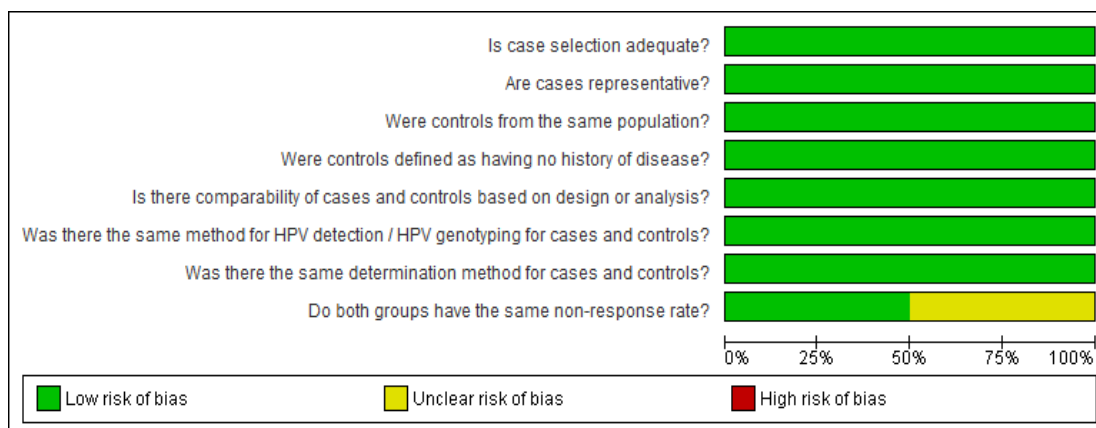
e pelo Handbook da Colaboração Cochrane em 2011 (Figuras 3 e 4) (48,49,62). No domínio seleção adequada dos casos, ambos os estudos foram classificados como baixo risco de viés pois houve validação independente - confirmação histopatológica das biópsias tumorais em ambos os estudos (15,37).

Nos quesitos representatividade dos casos e seleção dos controles, ambos estudos foram classificados como baixo risco de viés pois os casos foram representativos de uma série de casos e os controles foram provenientes da mesma população que os primeiros (15,37). Além disso, no item definição dos controles, ambos os estudos foram classificados como baixo risco de viés pois os controles foram definidos como sem história de doenças/neoplasias nas duas pesquisas (15,37).

Já no domínio comparabilidade de casos e controles baseados no desenho ou na análise, ambos os estudos foram classificados como baixo risco de viés pois os controles foram definidos como sem neoplasia pelo exame histopatológico e foram provenientes da mesma população que os casos (15,37). Além disso, no quesito mesmo método de detecção e genotipagem de HPV para casos e controles, ambos os estudos foram classificados como baixo risco de viés (15,37). O motivo para isso é que ambos os artigos utilizaram a técnica PCR para detecção do HPV nos grupos casos e controles, que possui alta sensibilidade para detecção dos genomas virais (58). Foi realizado o RT-PCR no estudo do Shetty *et al.*, 2012 (15) e o PCR Multiplex no estudo do Bhuvaneswari, 2012 (37). Além disso, os dois estudos utilizaram a hibridização in situ para a genotipagem viral. Foram empregadas sondas marcadas com biotina para identificação do HPV-16 e HPV-18 no primeiro estudo (15) e 37 tipos de HPV, incluindo o HPV-16 e HPV-18, no segundo estudo (37).

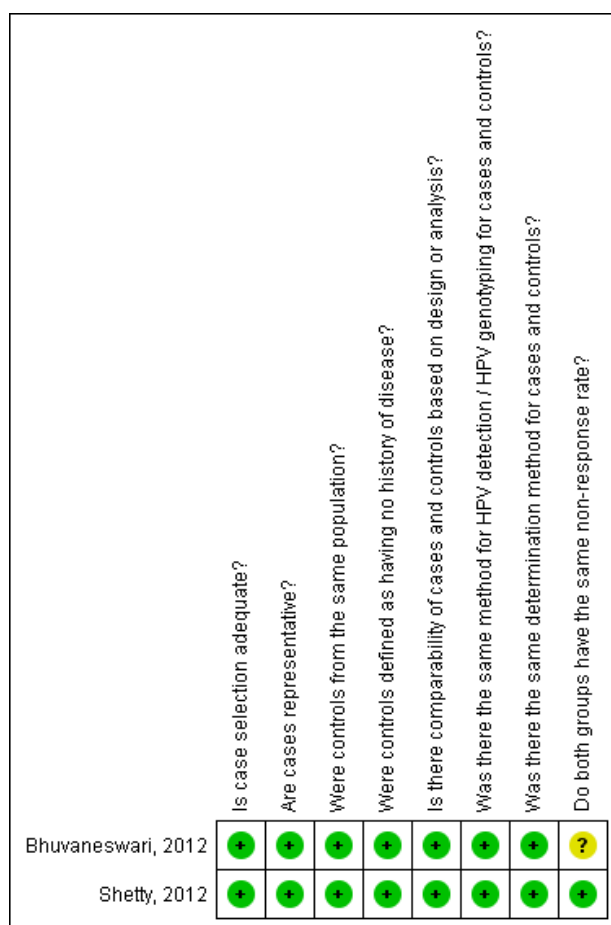
Finalmente, no tópico taxa de não-resposta, um dos estudos foi classificado como baixo risco de viés (15) pois não apresentou taxa de perdas para ambos os grupos – foram analisadas 10 biópsias de RB e 10 esfregaços cervicais maternos respectivos. Já o outro estudo foi classificado como alto risco de viés pois reportou uma taxa de perdas de 28,5% no grupo das amostras cervicais maternas – especificamente, 6 das 21 mães das crianças com RB não puderam ou não quiseram dar o consentimento para a coleta das amostras cervicais (37).

Figura 3 - Avaliação do risco de viés em gráfico do tipo “barras ponderadas”, com julgamento de risco de viés para cada domínio dos estudos incluídos



Fonte: elaborada pelos autores a partir do software *RevMan 5.3* (50).

Figura 4 - Avaliação do risco de viés em gráfico do tipo “semáforo”, com resultados individuais para cada domínio dos estudos incluídos



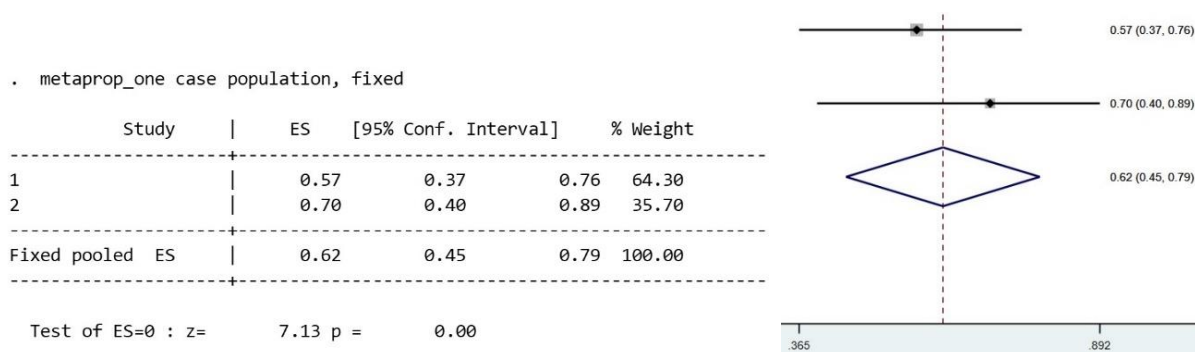
Fonte: elaborada pelos autores a partir do software *RevMan 5.3* (50).

5.4 Análises quantitativas (Metanálises)

Ambos os estudos foram elegíveis para as metanálises. Os desfechos primários considerados foram as prevalências de HPV, de HPV de alto risco e de HPV-16 nas biópsias de RB e respectivas amostras cervicais maternas; e o percentual de concordância entre os resultados dos testes de genotipagem de HPV das crianças com RB e suas respectivas mães (Figuras de 5 a 11).

Os dois estudos incluídos na presente revisão analisaram a prevalência de HPV nas biópsias de RB. Bhuvaneswari *et al.* (2012) apresentou a prevalência de 57% e correspondeu a 64,30% do peso nas análises metanalíticas (IC 95% = 0.37 – 0.76) (37). Já o estudo do Shetty *et al.* (2012) indicou a prevalência de 70% e correspondeu a 35,70% do peso nas análises metanalíticas (IC 95% = 0.40 – 0.89) (15). Houve uma prevalência agregada de HPV de 62% nas biópsias tumorais infantis (IC 95% = 0.45 – 0.79), com heterogeneidade nula ($I^2 = 0\%$) entre os estudos (Figura 5) (15,37)

Figura 5 - Metanálise da prevalência de HPV nas biópsias de RB



Legenda: Estudo 1 = Bhuvaneswari *et al.*, 2012 e Estudo 2 = Shetty *et al.*, 2012; $I^2 = 0.0$, $p = 0.0$.

Fonte: elaborada pelos autores a partir do software Stata Versão 14 (53).

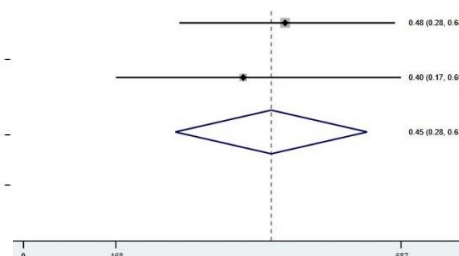
A prevalência de HPV de alto risco nas biópsias de RB foi avaliada nesses dois artigos. O primeiro estudo retratou a prevalência de 48% e correspondeu a 66,89% do peso nas análises metanalíticas (IC 95% = 0.28 – 0.68) (37). Já o segundo estudo apresentou a prevalência de 40% e correspondeu a 33,11% do peso nas análises metanalíticas (IC 95% = 0.17 – 0.69) (15). Houve uma prevalência agregada de 45% de HPV de alto risco nas biópsias tumorais infantis (IC 95% = 0.28 – 0.63), com heterogeneidade nula ($I^2 = 0\%$) entre os estudos (Figura 6) (15,37).

Figura 6 - Metanálise da prevalência de HPV de alto risco nas biópsias de RB

```
. metaprop_one case population, fixed
```

Study	ES	[95% Conf. Interval]		% Weight
1	0.48	0.28	0.68	66.89
2	0.40	0.17	0.69	33.11
Fixed pooled ES	0.45	0.28	0.63	100.00

Test of ES=0 : z= 5.06 p = 0.00



Legenda: Estudo 1 = Bhuvaneswari *et al.*, 2012 e Estudo 2 = Shetty *et al.*, 2012; $I^2 = 0.0$, $p = 0.0$.

Fonte: elaborada pelos autores a partir do software Stata Versão 14 (53).

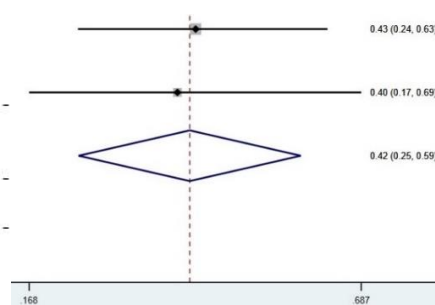
Além disso, a prevalência do subtipo viral de alto risco, o HPV-16 nas biópsias de RB foi determinada em ambos os artigos. A primeira pesquisa evidenciou a prevalência de 43% e correspondeu a 67,30% do peso nas análises metanalíticas (IC 95% = 0.24 – 0.63) (37). Já a segunda pesquisa demonstrou a prevalência de 40% e correspondeu a 32,70% do peso nas análises metanalíticas (IC 95% = 0.17 – 0.69) (15). Houve uma prevalência agregada de 42% de HPV-16 nas biópsias tumorais infantis (IC 95% = 0.25 – 0.59), com heterogeneidade nula ($I^2 = 0\%$) entre os estudos (Figura 7) (15,37).

Figura 7 - Metanálise da prevalência de HPV-16 nas biópsias de RB

```
. metaprop_one case population, fixed
```

Study	ES	[95% Conf. Interval]		% Weight
1	0.43	0.24	0.63	67.30
2	0.40	0.17	0.69	32.70
Fixed pooled ES	0.42	0.25	0.59	100.00

Test of ES=0 : z= 4.73 p = 0.00



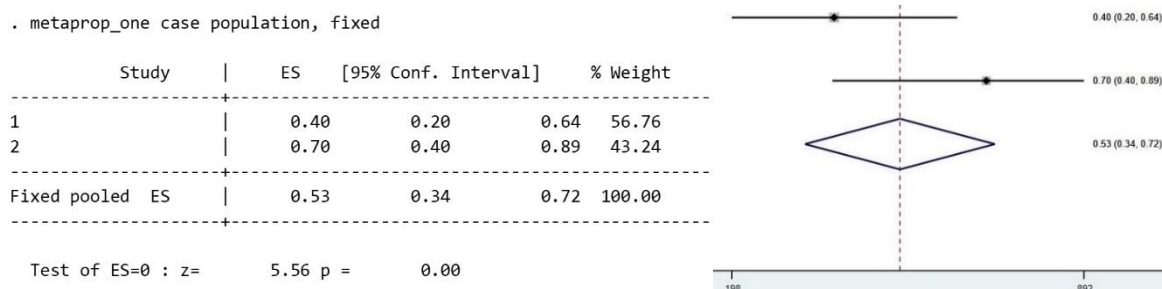
Legenda: Estudo 1 = Bhuvaneswari *et al.*, 2012 e Estudo 2 = Shetty *et al.*, 2012; $I^2 = 0.0$, $p = 0.0$.

Fonte: elaborada pelos autores a partir do software Stata Versão 14 (53).

A prevalência de HPV nas amostras cervicais maternas respectivas também foi reportada em ambos os estudos. O primeiro estudo apresentou a prevalência de 40% e correspondeu a 56,76% do peso nas análises metanalíticas (IC 95% = 0.20 – 0.64) (37). Já o segundo estudo exibiu a prevalência de 70% e

correspondeu a 43,24% do peso nas análises metanalíticas (IC 95% = 0.40 – 0.89) (15). Houve uma prevalência agregada HPV de 53% nas amostras cervicais maternas (IC 95% = 0.34 – 0.72), com heterogeneidade nula ($I^2 = 0\%$) entre os estudos (Figura 8) (15,37).

Figura 8 - Metanálise da prevalência de HPV nas amostras cervicais maternas

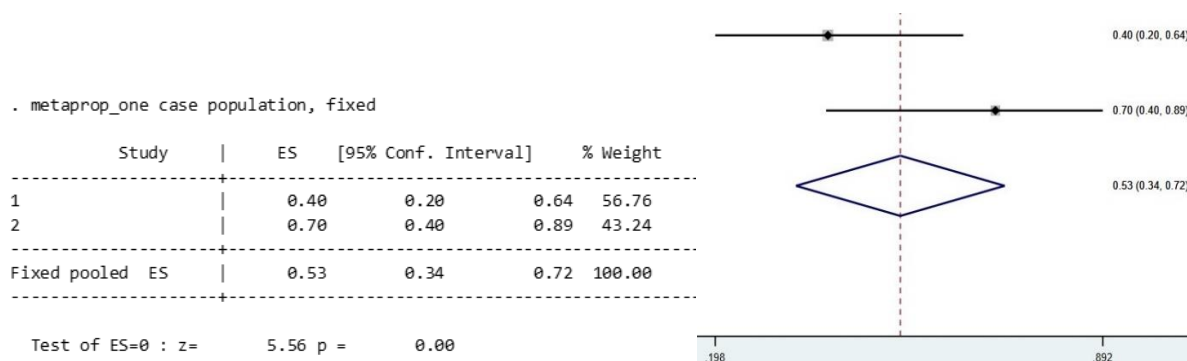


Legenda: Estudo 1 = Bhuvanewari *et al.*, 2012 e Estudo 2 = Shetty *et al.*, 2012; $I^2 = 0.0$, $p = 0.0$.

Fonte: elaborada pelos autores a partir do software Stata Versão 14 (53).

A prevalência de HPV de alto risco nas amostras cervicais maternas respectivas foi avaliada em ambos os estudos. Bhuvanewari *et al.* (2012) apresentou a prevalência de 40% e correspondeu a 56,76% do peso nas análises metanalíticas (IC 95% = 0.20 – 0.64) (37). Já Shetty *et al.* (2012) relatou a prevalência de 70% e correspondeu a 43,24% do peso nas análises metanalíticas (IC 95% = 0.40 – 0.89) (15). Houve uma prevalência agregada de 53% de HPV de alto risco nas amostras cervicais maternas (IC 95% = 0.34 – 0.72) com heterogeneidade nula ($I^2 = 0\%$) entre os estudos (Figura 9) (15,37).

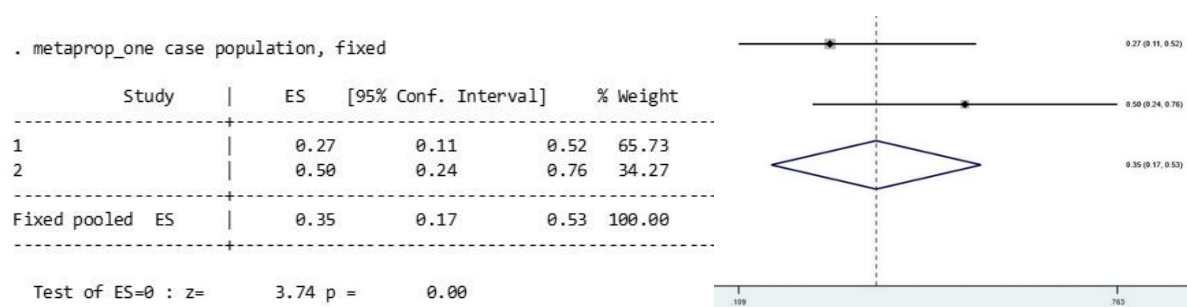
Figura 9 - Metanálise da prevalência de HPV de alto risco nas amostras cervicais maternas



Legenda: Estudo 1 = Bhuvaneswari *et al.*, 2012 e Estudo 2 = Shetty *et al.*, 2012; $I^2 = 0.0$, $p = 0.0$.
 Fonte: elaborada pelos autores a partir do software Stata Versão 14 (53).

Ambas as pesquisas analisaram a prevalência de HPV-16 nas amostras cervicais maternas respectivas. Bhuvaneswari *et al.* (2012) descreveu a prevalência de 27% e correspondeu a 65,73% do peso nas análises metanalíticas (IC 95% = 0.11 – 0.52) (37). Já o estudo do Shetty *et al.*, 2012 relatou a prevalência de 50% e correspondeu a 34,27% do peso nas análises metanalíticas (IC 95% = 0.24 – 0.76) (15). Houve uma prevalência agregada de 35% de HPV-16 nas amostras cervicais maternas (IC 95% = 0.17 – 0.53) com heterogeneidade nula ($I^2 = 0\%$) entre os estudos (Figura 10) (15,37).

Figura 10 - Metanálise da prevalência de HPV-16 nas amostras cervicais maternas

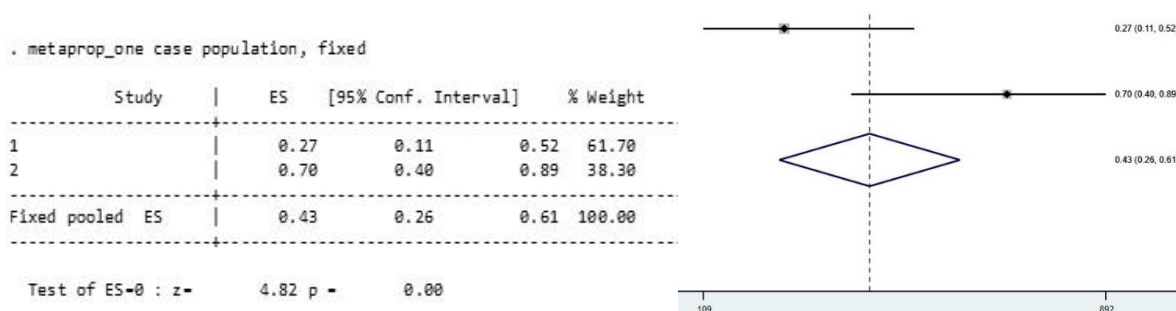


Legenda: Estudo 1 = Bhuvaneswari *et al.*, 2012 e Estudo 2 = Shetty *et al.*, 2012; $I^2 = 0.0$, $p = 0.0$.
 Fonte: elaborada pelos autores a partir do software Stata Versão 14 (53).

O percentual de concordância entre os resultados dos testes de genotipagem de HPV realizados em crianças com RB e suas respectivas mães foi avaliado nos dois estudos. O primeiro estudo apresentou o percentual de concordância de 27% e correspondeu a 61,70% do peso nas análises metanalíticas

(IC 95% = 0.11 – 0.52) (37). Já o segundo estudo indicou o percentual de concordância de 70% e correspondeu a 38,30% do peso nas análises metanalíticas (IC 95% = 0.40 – 0.89) (15). Houve um percentual de concordância agregada entre os resultados dos testes de genotipagem de HPV das crianças com RB e suas mães de 43% (IC 95% = 0.26 – 0.61) com heterogeneidade nula ($I^2 = 0\%$) entre os estudos (Figura 11) (15,37).

Figura 11 - Metanálise do percentual de concordância entre os resultados dos testes de genotipagem do HPV das crianças com RB e suas respectivas mães



Legenda: Estudo 1 = Bhuvaneswari *et al.*, 2012 e Estudo 2 = Shetty *et al.*, 2012; $I^2 = 0.0$, $p = 0.0$.

Fonte: elaborada pelos autores a partir do software Stata Versão 14 (53).

5.5 Avaliação da qualidade da evidência de acordo com o GRADE

A avaliação da qualidade da evidência foi realizada para os desfechos prevalência de HPV, de HPV de alto risco e de HPV-16 tanto nas biópsias de RB, quanto nas amostras cervicais maternas, além do percentual de concordância entre os resultados dos testes de genotipagem do HPV dessas duas amostras, sendo todos classificados como qualidade da evidência muito baixa (Tabela 4) (51).

Primeiramente, o domínio risco de viés foi classificado como não grave, sendo avaliado pela ENO, explicitada no item 5.3 – Risco de viés (49). Em relação ao quesito inconsistência, a análise foi considerada como não grave pois há pequena variação entre as estimativas pontuais de cada estudo, além dos ICs se sobreporem com heterogeneidade nula ($I^2 = 0\%$), alcançando significância estatística ($p < 0.05$).

Já o item evidência indireta foi classificado como não grave pois a questão PICO abordada é respondida diretamente pelos estudos disponíveis. Por sua vez, o tópico imprecisão foi avaliado como grave pois os ICs são amplos devido ao pequeno número de participantes e de eventos estudados, reduzindo a qualidade de evidência para esse item em um nível. Apesar disso, os ICs não cruzam a linha central e seu

intervalo encontra-se dentro de uma faixa de relevância clínica importante para os pacientes.

Como menos de dez estudos foram incluídos nesta revisão, não foi possível analisar a presença de viés de publicação por testes de sensibilidade ou testes estatísticos. Entretanto, avaliando-se a estratégia de busca – sem restrição de ano ou língua; as bases de dados principais e a literatura cinzenta foram pesquisadas por meio de sintaxes adequadas – e a ausência de financiamento da indústria, provavelmente não há risco de viés de publicação.

Por fim, como os desfechos abrangeram as prevalências do HPV em biópsias de RB e amostras cervicais maternas respectivas, além do percentual de concordância entre os resultados dos testes de genotipagem do HPV dessas duas amostras, não foi possível avaliar a magnitude do efeito e o efeito dose-resposta. Além disso, não foram identificados potenciais fatores de confusão. Dessa forma, não houve aumento de nível da evidência (upgrade) por esses domínios.

Tabela 4 - Avaliação da qualidade da evidência de acordo com o GRADE

Desfechos	Pacientes (n°)	Risco de viés	Inconsistência	Evidência indireta	Imprecisão	Risco de viés de Publicação	Efeito de grande magnitude do efeito	Potenciais fatores de confusão	Gradiente dose-resposta	Qualidade da evidência
Prevalência de HPV em biópsias de RB	31	Não grave	Não grave	Não grave	Grave ^a (-1)*	Provavelmente não	Provavelmente não	Provavelmente não	Provavelmente não	⊕○○○ ○ muito baixa
Prevalência de HPV de alto risco em biópsias de RB	31	Não grave	Não grave	Não grave	Grave ^a (-1)*	Provavelmente não	Provavelmente não	Provavelmente não	Provavelmente não	⊕○○○ ○ muito baixa
Prevalência de HPV-16 em biópsias de RB	31	Não grave	Não grave	Não grave	Grave ^a (-1)*	Provavelmente não	Provavelmente não	Provavelmente não	Provavelmente não	⊕○○○ ○ muito baixa
Prevalência de HPV nas amostras cervicais maternas	25	Não grave	Não grave	Não grave	Grave ^a (-1)*	Provavelmente não	Provavelmente não	Provavelmente não	Provavelmente não	⊕○○○ ○ muito baixa

Tabela 4 - Avaliação da qualidade da evidência de acordo com o GRADE

(continua)

Prevalência de HPV de alto risco nas amostras cervicais maternas	25	Não grave	Não grave	Não grave	Grave ^a (-1)*	Provavelmente não	Provavelmente não	Provavelmente não	Provavelmente não	⊕○○○ muito baixa
Prevalência de HPV-16 nas amostras cervicais maternas	25	Não grave	Não grave	Não grave	Grave ^a (-1)*	Provavelmente não	Provavelmente não	Provavelmente não	Provavelmente não	⊕○○○ muito baixa
Percentual de concordância entre os resultados dos testes de genotipagem do HPV mãe-filho com RB	25	Não grave	Não grave	Não grave	Grave ^a (-1)*	Provavelmente não	Provavelmente não	Provavelmente não	Provavelmente não	⊕○○○ muito baixa

a. Amplitude no intervalo de confiança de 95%

Nota: Os estudos observacionais são de baixa qualidade, partindo de uma pontuação inicial baixa (somente 2 níveis). A evidência pode ser considerada em quatro níveis: Alto, Moderado, Baixo e Muito Baixo. Os estudos podem ser atualizados ou rebaixados com base em certos fatores:

a) Risco de viés (-1 se risco grave de viés, -2 se risco muito sério de viés); b) Inconsistência ou heterogeneidade de evidência (-1 se inconsistência grave, -2 se inconsistência muito grave); c) Evidência indireta (-1 se grave, -2 se muito grave); d) Imprecisão dos resultados (-1 se amplo intervalo de confiança, -2 se muito amplo intervalo de confiança); e) Viés de publicação (-1 se provável, -2 se muito provável)

* Pequenos eventos e grande intervalo de confiança. Baixa ou muito baixa qualidade da evidência: os autores não confiam na estimativa do efeito e o valor real pode ser substancialmente diferente disso.

5.6 Teste kappa

Como ambos os artigos usaram o método PCR para a detecção do HPV, o coeficiente de concordância entre a presença/ausência de HPV em crianças com RB e suas respectivas mães foi avaliado para cada um dos estudos por meio do teste kappa (55). Conforme a pesquisa dos autores Shetty *et al.* (2012) (15), as crianças com RB e suas respectivas mães apresentaram concordância moderada em relação à presença/ausência de HPV (kappa 0.444), porém não houve significância estatística ($p = 0.091$). Há 40% (4 amostras) de concordância entre os resultados identificados como positivos e 30% (3 amostras) entre os negativos. Verificou-se discordância em 30,0% (três amostras) em que as mães se apresentaram positivas e seus respectivos filhos, negativos para HPV (Tabela 5).

Tabela 5 - Coeficiente de concordância entre a presença/ausência de HPV nas crianças com RB e suas respectivas mães, conforme estudo dos autores Shetty *et al.*, 2012

Crianças (biópsias RB)		Mães (amostras cervicais)		Total
		HPV +	HPV -	
	HPV+	4 (40%)	0 (0%)	4 (40%)
	HPV-	3 (30%)	3 (30%)	6 (60%)
	Total	7 (70%)	3 (30%)	10 (100%)

Legenda: Kappa = 0.444 ; p = 0,091

Fonte: elaborada pelos autores (2023).

Por fim, de acordo com a pesquisa dos autores Bhuvaneswari *et al.* (2012) (37), as crianças com RB e suas mães correspondentes apresentaram concordância razoável em relação à presença/ausência de HPV (kappa = -0.341), porém sem significância estatística (p = 0.095). Há 20% (3 amostras) de concordância entre os resultados identificados como positivos e 6,7% (1 amostra) entre os negativos. Verificou-se discordância em 53,3% (oito amostras) dos resultados em que as mães apresentaram resultados negativos, enquanto seus respectivos filhos apresentaram resultados positivos; e em 20,0% (três amostras) em que as mães apresentaram resultados positivos e seus respectivos filhos, negativos para HPV (Tabela 6).

Tabela 6 - Coeficiente de concordância entre a presença/ausência de HPV nas crianças com RB e suas respectivas mães, conforme estudo dos autores Bhuvaneswari *et al.*, 2012

Crianças (biópsias RB)		Mães (amostras cervicais)		Total
		HPV +	HPV -	
	HPV +	3 (20%)	8 (53,3%)	11 (73,3%)
	HPV -	3 (20%)	1 (6,7%)	4 (26,7%)
	Total	6 (40%)	9 (60%)	15 (100%)

Legenda: Kappa = -0.341; p = 0,095

Fonte: elaborada pelos autores (2023).

6 DISCUSSÃO

6.1 Sumário da evidência

Na literatura, esta é a primeira revisão sistemática com metanálise que avaliou a prevalência do HPV, HPV de alto risco e HPV-16 em crianças com RB e suas respectivas mães e o percentual de concordância dos resultados dos testes de genotipagem de HPV entre essas duas amostras. Além disso, é a primeira com a avaliação da qualidade metodológica e da evidência conforme as recomendações da Cochrane e das diretrizes metodológicas do Ministério da Saúde do Brasil (48,51,62,63). Adicionalmente, este é o primeiro estudo que investigou o coeficiente de concordância em relação à presença/ausência de HPV nas biópsias de RB e nas respectivas amostras cervicais maternas.

Foi identificada uma revisão sistemática sobre as infecções pelo HPV em biópsias de RB. Neste estudo, a prevalência do HPV em RB variou de 0 a 69%, o que indica uma ampla variação. Além do mais, destaca a importância de mais investigações para estatísticas mais precisas da prevalência de HPV em RB. Entretanto, tal artigo de revisão não avaliou a prevalência e a genotipagem do HPV nas amostras cervicais maternas correspondentes (64).

Nesse contexto, algumas revisões da literatura também avaliaram relação entre o HPV e lesões ou doenças oculares (65-67). De fato, o HPV tem sido identificado em várias lesões da superfície ocular. Estudos prévios sugeriram que apenas o subtipo cutâneo de HPV, e não o mucoso, está correlacionado com a presença de NESO (68,69). Foi estabelecida uma forte associação entre os tipos 6 e 11 do HPV e o papiloma conjuntival (70,71). Já a oncoproteína E6 do HPV 16/18 contribui para a patogênese do pterígio pois está parcialmente envolvido na inativação do p53 e é expressa nos pterígios HPV-positivos (72).

Os resultados encontrados nesta revisão sistemática com metanálise demonstraram uma alta prevalência agregada de HPV (62%, IC 95% 0.45 – 0.79), de HPV de alto risco (45%, IC 95% = 0.28 – 0.63) e de HPV-16 (42%, IC 95% = 0.25 – 0.59) nas biópsias de RB. Isso encontra-se em conformidade com vários estudos, que identificaram a presença de 25% (12), 27.9% (32), 36% (33), 47% (34), 57.9% (61), 69.7% (15) e 82.3% (31) de HPV em amostras de RB, sendo que dois desses estudos são ensaios clínicos randomizados (12,34). Uma revisão sistemática sobre esse tema concluiu que os subtipos virais HPV-16 e HPV-18 (HPV de alto risco) foram os mais reportados nos estudos incluídos (64). Entretanto, tal achado está em contradição com

quatro artigos, que não encontraram evidências de HPV nas amostras de RB. Esses últimos estudos foram conduzidos na América do Norte, na região norte da Índia, na Coreia e na Tailândia (11,57-59).

Os achados também apontaram uma alta prevalência agregada de HPV (53%, IC 95% = 0.34 – 0.72), de HPV de alto risco (53%, IC 95% = 0.34 – 0.72) e de HPV-16 (35%, IC 95% = 0.17 – 0.53) nos esfregaços cervicais maternos respectivos. Tais resultados demonstraram prevalências maiores do que as encontradas na literatura. Liu *et al.* (2014) relatou a prevalência de HPV de 18.20% (73), um estudo polonês identificou a prevalência de 15.79% (74) e outro estudo espanhol mostrou a prevalência de 6.5% (75) em esfregaços cervicais de mulheres grávidas. Além disso, pesquisas realizadas na China (73) e na Finlândia (76) reportaram que o HPV-16 foi o genótipo mais frequente em grávidas, corroborando os resultados do presente estudo.

Por fim, a taxa de concordância agregada dos resultados dos testes de genotipagem de HPV realizados em crianças com RB e suas respectivas mães foi de 43% (IC 95% 0.26 – 0.61). Porém, o teste kappa não apresentou significância estatística. Esse achado sugere que o risco de transmissão vertical dos genótipos de HPV é relativamente baixo, conforme já apresentado em outros estudos (75,77), ao contrário do que foi descrito por Smith *et al.* (2010) (78). Nosso estudo também contribui para a hipótese que a transmissão vertical pode não ser a única fonte de infecção por HPV em crianças e fornece evidências parciais para a transmissão horizontal do HPV nessa população (75), já que os dois artigos analisados apresentam alguns resultados discrepantes do subtipo viral de HPV encontrado em mães e seus respectivos filhos.

6.2 Limitações

A presente revisão sistemática possui limitações, sendo a principal relacionada ao pequeno número de estudos incluídos. O baixo número de estudos inseridos resultou em uma pequena população analisada e este fator contribuiu para o extenso intervalo de confiança dos estudos. Além disso, não foram encontrados ensaios clínicos randomizados com a população de interesse, visto que se trata de um tumor pediátrico relativamente raro e os dois estudos incluídos são observacionais. Apesar das evidências procedentes de estudos observacionais apresentarem um nível de evidência inicialmente baixo, ambos os estudos incluídos

foram bem conduzidos, embasados em desfechos clínicos relevantes, apresentando heterogeneidade nula e baixo risco de viés metodológico (15,37).

Outro fator a ser considerado é que ambas as pesquisas foram realizadas no mesmo país (Índia), que possui alta prevalência de infecção por HPV e alta incidência de RB esporádico (15,37). Assim, a validação desses resultados pode ser comprometida a um país/área restrita, o que dificulta a expansão dos achados.

Por último, o clearance viral nos recém-nascidos, que ocorre frequentemente entre seis e 12 meses de idade, pode contribuir para as baixas prevalências de HPV encontradas nas biópsias tumorais de RB (44).

7 CONCLUSÃO

7.1 Implicações para prática

Não há evidências robustas ou de alta qualidade para confirmar a hipótese de que esse câncer pode estar relacionado ou causado pelo HPV. Conclui-se que as prevalências agregadas de HPV, de HPV de alto risco e de HPV-16 nas amostras de RB e cervicais maternas podem ser consideráveis; embora a transmissão vertical seja questionável.

Apesar da baixa confiança nos resultados obtidos, o HPV pode representar um possível fator de risco para o desenvolvimento do RB. Assim, como a prevenção da transmissão do HPV relaciona-se a um possível benefício numa situação de risco de vida (neoplasia infantil com risco de morte), fortes recomendações devem ser indicadas (59). Dessa forma, recomenda-se fortemente a vacinação contra o HPV, disponível no SUS, a realização do exame preventivo (Papanicolau), inclusive durante a gestação; além da implementação de medidas educativas preventivas contra a transmissão do HPV (como a redução da exposição ao vírus e o uso de preservativos).

7.2 Implicações para pesquisas futuras

Recomenda-se a elaboração de estudos caso-controle em todo o mundo, com inclusão de grandes populações e desenhos bem delineados, analisando a associação e a prevalência do HPV em crianças com RB e suas respectivas mães.

Além disso, recomendam-se pesquisas com terapia celular para melhor determinação dos mecanismos moleculares envolvidos e da associação da infecção pelo HPV no desenvolvimento e progressão tumoral do RB.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Doorbar J, Quint W, Banks L, Bravo IG, Stoler M, Broker TR, et al. The biology and life-cycle of human papillomaviruses. *Vaccine* [Internet]. 2012 [cited 2023 Jan 23];30(5):55-70. Available from: <https://bit.ly/409SpBM> doi: 10.1016/j.vaccine.2012.06.083
2. Handler MZ, Handler NS, Majewski S, Schwartz RA. Human papillomavirus vaccine trials and tribulations: clinical perspectives. *J Am Acad Dermatol* [Internet]. 2015 [cited 2023 Jan 23];73(5):743-56. Available from: <https://bit.ly/3Z80hCD> doi: 10.1016/j.jaad.2015.05.040
3. Cobos C, Figueroa JA, Mirandola L, Colombo M, Summers G, Figueroa A, et al. The role of human papilloma virus (HPV) infection in non-anogenital cancer and the promise of immunotherapy: a review. *Int Rev Immunol* [Internet]. 2014 [cited 2023 Jan 23];33(5):383-401. Available from: <https://bit.ly/3n1CXsL> doi: 10.3109/08830185.2014.911857
4. Clarke MA, Deshmukh AA, Suk R, Roberts J, Gilson R, Jay N, et al. A systematic review and meta-analysis of cytology and HPV-related biomarkers for anal cancer screening among different risk groups. *Int J Cancer* [Internet]. 2022 [cited 2023 Jan 23];151(11):1889-1901. Available from: <https://bit.ly/42zKwXS> doi: 10.1002/ijc.34199.
5. Antoneli CBG, Ribeiro KB, Sredni ST, Arias VEA, Andreoli MA, De Camargo B, et al. Low prevalence of HPV in Brazilian children with retinoblastoma. *J Med Virol* [Internet]. 2011 [cited 2023 mar 21];83(1):115-8. Available from: <https://bit.ly/3lz82nk> doi:10.1002/jmv.21925
6. Javanmard D, Moein M, Esghaei M, Naseripour M, Monavari SH, Bokharaei-Salim F, et al. Molecular evidence of human papillomaviruses in the retinoblastoma tumor. *Virusdisease* [Internet]. 2019 [cited 2023 Jan 23];30(3):360-66. Available from: <https://bit.ly/3n3wMV6> doi: 10.1007/s13337-019-00540-7

7. Naseripour M, Nazari H, Bakhtiari P, Modarres-zadeh M, Vosough P, Ausari M. Retinoblastoma in Iran: outcomes in terms of patients' survival and globe survival. *Br J Ophthalmol* [Internet]. 2009 [cited 2023 Jan 23];93(1):28-32. Available from: <https://bit.ly/3nhg9VZ> doi: 10.1136/bjo.2008.139410
8. Dean M, Bendfeldt G, Lou H, Giron V, Garrido C, Valverde P, et al. Increased incidence and disparity of diagnosis of retinoblastoma patients in Guatemala. *Cancer Lett* [Internet]. 2014 [cited 2023 Jan 23];351(1):59-63. Available from: <https://bit.ly/40ur0dQ> doi: 10.1016/j.canlet.2014.04.023
9. Nyawira G, Kahaki K, Kariuki-Wanyoike M. Survival among retinoblastoma patients at the Kenyatta National Hospital, Kenya. *J Ophthalmol East Cent S Afr* [Internet]. 2013 [cited 2023 Jan 23];17(1):10-12. Available from: <https://bit.ly/4046cKa>
10. Canadian Retinoblastoma Society. National retinoblastoma strategy Canadian guidelines for care. *Can J Ophthalmol* [Internet]. 2009 [cited 2023 Jan 20];44(Suppl 2):S9–47. Available from: <https://bit.ly/3yY682T>. doi: <https://doi.org/10.3129/i09-194>
11. Saktanasate J, Saksiriwutto P, Uiprasertkul M, Horthongkham N, Trinavarat A, Atchaneeyasakul LO. Human Papillomavirus DNA in Parafin-Embedded Retinoblastoma. *J Med Assoc Thai* [Internet]. 2018 [cited 2022 Mar 22]; 101(2):229-31. Available from: <https://bit.ly/3ZbuAZ7>
12. Naru J, Aggarwal R, Mohanty AK, Singh U, Bansal D, Kakkar N, et al. Identification of differentially expressed proteins in retinoblastoma tumors using mass spectrometry-based comparative proteomic approach. *J Proteomics* [Internet]. 2016 [cited 2023 Jan 23];159(1):77-91. Available from: <https://bit.ly/3lx9yX1> doi: 10.1016/j.jprot.2017.02.006
13. Chávez-lópez M de G, Zúñiga-garcía V, Castro-magdonel BE, Vera E, Garrido E, Sánchez-ramos J, et al. Eag1 gene and protein expression in human retinoblastoma tumors and its regulation by pRb in HeLa cells. *Genes* [Internet]. 2020 [cited 2023 Jan 23];11(2):1-11. Available from: <https://bit.ly/42KRfP9> doi: 10.3390/genes11020119

14. Chauhan S, Sen S, Singh N, Sharma A, Chawla B, Kashyap S. Human papillomavirus detection strategies in retinoblastoma. *Pathol Oncol Res* [Internet]. 2019 [cited 2023 Jan 23];26(1):1-4. Available from: <https://bit.ly/40uJ5bl> doi: 10.1007/s12253-018-00577-x

15. Shetty OA, Naresh KN, Banavali SD, Shet T, Joshi R, Qureshi S, et al. Evidence for the presence of high risk human papillomavirus in retinoblastoma tissue from nonfamilial retinoblastoma in developing countries. *Pediatr Blood Cancer* [Internet]. 2012 [cited 2023 Jan 23];58(2):185-90. Available from: <https://bit.ly/3Z6HuaU> doi: 10.1002/pbc.23346

16. Howard GM, Ellsworth RM. Differential diagnosis of retinoblastoma: A statistical survey of 500 children: I. Relative frequency of the lesions which simulate retinoblastoma. *Am J Ophthalmol* [Internet]. 1965 [cited 2023 Jan 23];60(4):610-18. Available from: <https://bit.ly/3Zfoh6F> doi: [https://doi.org/10.1016/0002-9394\(65\)92248-8](https://doi.org/10.1016/0002-9394(65)92248-8)

17. Eslahi M, Maleki Dana P, Sadoughi F, Hallajzadeh J, Asemi Z, Sharifi M, et al. The Effects of Sterol-Related Signaling Pathways on Glioma. *Nutr Cancer* [Internet]. 2022 [cited 2023 Jan 23];74(5):1527-37. Available from: <https://bit.ly/3Z3afFr> doi: 10.1080/01635581.2021.1957488

18. Xu XL, Singh HP, Wang L, Qi DL, Poulos BK, Abramson DH, et al. Rb suppresses human cone-precursor-derived retinoblastoma tumours. *Nature* [Internet]. 2014 [cited 2023 Jan 23];514(7522):385-88. Available from: <https://bit.ly/3nh7yD2> doi: 10.1038/nature13813

19. Darwich R, Ghazawi FM, Rahme E, Alghazawi N, Burnier JV, Sasseville D, et al. Retinoblastoma Incidence Trends in Canada: A National Comprehensive Population-Based Study. *J Pediatr Ophthalmol Strabismus* [Internet]. 2019 [cited 2023 Jan 23];56(2):124-30. Available from: <https://bit.ly/3ngMrRi> doi: 10.3928/01913913-20190128-02

20. Dimaras H, Corson TW, Cobrinik D, White A, Zhao J, Munier FL, et al. Retinoblastoma. *Nat Rev Dis Primers* [Internet]. 2015 [cited 2023 Jan 23];1(1):1-23. Available from: <https://bit.ly/3ZagdnY> doi: 10.1038/nrdp.2015.21
21. Silva R. Oncogenes e genes supressores de tumor-Oncologia Molecular. In: Ferreira CG, Rocha JCC, organizators. *Oncologia Molecular*. São Paulo: Editora Atheneu; 2004. p. 29-42.
22. Guembarovski RL, Cólus IMS. Câncer: uma doença genética. *Genética na Escola* [Internet]. 2008 [cited 2023 Jan 23];3(1):4-7. Available from: <https://bit.ly/42wiY5I> doi: 10.55838/1980-3540.ge.2008.48
23. Helin K, Harlow ED, Fattaey A. Inhibition of E2F-1 Transactivation by Direct Binding of the Retinoblastoma Protein. *Mol. Cell. Biol.* [Internet]. 1993 [cited 2023 Jan 23];13(10):6501-08. Available from: <https://bit.ly/3LlrPeK> doi: 10.1128/mcb.13.10.6501
24. Choy KW, Pang CP, Yu CBO, Wong HL, Ng JSK, Fan DSP, et al. Loss of heterozygosity and mutations are the major mechanisms of RB1 gene inactivation in Chinese with sporadic retinoblastoma. *Hum Mutation* [Internet]. 2002 [cited 2023 Jan 23];20(5):1-9. Available from: <https://bit.ly/3lxiAn2> doi: <https://doi.org/10.1002/humu.9077>
25. Sachdeva UM, O'Brien JM. Understanding pRb: toward the necessary development of targeted treatments for retinoblastoma. *J Clin Invest.* [Internet]. 2012 [cited 2023 Jan 23];122(2):425-34. Available from: <https://bit.ly/3JDblwg> doi: 10.1172/JCI57114
26. Dyson NA, Howley PM, Monger K, Harlow E. The human papilloma virus-16 E7 oncoprotein is able to bind to the retinoblastoma gene product. *Science* [Internet]. 1979 [cited 2023 Jan 23];243(4893):934-37. Available from: <https://bit.ly/3K1xyez> doi: 10.1126/science.2537532
27. Witkiewicz AK, Knudsen KE, Dicker AP, Knudsen ES, et al. The meaning of p16ink4a expression in tumors: functional significance, clinical associations and

future developments. *Cell Cycle* [Internet]. 2011 [cited 2023 Jan 23];10(15):2497-2503. Available from: <https://bit.ly/42lzzDN> doi: 10.4161/cc.10.15.16776

28. Heck DV, Yee CL, Howley PM, Münger K. Efficiency of binding the retinoblastoma protein correlates with the transforming capacity of the E7 oncoproteins of the human papillomaviruses. *Proc Natl Acad Sci* [Internet]. 1992 [cited 2023 Jan 23];89(10):4442-46. Available from: <https://bit.ly/3yUF1W6> doi: <https://doi.org/10.1073/pnas.89.10.4442>
29. Münger K, Phelps WC, Bubb V, Howley PM, Schlegel R. The E6 and E7 genes of the human papillomavirus type 16 together are necessary and sufficient for transformation of primary human keratinocytes. *J Virol* [Internet]. 1989 [cited 2023 Jan 23];63(10):4417-24. Available from: <https://bit.ly/3FL74v5> doi: 10.1128/jvi.63.10.4417-4421.1989
30. Mesplède T, Gagnon D, Bergeron-Labrecque F, Azar I, Sénéchal H, Coutlée F, et al. p53 Degradation Activity, Expression, and Subcellular Localization of E6 Proteins from 29 Human Papillomavirus Genotypes. *J Virol* [Internet]. 2012 [cited 2023 Jan 23];86(1):94-107. Available from: <https://bit.ly/3Zapxli> doi 10.1128/JVI.00751-11
31. Montoya-Fuentes H, Paz Ramirez-Munoz M, Villar-Calvo V, Suarez-Rincon AE, Ornelas-Aguirre JM, Vazquez-Camacho G, et al. Identification of DNA sequences and viral proteins of 6 human papillomavirus types in retinoblastoma tissue. *Anticancer Res* [Internet]. 2003 [cited 2023 Jan 23];23(3):2856-62. Available from: <https://bit.ly/40nuXRI>.
32. Palazzi MA, Yunes JA, Cardinalli IA, Stangenhuis GP, Brandalise SR, Ferreira SA, et al. Detection of oncogenic human papillomavirus in sporadic retinoblastoma. *Acta Ophthalmol Scand* [Internet]. 2003 [cited 2023 Jan 23];81(4):396-98. Available from: <https://bit.ly/3ZbVTIT> doi 10.1034/j.1600-0420.2003.00112.x
33. Orjuela M, Castaneda VP, Ridaura C, Lecona E, Leal C, Abramson DH, et al. Presence of human papilloma virus in tumor tissue from children with retinoblastoma:

an alternative mechanism for tumor development. Clin Cancer Res. [Internet]. 2000 [cited 2023 Jan 23];6(10):4010-16. Available from: <https://bit.ly/3TANffN>.

34. Mohan A, Venkatesan N, Kandalam M, Pasricha G, Acharya P, Khetan V, et al. Detection of human papillomavirus DNA in retinoblastoma samples: a preliminary study. J Pediatr Hematol Oncol [Internet]. 2009 [cited 2023 Jan 23];31(1):8-13. Available from: <https://bit.ly/3nf69fV> doi 10.1097/MPH.0b013e31818b373b
35. Tito A, Elida SY. Human Papillomavirus Infection as the Risk Factor to Retinoblastoma. Cermin Dunia Kedokteran [Internet]. 2019 [cited 2023 Jan 23];46(1):71-73. Available from: <https://bit.ly/3ZIK8K5> doi: <https://doi.org/10.55175/cdk.v46i1.540>
36. Diniz N, Melo TC, Araldi RP, Carvalho RF, Beçak W, Medeiros JW, et al. Immunohistochemical Detection of early and late Human Papillomaviruses (HPV) proteins in Retinoblastoma tumors. medRxiv [Internet]. 2020 [cited 2023 Jan 23]. Available from: <https://bit.ly/40jb3aa> doi: 10.1101/2020.07.16.20153882
37. Bhuvaneswari A, Pallavi VR, Jayshree RS, Kumar RV. Maternal transmission of human papillomavirus in retinoblastoma: A possible route of transfer. Indian J Med Paediatr Oncol [Internet]. 2012 [cited 2023 Jan 23];33(4):210-15. Available from: <https://bit.ly/40uMhUm> doi: 10.4103/0971-5851.107080
38. Trunk MJ, Wentzensen N, Doeberitz MK. Molecular pathogenesis of cervical cancer and its first steps. Pathologie [Internet]. 2005 [cited 2023 Jan 23];26(4):283-90. Available from: <https://bit.ly/3JZ9s3M> doi: 10.1007/s00292-005-0763-4
39. Alberico S, Pinzano R, Comar M, Toffoletti F, Maso G, Ricci G, et al. Maternal-fetal transmission of human papillomavirus. Minerva Ginecol. 1996;48(5):199-204.
40. SyrJanen S, Puranen M. Human papillomavirus infections in children: the potential role of maternal transmission. Crit Rev Oral Biol Med [Internet]. 2000 [cited 2023 Mar 23];11(2):259-74. Available from: <https://bit.ly/3ltZa2t> doi:10.1177/10454411000110020801

41. Trottier H, Mayrand MH, Coutlée F, Monnier P, Laporte L, Niyibizi J, et al. Human papillomavirus (HPV) perinatal transmission and risk of HPV persistence among children: design, methods and preliminary results of the HERITAGE study. *Papillomavirus Res* [Internet]. 2016 [cited 2023 Mar 23];2:145-52. Available from: <https://bit.ly/42BgRNY> doi: 10.1016/j.pvr.2016.07.001
42. Medeiros LR, De Moraes Ethur AB, Hilgert JB, Zanini RR, Berwanger O, Bozzetti MC, et al. Vertical transmission of the human papillomavirus: a systematic quantitative review. *Cad Saúde Publica* [Internet]. 2005 [cited 2023 Mar 23];21(4):1006-15. Available from: <https://bit.ly/42zUvMX> doi: 10.1590/s0102-311x2005000400003
43. Costa KC, Pereyra EA, Zugaib M. Infecção pelo HPV durante o ciclo gravídico-puerperal. *Rev Ginecol Obstet* [Internet]. 2000 [cited 2023 Mar 23];11(1):62-4. Available from: <https://bit.ly/3FGxGgY>
44. Zahreddine M, Mayrand MH, Therrien C, Trevisan A, Dagenais C, Monnier P, et al. Antibodies to human papillomavirus types 6, 11, 16 and 18: Vertical transmission and clearance in children up to two years of age. *EClinicalMedicine* [Internet]. 2020 [cited 2023 Mar 23];21(100334). Available from: <https://bit.ly/3K1nLoD> doi: 10.1016/j.eclinm.2020.100334
45. Stroup DF, Berlin JA, Morton SC, Olkin I, Williamson GD, Rennie D, et al. Meta-analysis of observational studies in epidemiology a proposal for reporting. *JAMA* [Internet]. 2000 [cited 2023 Mar 23];283(15):2008-12. Available from: <https://bit.ly/3Z8tGwC> doi: 10.1001/jama.283.15.2008
46. Conselho Nacional de Saúde. Resolução nº 510/2016. Dispõe sobre as normas aplicáveis a pesquisas em Ciências Humanas e Sociais. *Diário Oficial da República Federativa do Brasil* [Internet]. 2016 Apr 07 [cited 2023 Mar 23]. Available from: <http://bit.ly/2fmnKeD>
47. Page MJ, Moher D, Bossuyt PM, Boutron I, Hoffmann TC, Mulrow CD, et al. PRISMA 2020 explanation and elaboration: updated guidance and exemplars for reporting

systematic reviews. *BMJ* [Internet]. 2021 [cited 2023 Mar 23];372(160). Available from: <https://bit.ly/3K24XFV> doi: doi.org/10.1136/bmj.n160

48. Higgins J, Green S. *Cochrane handbook for systematic reviews of interventions* [Internet]. version 5.1.0. London: The Cochrane Collaboration; 2011. Available from: <https://bit.ly/40s44eX>
49. Lo CK-L, Mertz D, Loeb M. Newcastle-Ottawa Scale: comparing reviewers' to authors' assessments. *BMC Med Res Methodol* [Internet]. 2014 [cited 2023 Jan 23];14(45). Available from: <https://bit.ly/3ngGzYh> doi: 10.1186/1471-2288-14-45
50. Review Manager (RevMan) [Software]. 5th ed. UK: Cochrane; 2023 [cited 2023 Jan 21] The Cochrane Collaboration; 2014. Available from: <https://bit.ly/3Zelidl>.
51. Guyatt G, Oxman AD, Akl EA, Kunz R, Vist G, Brozek J, et al. GRADE guidelines: 1. Introduction - GRADE evidence profiles and summary of findings tables. *J Clin Epidemiol* [Internet]. 2011 [cited 2023 Jan 23];64(4):383-94. Available from: <https://bit.ly/3Z8loUm> doi: 10.1016/j.jclinepi.2010.04.026
52. GRADEpro GDT: GRADEpro Guideline Development Tool [Software]. Hamilton: McMaster University and Evidence Prime; 2022 [cited 2023 Jan 23]. Available from: <https://bit.ly/3z5nnyY>.
53. Newcombe RG. Two-sided confidence intervals for the single proportion: comparison of seven methods. *Stat Med* [Internet]. 1998 [cited 2023 Mar 23];17(8):857-72. Available from: <https://bit.ly/3ndqEdd> doi: 10.1002/(sici)1097-0258(19980430)17:8<857::aid-sim777>3.0.co;2-e
54. Higgins JPT, Thompson SG, Deeks JJ, Altman DG. Measuring inconsistency in meta-analyses. *BMJ* [Internet]. 2003 [cited 2023 Mar 23];327(7414):557-60. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12958120/> doi: 10.1136/bmj.327.7414.557.

55. Landis JR, Koch GG. The measurement of observer agreement for categorical data. *Biometrics* [Internet]. 1977 [cited 2023 Mar 23];33(1):159-74. Available from: <https://bit.ly/40vCuxo>
56. Stata Statistical: Release 14 [Software]. College Station, TX: StataCorp LP, 2015.
57. Gillison ML, Chen R, Goshu E, Rushlow D, Chen N, Banister C, et al. Human retinoblastoma is not caused by known pRb-inactivating human DNA tumor viruses. *Int J Cancer* [Internet]. 2007 [cited 2023 Jan 25];120(7):1482-90. Available from: <https://bit.ly/3JX0Quu> doi: 10.1002/ijc.22516
58. Ryoo NK, Kim JE, Choung HK, Kim N, Lee MJ, Khwarg SI. Human papilloma virus in retinoblastoma tissues from Korean patients. *Korean J Ophthalmol* [Internet]. 2013 [cited 2023 Jan 23];27(5):368-71. Available from: <https://bit.ly/3JDFwsB> doi: 10.3341/kjo.2013.27.5.368
59. Shukla S, Bharti AC, Mahata S, Hussain S, Kumar R, Hedau S, Das BC. Infection of human papillomaviruses in cancers of different human organ sites. *Indian Journal of Medical Research*. 2009 Sep 1;130(3):222-33.
60. Jeyaprakash K, Shanthini T, Kim U, Muthukkaruppan V, Vanniarajan A. Human papillomavirus in retinoblastoma: A tertiary eye care center study from South India. *Indian J Ophthalmol* [Internet]. 2021 [cited 2023 mar 21];69(8):2111-5. Availabe from: <https://bit.ly/42CgliQ> doi:10.4103/ijo.IJO_106_21
61. Anand B, Ramesh C, Appaji L, Kumari BA, Shenoy AM, Jayshree RS, Kumar RV. Prevalence of high-risk human papillomavirus genotypes in retinoblastoma. *British journal of ophthalmology*. 2011 Jul 1;95(7):1014-8.
62. Ministério da Saúde (BR). Diretrizes metodológicas: elaboração de revisão sistemática e metanálise de estudos observacionais comparativos sobre fatores de risco e prognóstico. Ministério da Saúde, Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos, Departamento de Ciência e Tecnologia. Brasília: Ministério da Saúde, 2014. [cited 2023 Jan 20]. 132 p. Available from: bit.ly/40BiYjc

63. Ministério da Saúde (BR), Secretaria de Ciência Tecnologia e Insumos Estratégicos, Departamento de Ciência e Tecnologia. Diretrizes Metodológicas: Sistema GRADE- Manual de graduação da qualidade da evidência e força de recomendação para tomada de decisão em saúde [Internet]. Brasília: Ministério da Saúde; 2014 [cited 2023 Jan 20]. 72 p. Available from: <https://bit.ly/3luKOPc>
64. Soltani S, Tabibzadeh A, Yousefi P, Zandi M, Zakeri A, Akhavan Rezayat S, et al. HPV infections in retinoblastoma: a systematic review. Vol. 35, Journal of Clinical Laboratory Analysis. John Wiley and Sons Inc; 2021.
65. Hughes DS, Powell N, Fiander AN. Will vaccination against human papillomavirus prevent eye disease? A review of the evidence. Br J Ophthalmol [Internet]. 2008 [cited 2022 Dec 9];2008;92(4):460-5. Available from: <https://bit.ly/3n8BBfW> doi: 10.1136/bjo.2007.135038
66. Hanbazazh M, Gyure KA. Ocular human papillomavirus infections. Arch Pathol Lab Med [Internet]. 2018 [cited 2023 Jan 25];142(6):706-10. Available from: <https://bit.ly/42vULfV> doi: 10.5858/arpa.2017-0571-RA
67. Chalkia AK, Bontzos G, Spandidos DA, Detorakis ET. Human papillomavirus infection and ocular surface disease (Review). Int J Oncol [Internet]. 2019 [cited 2023 Jan 25];54(5):1503-10. Available from: <https://bit.ly/3LGsqxF> doi: 10.3892/ijo.2019.4755
68. De Koning MNC, Waddell K, Magyezi J, Purdie K, Proby C, Harwood C, et al. Genital and cutaneous human papillomavirus (HPV) types in relation to conjunctival squamous cell neoplasia: A case-control study in Uganda. Infect Agent Cancer [Internet]. 2008 [cited 2023 Feb 1];3(1):1-9. Available from: <https://bit.ly/3Z7CR0j> doi: 10.1186/1750-9378-3-12
69. Ateenyi-Agaba C, Franceschi S, Wabwire-Mangen F, Arslan A, Othieno E, Binta-Kahwa J, et al. Human papillomavirus infection and squamous cell carcinoma of the conjunctiva. Br J Cancer [Internet]. 2010 [cited 2023 Feb 1];102(2):262-7. Available from: <https://bit.ly/3JZ6fBe> doi: 10.1038/sj.bjc.6605466

70. Annadanam A, Vizcaino MA, Eberhart CG, Khurshid GS, Gupta P. Long standing exophytic conjunctival papilloma infected with human papillomavirus. *J Eye Ophthalmol* [Internet]. 2017 [cited 2023 Feb 1];4(1):1-3. Available from: <https://bit.ly/3JzY9hk> doi: 10.7243/2055-2408-4-1.
71. Sjö NC, Von Buchwald C, Cassonnet P, Norrild B, Prause JU, Vinding T, et al. Human papillomavirus in normal conjunctival tissue and in conjunctival papilloma: Types and frequencies in a large series. *Br J Ophthalmol* [Internet]. 2007 [cited 2023 Feb 1];91(8):1014-15. Available from: <https://bit.ly/3TzX11x> doi: 10.1136/bjo.2006.108811
72. Tsai YY, Chang CC, Chiang CC, Yeh KT, Chen PL, Chang CH, et al. HPV infection and p53 inactivation in pterygium. *Molecular Vision* [Internet]. 2009 [cited 2022 Dec 9];15:1092-97. Available from: <https://bit.ly/404KOVd>
73. Liu P, Xu L, Sun Y, Wang Z. The prevalence and risk of human papillomavirus infection in pregnant women. *Epidemiol Infect* [Internet]. 2014 [cited 2023 Jan 15];142(8):1567-78. Available from: <https://bit.ly/3ZaMJ9e> doi: 10.1017/S095026881400063
74. Skoczyński M, Goździcka-Józefiak A, Kwaśniewska A. The Prevalence of Human Papillomavirus between the Neonates and Their Mothers. *Biomed Res Int* [Internet]. 2015 [cited 2023 Jan 15];2015:1-7. Available from: <https://bit.ly/3LO7V1V> doi: 10.1155/2015/126417
75. Castellsagué X, Drudis T, Cañadas MP, Goncé A, Ros R, Pérez JM, et al. Human Papillomavirus (HPV) infection in pregnant women and mother-to-child transmission of genital HPV genotypes: A prospective study in Spain. *BMC Infect Dis* [Internet].
76. Louvanto K, Rintala MA, Syrjänen KJ, Grénman SE, Syrjänen SM. Incident cervical infections with high- and low-risk human papillomavirus (HPV) infections among mothers in the prospective Finnish Family HPV Study. *BMC Infect Dis* [Internet]. 2011 [cited 2023 Jan 27];11(179):1-11. Available from: <https://bit.ly/3llazLX> doi: 10.1186/1471-2334-11-179

77. Rombaldi RL, Serafini EP, Mandelli J, Zimmermann E, Losquiavo KP. Perinatal transmission of human papillomavirus DNA. *Viol J* [Internet]. 2009 [cited 2023 Jan 27];6(83):1-12. Available from: <https://bit.ly/3FKjtj8> doi: 10.1186/1743-422X-6-83
78. Smith EM, Ritchie JM, Yankowitz J, Swarnavel S, Wang D, Haugen TH, et al. Human papillomavirus prevalence and types in newborns and parents: concordance and modes of transmission. *Sex Transm Dis* [Internet]. 2004 [cited 2023 Jan 27];31(1):57-62. Available from: <https://bit.ly/40687ho> doi: 10.1097/01.OLQ.0000105327.40288.DB

APÊNDICE A - PROTOCOLO PROSPERO PUBLICADO

PROSPERO International prospective register of systematic reviews

UNIVERSITY *of York*
Centre for Reviews and Dissemination

Systematic review

A list of fields that can be edited in an update can be found [here](#).



1 Review title

Give the title of the review in English

Frequency and genotyping of Human Papillomavirus in sporadic retinoblastoma biopsies and their respective maternal cervical specimens: a systematic review of randomized controlled trials.

2 Original language title

For reviews in languages other than English, give the title in the original language. This will be displayed with the English language title.

3 Anticipated or actual start date

Give the date the systematic review started or is expected to start. 15/06/2021

4 Antecipated completion date

Give the date by which the review is expected to be completed. 31/01/2023

5 Stage of review at time of this submission

This field uses answers to initial screening questions. It cannot be edited until after registration.

Tick the boxes to show which review tasks have been started and which have been completed. Update this field each time any amendments are made to a published record.

Review stage	Started	Completed
Preliminary searches	Yes	Yes
Piloting of the study selection process	Yes	Yes
Formal screening of search results against eligibility criteria	Yes	Yes
Data extraction	Yes	Yes
Risk of bias (quality) assessment	Yes	Yes
Data analysis	Yes	No

The review has not yet started: No

6 Named contact

The named contact is the guarantor for the accuracy of the information in the register record. This may be any member of the review team. Mariana Cunha

Email salutation (e.g. "Dr Smith" or "Joanne") for correspondence: Miss Cunha

7 Named contact email

Give the electronic email address of the named contact: marianabc12@yahoo.com.br

8 Named contact address

Give the full institutional/organisational postal address for the named contact.

Botucatu Medical School, Department of Obstetrics and Gynecology, District Rubio Junior, s/n. CEP 18618-970.

9 Named contact phone number.

Give the telephone number for the named contact, including international dialling code.

+55 32 999154710

10 Organisational affiliation of the review

Full title of the organisational affiliations for this review and website address if available.

This field may be completed as 'None' if the review is not affiliated to any organisation.

Botucatu Medical School

Organisation web address: www.fmb.unesp.br

11 Review team members and their organisational affiliations

Give the personal details and the organisational affiliations of each member of the review team. Affiliation refers to groups or organisations to which review team members belong. NOTE: email and country now MUST be entered for each person, unless you are amending a published record.

Miss Mariana Cunha. Botucatu Medical School

Professor Meline Rossetto Kron Rodrigues. Botucatu Medical School

Professor Agnaldo Lopes da Silva Filho. Botucatu Medical School.

12 Funding sources/sponsors

Details of the individuals, organizations, groups, companies or other legal entities who have funded or sponsored the review. No foundation.

Grant number(s)

State the funder, grant or award number and the date of award.

13 Conflicts of interest

List actual or perceived conflicts of interest (financial or academic). None

14 Collaborators

Give the name and affiliation of any individuals or organisations who are working on the review but who are not listed as review team members. NOTE: email and country must be completed for each person, unless you are amending a published record.

15 Review question

State the review question(s) clearly and precisely. It may be appropriate to break very broad questions down into a series of related more specific questions. Questions may be framed or refined using PI(E)COS or similar where relevant.

Question: Do children with sporadic retinoblastoma and their respective mothers have the same Human Papillomavirus type in comparison to children without this tumor and their corresponding mothers?

Objective: To evaluate the frequency and genotyping of Human Papillomavirus in sporadic retinoblastoma biopsies and their respective maternal cervical specimens.

16 Searches

State the sources that will be searched (e.g. Medline). Give the search dates, and any restrictions (e.g. language or publication date). Do NOT enter the full search strategy (it may be provided as a link or attachment below).

There was no language restriction. We have searched the following electronic data bases until January 2023 to identify randomized clinical trials involving Human Papillomavirus frequency and genotyping in children with sporadic retinoblastoma and their respective maternal cervical specimens. Embase (1980–2021), PubMed (1966–2021), LILACS (1982–2021) and the Cochrane Central Register of Controlled Trials (CENTRAL, the Cochrane Library, issue 2021). We also searched for ongoing clinical trials on ClinicalTrials.gov website. The Medical Subject Heading (MeSH) terms used included "Papillomavirus infections", "Papillomaviridae", "Gammapapillomavirus", "Retinoblastoma" and "Retinoblastoma protein".

17 URL to search strategy

Upload a file with your search strategy, or an example of a search strategy for a specific database, (including the keywords) in pdf or word format. In doing so you are consenting to the file being made publicly accessible. Or provide a URL or link to the strategy. Do NOT provide links to your search results.

https://www.crd.york.ac.uk/PROSPEROFILES/256625_STRATEGY_20210523.pdf

Alternatively, upload your search strategy to CRD in pdf format. Please note that by doing so you are consenting to the file being made publicly accessible.

Do not make this file publicly available until the review is complete.

18 Condition or domain being studied

Give a short description of the disease, condition or healthcare domain being studied in your systematic review.

Recent studies have supported to the hypothesis that infection of Human Papillomavirus (HPV) may play an important role in the development of nonfamilial form of retinoblastoma in children, especially in developing countries. In fact, research corroborate that HPV may represent an important risk factor in the development of such neoplasia, being present in up to 82.3% of sporadic retinoblastoma tumor samples. However, what remains to be determined is whether maternal transmission of HPV can be a possible route of transmission. The current comprehensive systematic

review and metanalysis only included randomized controlled trials. The evidence will be evaluated on the frequency and genotyping of HPV in children with sporadic retinoblastoma and their corresponding maternal cervical specimens. Furthermore, we will study the correlation between the staging of retinoblastoma and the presence of HPV, the clinical characteristics of the sample, the prevalence of maternal risk factors related to HPV infection and its association with the viral type. We will discuss the clinical relevance of these results and their potential applications in translational clinics.

19 Participants/population

Specify the participants or populations being studied in the review. The preferred format includes details of both inclusion and exclusion criteria. Children with sporadic retinoblastoma and their corresponding maternal cervical specimens

20 Intervention(s), exposure(s)

Give full and clear descriptions or definitions of the interventions or the exposures to be reviewed. The preferred format includes details of both inclusion and exclusion criteria.

We will analyze the frequency and genotyping of HPV in children with sporadic retinoblastoma and their respective maternal cervical specimens, to see if maternal transmission of HPV can be a possible route of transmission.

21 Comparator(s)/control

Where relevant, give details of the alternatives against which the intervention/exposure will be compared (e.g. another intervention or a non-exposed control group). The preferred format includes details of both inclusion and exclusion criteria.

Comparator: children with sporadic retinoblastoma and their corresponding maternal cervical specimens. Control: children without sporadic retinoblastoma and their respective maternal cervical specimens.

22 Types of study to be included

Give details of the study designs (e.g. RCT) that are eligible for inclusion in the review. The preferred format includes both inclusion and exclusion criteria. If there are no restrictions on the types of study, this should be stated. Randomized Clinical Trials are included.

23 Context

Give summary details of the setting or other relevant characteristics, which help define the inclusion or exclusion criteria. This evaluation was performed according to Cochrane methodology and indicated in accordance with Statement PRISMA. Election criterium: We included randomized controlled trials and evaluation of results, in which patients were randomly assigned into two groups: intervention or comparison group, and follow the symbol "PICO" described below. Population: children with sporadic retinoblastoma and their corresponding maternal cervical specimens. Intervention: Frequency and genotyping of HPV. Comparator: children without sporadic retinoblastoma and their respective maternal cervical specimens. Outcomes: frequency of HPV in children with sporadic retinoblastoma and their individual maternal cervical specimens and the correspondence between the mother-child HPV type.

APÊNDICE B - ESTRATÉGIA DE BUSCA – Pubmed:

#1 "Gammapapillomavirus"[Mesh] OR Gammapapillomaviruses OR Human papillomavirus 4 OR Human papillomavirus 60

#2 "Papillomavirus infections"[Mesh] OR Papillomavirus Infection OR Human Papillomavirus Infection OR Human Papillomavirus Infections OR Papillomavirus Infection, Human OR Papillomavirus Infections, Human OR HPV Infection OR HPV Infections

#3 "Papillomaviridae"[Mesh] OR Human Papilloma Virus OR Human Papilloma Viruses OR Papilloma Virus, Human OR Papilloma Viruses, Human OR Virus, Human Papilloma OR Viruses, Human Papilloma OR HPV, Human Papillomavirus Viruses OR Human Papillomavirus Viruses OR Human Papillomavirus Virus OR Papillomavirus Virus, Human OR Papillomavirus Viruses, Human OR Virus, Human Papillomavirus OR Viruses, Human Papillomavirus

#4 "Retinoblastoma"[Mesh] OR Retinoblastomas OR Neuroblastoma, Retinal OR Neuroblastomas, Retinal OR Retinal Neuroblastoma OR Retinal Neuroblastomas OR Glioma, Retinal OR Gliomas, Retinal OR Retinal Glioma OR Retinal Gliomas OR Eye Cancer, Retinoblastoma OR Cancer, Retinoblastoma Eye OR Cancers, Retinoblastoma Eye OR Eye Cancers, Retinoblastoma OR Retinoblastoma Eye Cancer OR Retinoblastoma Eye Cancers OR Glioblastoma, Retinal OR Glioblastomas, Retinal OR Retinal Glioblastoma OR Retinal Glioblastomas OR Sporadic Retinoblastoma OR Retinoblastoma, Sporadic OR Retinoblastomas, Sporadic OR Sporadic Retinoblastomas OR Familial Retinoblastoma OR Familial Retinoblastomas OR Retinoblastoma, Familial OR Retinoblastomas, Familial OR Hereditary Retinoblastoma OR Hereditary Retinoblastomas OR Retinoblastoma, Hereditary OR Retinoblastomas, Hereditary

#5 "Eye Neoplasms"[Mesh] OR Eye Neoplasm OR Neoplasm, Eye OR Neoplasms, Eye OR Cancer of Eye OR Eye Cancers OR Cancer of the Eye OR Eye Cancer OR Cancer, Eye OR Cancers, Eye

#6 "Vaginal Smears"[Mesh] OR Smear, Vaginal OR Smears, Vaginal OR Vaginal Smear OR Cervical Smears OR Cervical Smear OR Smear, Cervical OR Smears, Cervical

#7 "Infectious Disease Transmission, Vertical"[Mesh] OR Pathogen Transmission, Vertical OR Transmission, Vertical Pathogen OR Vertical Pathogen Transmission OR Vertical Transmission of Infectious Disease OR Vertical Infection Transmission OR Vertical Infectious Disease Transmission OR Infection Transmission, Vertical OR Transmission, Vertical Infection OR Maternal-Fetal Infection Transmission OR Maternal Fetal Infection Transmission OR Transmission, Maternal-Fetal Infection OR Infection Transmission, Maternal-Fetal OR Infection Transmission, Maternal Fetal OR Infection Transmission, Fetomaternal OR Mother-to-Child Transmission OR Mother to Child Transmission OR Mother-to-Child Transmissions OR Transmission, Mother-to-Child OR Transmissions, Mother-to-Child OR Fetomaternal Infection Transmission OR Transmission, Fetomaternal Infection

(#1 OR #2 OR #3) AND (#4 OR #5) AND (#6 OR #7)=

APÊNDICE C - FICHAS DE EXTRAÇÃO DE DADOS

1) Formulário para extração de dados:

Tabela 7 - Extração de dados dos autores Bhuvanewari *et al.* (2012)

Sobrenome Primeiro Autor	Ano
BHUVANESWARI	2012

Autores: Bhuvanewari *et al.* (2012)

Elegibilidade

Estudo transversal do tipo série de casos	Participantes relevantes	Intervenção relevante	Desfecho relevante
Sim	Sim	Sim	Sim

Não prosseguir se alguma resposta for não. Estudo excluído e citar abaixo o motivo de exclusão

População do estudo	Informações Clínicas
População de origem	Crianças que foram clinicamente diagnosticadas como RB e submetidas a enucleação ou exenteração orbitária como um dos procedimentos de tratamento e posteriormente confirmadas por exame histopatológico no KMIO, em Bangalore, no período de 2007 a 2010. Mães das respectivas crianças incluídas com RB que concordaram em participar do estudo e assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido para coleta das amostras de esfregaço cervical Controles: blocos arquivados fixados em formalina e embebidos em parafina de olhos não-neoplásicos obtidos de espécimes de autópsia fetal e olhos não-neoplásicos coletados prospectivamente do Banco de Olhos Lions, em Bangalore.
Outros fatores de risco/fatores de exposição (fatores confundidores em potencial) foram incluídos?	Não mencionado
Os autores calcularam o tamanho da amostra?	Não mencionado
Quando foi o período de recrutamento?	3 anos (2007-2010)
Ano do estudo (possíveis mudanças que foram observadas relacionadas à definição dos casos)	2007
Onde foi o local de recrutamento? Qual o país?	Multicêntrico - KMIO, em Bangalore Banco de Olhos Lions, em Bangalore Índia
Foi um estudo retrospectivo ou prospectivo?	Prospectivo

Qual a idade dos casos no momento do diagnóstico? 2 anos (intervalo de 11 meses a 3,5 anos)

(continua)

Seleção dos pacientes (índices demográficos, raça/gênero, etc)	Não menciona sobre raça/gênero e índices demográficos da amostra estudada - Enquanto 19 casos apresentaram doença unilateral, havia dois casos com tumores bilaterais. Dos 21 casos, apenas um caso apresentava história familiar de RB. O casamento consanguíneo dos pais foi observado em seis casos e todas as mulheres tinham idade média de 18 anos (intervalo de 17 a 23 anos) na época do casamento. Leucocoria foi o primeiro sinal da doença em todos os casos.
--	--

Participantes

Tamanho da amostra	21 casos de retinoblastoma esporádicos e 15/21 esfregaços cervicais das mães correspondentes. Controles: 5 blocos arquivados fixados em formalina e embebidos em parafina de olhos não-neoplásicos obtidos de espécimes de autópsia fetal e 15 olhos não-neoplásicos coletados prospectivamente do Banco de Olhos Lions, em Bangalore.
Idade do diagnóstico (média e faixa)	2 anos (intervalo de 11 meses a 3,5 anos)
Sexo (% e proporção)	Não mencionado

Dados de resultados incompletos (viés de atrito)

Qual foi a proporção da amostra que completou o estudo e promoveu dados de resultados?	71,42%
Há diferenças importantes entre as características-chave entre os que completaram e não completaram o estudo?	Não
Dentre a população recrutada, quantos concordaram em participar do estudo?	100% das crianças com RB 71,42% das mães das respectivas crianças com RB

Resultados

Quais são os desfechos analisados?	-Prevalência de HPV, HPV de alto risco, HPV-16, HPV-59, HPV-35 nas biópsias de RB e nas amostras cervicais maternas -Percentual de concordância entre os resultados dos testes de genotipagem de HPV mãe-filho com RB
O desfecho de interesse é adequadamente medido nos participantes do estudo para limitar o viés em potencial?	Sim
Follow-up com tempo adequado	Sim
Variáveis contínuas ou dicotômicas?	Contínuas
Dados perdidos/ausentes – Como foram tratados?	Foram corretamente descritos nos métodos e abordados nas limitações do estudo.
Os avaliadores dos resultados estavam "cegos" para o tipo de exposição?	Não mencionado

Avaliação de confusão

Há fatores de confusão em potencial levados em conta na análise (correção apropriada)?	Sim, por meio do grupo controle.
Os fatores de confusão foram ajustados no mesmo modelo estatístico como potenciais preditores?	A análise estatística não foi possível devido ao pequeno tamanho da amostra

(continua)

Quais métodos foram usados?	- PCR Multiplex para HPV - A genotipagem viral do HPV foi realizada por hibridização com uma matriz de sonda linear contendo 37 tipos de HPV e b-globina (Roche Molecular Systems, Branchburg, EUA).
-----------------------------	---

Análise estatística

Análise foi descrita?	A análise estatística não foi possível devido ao pequeno tamanho da amostra.
Análise promoveu descrição suficiente dos dados?	-
A análise estatística foi apropriada para o design do estudo?	-

Características do estudo

Estudo com financiamento	Não
Multicêntrico / centro único	Multicêntrico: - KMIO, Bangalore. - Lions Eye Bank, Bangalore.
Países	Índia
Critérios de inclusão e de exclusão de participantes	Critérios de inclusão: - Todas as amostras frescas de RB obtidas de crianças que foram clinicamente diagnosticadas como RB e submetidas a enucleação ou exenteração orbitária como um dos procedimentos de tratamento e posteriormente confirmadas por exame histopatológico de 2007 a 2010 no KMIO, em Bangalore. - Mães das crianças incluídas com RB que concordaram em participar do estudo e assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido para coleta das amostras de esfregaço cervical. - Amostras com DNA de boa qualidade para PCR multiplex e análise de genotipagem viral do HPV. Critérios de exclusão: - Todas as amostras frescas de RB obtidas de crianças que foram clinicamente diagnosticadas como RB e submetidas a enucleação ou exenteração orbitária como um dos procedimentos de tratamento e não foram posteriormente confirmadas por exame histopatológico de 2007 a 2010 no KMIO, em Bangalore. - Mães das crianças incluídas com RB que não puderam/não quiseram dar consentimento para coletar as amostras de esfregaço cervical - Amostras com DNA de qualidade baixa/inadequada para PCR multiplex e análise de genotipagem viral do HPV.
Perdas	28,57%
Número participantes analisados	21 casos de retinoblastoma esporádicos e 15/21 esfregaços cervicais das mães correspondentes. Controles: 5 blocos arquivados fixados em formalina e embebidos em parafina de olhos não-neoplásicos obtidos de espécimes de autópsia fetal e 15 olhos não-neoplásicos coletados prospectivamente do Banco de Olhos Lions, em Bangalore

Desfechos Primários	
	Presente no artigo
Prevalência de HPV nas biópsias de RB e nas amostras cervicais maternas	Sim
Prevalência de HPV de alto risco nas biópsias de RB e nas amostras cervicais maternas	Sim

(continua)

Prevalência de HPV-16 nas biópsias de RB e nas amostras cervicais maternas	Sim
Prevalência de HPV-59 nas biópsias de RB e nas amostras cervicais maternas	Sim
Prevalência de HPV-35 nas biópsias de RB e nas amostras cervicais maternas	Sim
Desfechos Secundários	
Percentual de concordância entre os resultados dos testes de genotipagem de HPV mãe-filho com RB	Sim

Extração de dados contínuos

Desfechos	Biópsias de RB		Amostras cervicais maternas	
	Total biópsias RB (N)	de de Biópsias de RB positivas (% do total)	Total de amostras cervicais maternas (N)	Amostras cervicais maternas positivas (% do total)
Prevalência de HPV	21 (100%)	12 (57%)	15 (100%)	6 (40%)
Prevalência de HPV de alto risco	21 (100%)	10 (47,61%)	15 (100%)	6 (40%)
Prevalência de HPV-16	21 (100%)	9 (42,86%)	15 (100%)	4 (26,67%)
Prevalência de HPV-18	21 (100%)	0 (0%)	15 (100%)	1 (6,67%)
Prevalência de HPV-59	21 (100%)	2 (9,52%)	15 (100%)	0 (0%)
Prevalência de HPV-35	21 (100%)	1 (4,76%)	15 (100%)	1 (6,67%)
Percentual de concordância entre os resultados dos testes de genotipagem de HPV mãe-filho com RB	21 (100%)	4 (19,05%)	15 (100%)	4 (26,67%)

Fonte: Elaboração própria dos autores (2023).

Tabela 8 - Genótipos de HPV nas crianças e mães

Table 1: HPV genotypes in children and mothers	
HPV genotype/s in child	HPV genotype/s in mother
16	16
16, 59	16
16, 73	16
16	Negative
68	Negative
16	Negative
82	Negative
16	Negative
16	Negative
35	Negative
16	Not available
16, 59	Negative
Negative	16
Negative	35
Negative	18
Negative	Negative
Negative	Not available
Negative	Not available
Negative	Not available
Negative	Not available
Negative	Not available

HPV – Human papillomavirus

Fonte: Bhuvaneswari *et al.*, 2012.

2) Formulário para extração de dados:

Tabela 9 - Extração de dados - Autores: Shetty *et al.* (2012)

Sobrenome Primeiro Autor	Ano
SHETTY	2012

Autores: Shetty *et al.* (2012)

Elegibilidade			
Estudo transversal do tipo série de casos	Participantes relevantes	Intervenção relevante	Desfecho relevante
Sim	Sim	Sim	Sim
Não prosseguir se alguma resposta for não. Estudo excluído e citar abaixo o motivo de exclusão			

População do estudo / Informações clínicas

População de origem	Casos prospectivos de RB associados aos esfregaços cervicais maternos correspondentes, tratados no TMH, Mumbai, no período de 1990 a 2007.
	Controles: 6 globos oculares não-neoplásicos provenientes do TMH.
Outros fatores de risco/fatores de exposição (fatores confundidores em potencial) foram incluídos?	Sim. A presença/ausência de HPV-16 e 18 foi avaliada em relação aos seguintes fatores de risco: baixo nível socioeconômico, história familiar positiva para RB, consanguinidade, sexo masculino, apresentação bilateral do tumor, além dos seguintes parâmetros histológicos: grau de diferenciação do tumor, estágio avançado do tumor, $\geq 50\%$ de apoptose; $\geq 50\%$ de necrose e $\geq 50\%$ de calcificação nas amostras da RB (Tabela 9).
Os autores calcularam o tamanho da amostra?	Não mencionado
Quando foi o período de recrutamento?	1990 a 2007
Ano do estudo (possíveis mudanças que foram observadas relacionadas à definição dos casos)	1990
Onde foi o local de recrutamento? Qual o país?	Centro único - TMH, em Mumbai, na Índia.
Foi um estudo retrospectivo ou prospectivo?	Retrospectivo e prospectivo. Para nossas análises, focamos somente no estudo prospectivo.
Qual a idade dos casos no momento do diagnóstico?	36 meses (intervalo de 4 meses a 11 anos)
Seleção dos pacientes (índices demográficos, raça/gênero, etc)	61% dos pacientes com RB eram do sexo masculino e 31% do sexo feminino com proporção de 1,5:1. 78% apresentavam doença unilateral. Aproximadamente 75% dos casos pertenciam ao nível socioeconômico mais baixo. Os casos com história familiar de RB, foram negativos para HPV (n = 2). História de casamento consanguíneo foi registrada em três casos (dois foram positivos para HPV-18 e um para HPV-16).

Participantes

Tamanho da amostra	10 casos prospectivos de RB associados a 10 esfregaços cervicais maternos correspondentes. Controles: 10 globos oculares não neoplásicos
Idade (média e faixa)	36 meses (intervalo de 4 meses a 11 anos)
Sexo (% e proporção)	61% dos pacientes eram do sexo masculino e 31% do sexo feminino com proporção de 1,5:1.

Dados de resultados incompletos (viés de atrito)

Qual foi a proporção da amostra que completou o estudo e promoveu dados de resultados?	100%
Há diferenças importantes entre as características-chave entre os que completaram e não completaram o estudo?	-
Dentre a população recrutada, quantos concordaram em participar do estudo?	Artigo não menciona a taxa de recusa de participação no estudo

(continua)

Resultados

Quais são os desfechos analisados?	-Prevalência de HPV, HPV de alto risco, HPV-16, HPV-18 nas biópsias de RB e nas amostras cervicais maternas
	-Percentual de concordância entre os resultados dos testes de genotipagem de HPV mãe-filho com RB
O desfecho de interesse é adequadamente medido nos participantes do estudo para limitar o viés em potencial?	Sim
Follow-up com tempo adequado	Sim
Variáveis contínuas ou dicotômicas?	Contínuas
Dados perdidos/ausentes – Como foram tratados?	Não há perdas descritas no estudo prospectivo
Os avaliadores dos resultados estavam “cegos” para o tipo de exposição?	Sim – “A análise repetida cega do PCR para HPV produziu resultados semelhantes”.

Avaliação de confusão

Há fatores de confusão em potencial levados em conta na análise (correção apropriada)?	Sim, por meio do grupo controle.
Os fatores de confusão foram ajustados no mesmo modelo estatístico como potenciais preditores?	Sim (Tabela 9).
Quais métodos foram usados?	- RT PCR para HPV - Southern Blotting: verificar a especificidade dos resultados do PCR - A genotipagem viral do HPV foi realizada por hibridização in situ: sondas marcadas com biotina para HPV-16 e HPV-18 (oferta do Dr. Mark Evans, Universidade de Vermont, EUA) - Imunohistoquímica: Analisar a expressão das proteínas reguladoras do ciclo celular nos casos pré-quimioterapia

Análise estatística

Análise foi descrita?	Sim - SPSS versão 15.0
Análise promoveu descrição suficiente dos dados?	Sim
A análise estatística foi apropriada para o design do estudo?	Sim

Características do estudo

	Detalhes
Estudo com financiamento	Sim – Patrocinador do financiamento: Projetos internos do Tata Memorial Center nº 87 e 267
Multicêntrico / centro único	Centro único: TMH, em Mumbai.
Países	Índia

(continua)

Critérios de inclusão e de exclusão de participantes	Critérios de inclusão:
	- Todas as amostras de globos oculares enucleados de pacientes com RB de 1990 a 2007 no TMH, Mumbai. - Mães das crianças incluídas com RB que concordaram em participar do estudo e assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido para a coleta do esfregaço cervical
Perdas	Critérios de exclusão:
	- Todas as amostras de globos oculares enucleados, não diagnosticadas com RB de 1990 a 2007 no TMH, Mumbai. - Mães das crianças incluídas com RB que não concordaram em participar do estudo e não assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido para a coleta do esfregaço cervical.
Número participantes analisados	Sem perdas descritas
	10 casos prospectivos de RB associados a 10 esfregaços cervicais maternos correspondentes.
	Controles: 10 globos oculares não neoplásicos

Desfechos Primários	
	Presente no artigo
Prevalência de HPV nas biópsias de RB e nas amostras cervicais maternas	Sim
Prevalência de HPV de alto risco nas biópsias de RB e nas amostras cervicais maternas	Sim
Prevalência de HPV-16 nas biópsias de RB e nas amostras cervicais maternas	Sim
Prevalência de HPV-18 nas biópsias de RB e nas amostras cervicais maternas	Sim
Desfechos Secundários	
Percentual de concordância entre os resultados dos testes de genotipagem de HPV mãe-filho com RB	Sim

Extração de dados contínuos (observar as tabelas 10 e 11 a seguir)

Desfechos	Biópsias de RB		Amostras cervicais maternas	
	Total de biópsias de RB (N)	Biópsias de RB positivas (% do total)	Total de amostras cervicais maternas (N)	Amostras cervicais maternas positivas (% do total)
Prevalência de HPV	10 (100%)	7 (70%)	10 (100%)	7 (70%)
Prevalência de HPV de alto risco	10 (100%)	4 (40%)	10 (100%)	7 (70%)
Prevalência de HPV-16	10 (100%)	4 (40%)	10 (100%)	5 (50%)

(continua)

Prevalência de HPV-18	10 (100%)	4 (40%)	10 (100%)	4 (40%)
Percentual de concordância entre os resultados dos testes de genotipagem de HPV mãe-filho com RB	10 (100%)	7 (70%)	10 (100%)	7 (70%)

Fonte: Elaboração própria dos autores (2023).

Tabela 10 - Status do HPV nos casos prospectivos de retinoblastoma e nos esfregaços cervicais maternos correspondentes

RB case	HPV16	HPV18	Maternal Cx scrapings of	HPV16	HPV18
Patient 1	+	+	Patient 1	-	+
Patient 2	+	+	Patient 2	-	+
Patient 3	-	-	Patient 3	-	-
Patient 4	+	+	Patient 4	+	+
Patient 5	+	+	Patient 5	+	+
Patient 6	-	-	Patient 6	-	-
Patient 7	-	-	Patient 7	+	-
Patient 8	-	-	Patient 8	+	-
Patient 9	-	-	Patient 9	+	-
Patient 10	-	-	Patient 10	-	-

Fonte: Shetty *et al.*, 2012 (Supplemental Table II).

Tabela 11 - Correlação do status do HPV com parâmetros clínicos e histológicos

Parameter	HPV16		Chi square	Significance	HPV18		Chi square	Significance
	Positive (n=26; 39%)	Negative (n=40; 61%)			Positive (n=46; 70%)	Negative (n=20; 30%)		
Low socioeconomic level	79%	74%	0.103	ns	81%	64%	1.23	ns
Family history	0%	5.00%	1.341	ns	0%	10%	4.744	0.089
Consanguinity	17%	10%	0.305	ns	13%	11%	0.022	ns
Male sex	52%	61%	0.451	ns	59%	55%	0.094	ns
Bilateral presentation	40%	26%	1.375	ns	37%	21%	1.448	ns
Differentiation	73%	26%	6.683	0.023	52%	21%	2.847	ns
High stage	57%	54%	0.032	ns	67%	27%	4.906	0.037
>= 50%Apoptosis	64%	61%	1.73	ns	57%	73%	1.413	ns
>= 50%Necrosis	23%	56%	3.802	0.075	37%	60%	1.561	Ns
>= 50%Calcification	22%	0%	4.093	ns	13%	0%	1.589	Ns

Fonte: Shetty *et al.*, 2012 (Supplemental Table III).

APÊNDICE D - ANÁLISE DE RISCO DE VIÉS – Escala Newcastle-Ottawa

Tabela 12 - Análise de risco de viés - Escala Newcastle-Ottawa

Autor, ano	A seleção de caso é adequada?	Há representatividade dos casos?	Os controles foram provenientes da mesma população?	Os controles foram definidos como “sem história de doenças”?	Há comparabilidade de casos e controles baseados no desenho ou na análise?	Houve o mesmo método para detecção de HPV para casos e controles?	Houve um mesmo método de determinação para casos e controles?	Ambos os grupos possuem a mesma taxa de não-resposta?
Shetty <i>et al.</i> , 2012	Definitivamente sim (baixo risco de viés) - validação independente (confirmação histológica)	Definitivamente sim (baixo risco de viés)	Definitivamente sim (baixo risco de viés) – Casos e controles vieram do Tata Memorial Hospital, em Mumbai, na Índia.	Definitivamente sim (baixo risco de viés)	Definitivamente sim (baixo risco de viés)	Definitivamente sim (baixo risco de viés)	Definitivamente sim (baixo risco de viés)	Definitivamente sim (baixo risco de viés)
Bhuvaneshwari <i>et al.</i> , 2012	Definitivamente sim (baixo risco de viés) - validação independente (confirmação histológica)	Definitivamente sim (baixo risco de viés)	Definitivamente sim (baixo risco de viés) – Casos vieram do Kidwai Memorial Institute of Oncology (KMIO) e os controles vieram do Banco de Olhos Lions, instituições de referência em Bangalore, na Índia.	Definitivamente sim (baixo risco de viés)	Definitivamente sim (baixo risco de viés)	Definitivamente sim (baixo risco de viés)	Definitivamente sim (baixo risco de viés)	Definitivamente não (alto risco de viés) Taxa de perdas nas amostras cervicais maternas: 28,5%

Legenda: Definitivamente sim (baixo risco de viés), provavelmente sim (incerto), provavelmente não (incerto), definitivamente não (alto risco de viés).

APÊNDICE E – TABELA DOS ESTUDOS EXCLUÍDOS

Tabela 13 - Tabela dos artigos excluídos da revisão sistemática e meta-análise de estudos observacionais para avaliar a prevalência e genotipagem do HPV em biópsias RB e seus espécimes cervicais maternos correspondentes

Autor, ano	Título	Razões para exclusão
Ryoo <i>et al.</i> , 2013	Human papilloma virus in retinoblastoma tissues from Korean patients.	População do estudo não incluiu as amostras cervicais maternas.
Anand <i>et al.</i> , 2011	Prevalence of high-risk human papillomavirus genotypes in retinoblastoma	População do estudo não incluiu as amostras cervicais maternas
Gillison <i>et al.</i> , 2007	Human retinoblastoma is not caused by known pRb-inactivating human DNA tumor viruses	População do estudo não incluiu as amostras cervicais maternas
(continua)		
Antoneli <i>et al.</i> , 2011	Low prevalence of HPV in Brazilian children with retinoblastoma.	População do estudo não incluiu as amostras cervicais maternas
Montoya-Fuentes <i>et al.</i> , 2003	Identification of DNA sequences and viral proteins of 6 human papillomavirus types in retinoblastoma tissue.	População do estudo não incluiu as amostras cervicais maternas
Orjuela <i>et al.</i> , 2000	Presence of Human Papilloma Virus in Tumor Tissue from Children with Retinoblastoma: An Alternative Mechanism for Tumor Development	População do estudo não incluiu as amostras cervicais maternas
Palazzi <i>et al.</i> , 2003	Detection of oncogenic human papillomavirus in sporadic retinoblastoma	População do estudo não incluiu as amostras cervicais maternas
Mohan <i>et al.</i> , 2009	Detection of human papillomavirus DNA in retinoblastoma samples: a preliminary study	População do estudo não incluiu as amostras cervicais maternas
Shulka <i>et al.</i> , 2009	Infection of human papillomaviruses in cancers of different human organ sites	População do estudo não incluiu as amostras cervicais maternas
Naru <i>et al.</i> , 2016	HPV-16 detected in one-fourth eyes with retinoblastoma: a prospective case-control study from North India	População do estudo não incluiu as amostras cervicais maternas
Jeyaprakash <i>et al.</i> , 2021	Human papillomavirus in retinoblastoma: A tertiary eye care center study from South India	População do estudo não incluiu as amostras cervicais maternas
Saktanasate <i>et al.</i> , 2018	Human Papillomavirus DNA in Paraffin-Embedded Retinoblastoma	População do estudo não incluiu as amostras cervicais maternas
Javanmard <i>et al.</i> , 2019	Molecular evidence of human papillomaviruses in the retinoblastoma tumor	População do estudo não incluiu as amostras cervicais maternas

ANEXO 1 – PRIMEIRO ARTIGO

Full title: Human papillomavirus prevalence and genotyping in retinoblastoma biopsies and their respective maternal cervical specimens: a protocol for a systematic review of non-randomized controlled studies.

Address for correspondence Mariana Botrel Cunha, M.D., Av. Professor Mário Rubens Guimarães Montenegro, s/nº, CEP 18618-687, Botucatu, SP, Brazil (e-mail: mariana.cunha@unesp.br).

Conflicts of Interests

The authors have no conflict of interests to declare.

Abstract

Introduction: Human papillomavirus (HPV) infection may play an important role in the development of retinoblastoma (RB) in children. Studies have suggested that HPV infection may be a potential risk factor for the development of such neoplasia and is present in up to 82.3% of sporadic RB tumor samples. RB is a malignant tumor that can be fatal if not diagnosed early. It occurs in 1 in 15,000–18,000 children, making it an intraocular tumor with the highest incidence in childhood. However, it remains to be determined whether vertical transmission of HPV represents a possible transmission route. Currently, there are no systematic reviews on HPV prevalence and genotyping in children with RB and their corresponding maternal cervical specimens. This review aims to investigate HPV prevalence in children with RB and their maternal cervical specimens. The review also aims to investigate the percentage and level of agreement between the HPV genotyping test results of children with RB and their respective mothers, evaluating the hypothesis that RB tumor can be related to or caused by vertical transmission of HPV.

Methods: The systematic review will be performed according to the Cochrane methodology for observational studies. An overall search strategy will be developed and adapted for Embase, PubMed, Lilacs and CENTRAL databases, with the date of consultation until April 2023. Primary outcomes include HPV prevalence and genotyping in children with RB and their maternal cervical specimens. Secondary outcomes include the percentage and level of agreement between the HPV genotyping test results of the children with RB and their respective mothers. The GRADE system

will be used to determine quality assessment. Metanalysis if plausible, will be conducted by Review Manager 5.3 software.

Conclusion: This systematic review may provide evidence to support the hypothesis that RB is related to or caused by vertical transmission of HPV. A research gap exists between maternal HPV transmission and its possible role in retinoblastoma. The findings of this study may highlight the relevance of HPV vaccination in preventing cervical cancer and HPV-related tumors and help public health care and policies worldwide.

Systematic review registration: PROSPERO CRD42021256625

Keywords: Human Papillomavirus; genotyping; prevalence; retinoblastoma; vertical transmission; systematic review.

Introduction

The human papillomavirus (HPV) is the most prevalent sexually transmitted virus worldwide, representing a significant public health challenge.¹ Over 200 HPV types have been completely sequenced and correlated with benign and malignant neoplasms in the human mucosa and epithelia.² Cervical cancer is the most studied malignant neoplasm associated with HPV infection.³ However, other cancers linked to it can be mentioned, such as penile, anal, breast, head and neck, lung, and retinoblastoma (RB), among others.⁴⁻⁹

RB is a malignant tumor that can be fatal if not diagnosed early. It occurs in one in every 15,000–18,000 children, making it the most common pediatric intraocular neoplasia and the second most common solid tumor in all age groups.¹⁰ More than 80% of RB cases worldwide occur in low- and middle-income countries. Unfortunately, lower life expectancies and cure rates are noted in these areas compared to developed countries. The supposed reason for this is that risk factors are more prevalent, and diagnosis and treatment are delayed in undeveloped countries.¹¹⁻¹⁴ Furthermore, publications from these regions are scarce, and many countries do not publish their data on this cancer.¹⁵ Therefore, studying the risk factors that may contribute to increased RB prevalence in low- and middle-income countries is critical for improving global healthcare planning and policies.

RB protein (pRb) is a proto-oncogenic tumor suppressor protein that is dysfunctional in diverse neoplasms, including RB. In humans, this protein is encoded by the RB1 gene located on chromosome 13; more precisely, 13q14.2.^{16,17} RB molecular development occurs because of the biallelic inactivation of the RB1 tumor suppressor gene. Both inactivating mutations are somatic in noninherited RB and affect most patients, particularly in 60% of all cases.^{18,19} Additionally, pRb is a member of the pocket protein family and contains pockets for the functional binding of other proteins. When an oncogenic protein, such as that produced by cells infected with high-risk HPV, binds to and inactivates pRb, it can result in an HPV-related tumor, as described in the pathogenesis of cervical cancer.^{20,21}

Some studies have demonstrated a relationship between high-risk HPV and noninherited RB, particularly in undeveloped and developing countries. There is an important overlap between the risk factors for HPV infection and the development of sporadic RB. Recent molecular and epidemiological studies corroborate the conclusion that HPV may represent an important risk factor for the development of such neoplasia, being present in up to 82.3% of tumor samples from patients with sporadic RB. Ethnic variations and socioepidemiological factors may contribute to the different frequencies and types of HPV found worldwide.⁹⁻¹⁴

However, there is a research gap regarding whether vertical transmission of HPV represents a possible route of infection. To date, there have been no systematic reviews on HPV prevalence and genotyping in children with sporadic RB and their corresponding maternal cervical specimens, nor the percentage and level of agreement between the HPV genotyping test results of these two samples. Considerable evidence shows that maternal transmission of HPV is possible intrauterine during labor and in the postnatal period.^{22,23} However, few studies have pointed out that 20% and 50% of RB samples have the same HPV viral type as the corresponding maternal cervical smear.^{15,24,25}

This systematic review aims to investigate HPV frequency and genotyping in children with RB and their maternal cervical specimens. In addition, the review will also investigate the percentage and level of agreement between the HPV genotyping test results of these two samples, evaluating the hypothesis that cancer can be related to or caused by vertical transmission of HPV.

Methods

Study inclusion and exclusion criteria

Inclusion criteria. This review will include observational studies on children with RB and their mothers, who were both genotyped for HPV.

Exclusion criteria. The review will exclude (i) studies that did not include the population of interest; (ii) studies that did not assess HPV prevalence and genotyping in RB biopsies and their respective maternal cervical specimens (or inference was not possible); (iii) integrative studies and literature reviews, books, book chapters and reviews, manuals, and technical reports; or (iv) studies that represent a less recent version of the included research.

Outcomes

Primary outcomes. HPV prevalence and genotyping in children with RB and their maternal cervical specimens.

Secondary outcomes. Percentage and level of agreement between HPV genotyping test results of children with RB and their mothers.

Literature search strategies

A model strategy will be created and adapted to search Embase, PubMed, Lilacs and CENTRAL databases to identify studies involving the mentioned inclusion criteria. The gray literature will be consulted through Google Academic and the Catalogue of Theses and Dissertations – CAPES (Coordination for the Improvement of Higher Education Personnel). Information on ongoing clinical trials will be searched using the Brazilian Registry of Clinical Trials-ReBEC (<http://www.ensaiosclinicos.gov.br/>) and the National Institute of Health Clinical Trials website (<http://clinicaltrials.gov>). The final search date will be April 30, 2023. No language restrictions will be imposed. Medical subject headings terms to be used for our searches will be "Gammapapillomavirus," "Papillomavirus infections," "Papillomaviridae," "Retinoblastoma," "Eye Neoplasms," "Infectious Disease

Transmission, Vertical,” and “Vaginal Smears.” The basic search strategy is presented in Appendix 1, with PubMed as an example.

Data collection and analysis

Selection of studies. For each search strategy, two reviewers (M.B.C. and M.R.K.R.) will independently evaluate the studies retrieved from the databases in the following order: title, abstract, and full text. Studies potentially eligible for inclusion in the review will be selected for full reading, and in case of disagreement, a third reviewer (A.L.S.F.) will be consulted. A study selection flowchart will be created in accordance with PRISMA guidelines.²⁶

Data extraction and management. Data extraction for eligible studies will be performed by two reviewers (M.B.C. and M.R.K.R.) who will independently extract data from articles that meet the inclusion criteria. A standardized form will be used to extract the following information: study site, authors, funded study, number of participants, objectives, study population, HPV detection method, outcomes, and follow-up.

Studies that do not fully meet the inclusion criteria will be excluded and tabulated with justification for their exclusion.

Methodological quality, risk of bias, and statistical report

The Newcastle-Ottawa scale will be used to assess the methodological quality of the observational studies selected by two independent raters (M.B.C. and M.R.K.R.). The scale consists of eight items covering three dimensions: 1) patient selection (four items), 2) comparability of the two study arms (two items), and 3) outcome assessment (three items).^{27,28} Review Manager software will be used for all analyses, including meta-analyses if possible.²⁹ However, if meta-analysis is not plausible, the results will be compiled and reported in tabular form. All tests were two-tailed, and the level of statistical significance was set at P -values $< .05$. Discrepancies will be resolved through discussions with a third author (A.L.S.F.).

Quality of evidence

The Grading of Recommendations, Assessment, Development, and Evaluations (GRADE) system will be used to assess the overall strength of the evidence. In observational studies, the GRADE system evaluates the study's limitations, inconsistencies, indirect evidence, inaccuracies, and publication bias and classifies the evidence as high, moderate, low, or very low. Additionally, observational studies can be upgraded based on three criteria: (i) a large magnitude of effect, (ii) a dose-response gradient, and (iii) the presence of plausible confounding factors that would reduce a demonstrated effect or suggest a spurious effect when the results show no effect.^{28,30}

Ethics and dissemination

Ethics approval is not required because no primary data collection will be conducted. We intend to present the findings of this systematic review in a peer-reviewed scientific journal. In addition, we plan to present preliminary and completed outcomes at relevant seminars and congresses.

Discussion

The existing literature emphasizes that HPV may be a potential risk factor for the development of sporadic RB, particularly in low-income countries.⁹⁻¹⁴ However, no systematic review has concomitantly evaluated the prevalence and genotyping of HPV in sporadic RB biopsies and their respective maternal cervical specimens. This systematic review will be the first to analyze HPV prevalence and genotyping in children with RB, their maternal cervical specimens, and the percentage and level of agreement between the HPV genotyping test results of these two samples.

Evidence on whether RB can be associated with or caused by the vertical transmission of HPV can be obtained from the findings of this systematic review. Furthermore, the review will aid the expansion of the current epidemiological data, improve preventive and medical practices, and assessment of the relevance of HPV vaccination.

Supporting information

S1 File. Appendix 1 – Mother Search Strategy.

S2 File. PRISMA-P (Preferred Reporting Items for Systematic review and Meta-Analysis Protocols) 2015 checklist: recommended items to address in a systematic review protocol*

S1. APPENDIX - MOTHER SEARCH STRATEGY

PUBMED

#1 "Gammapapillomavirus"[Mesh] OR Gammapapillomaviruses OR Human papillomavirus 4 OR Human papillomavirus 60

#2 "Papillomavirus infections"[Mesh] OR Papillomavirus Infection OR Human Papillomavirus Infection OR Human Papillomavirus Infections OR Papillomavirus Infection, Human OR Papillomavirus Infections, Human OR HPV Infection OR HPV Infections

#3 "Papillomaviridae"[Mesh] OR Human Papilloma Virus OR Human Papilloma Viruses OR Papilloma Virus, Human OR Papilloma Viruses, Human OR Virus, Human Papilloma OR Viruses, Human Papilloma OR HPV, Human Papillomavirus Viruses OR Human Papillomavirus Viruses OR Human Papillomavirus Virus OR Papillomavirus Virus, Human OR Papillomavirus Viruses, Human OR Virus, Human Papillomavirus OR Viruses, Human Papillomavirus

#4 "Retinoblastoma"[Mesh] OR Retinoblastomas OR Neuroblastoma, Retinal OR Neuroblastomas, Retinal OR Retinal Neuroblastoma OR Retinal Neuroblastomas OR Glioma, Retinal OR Gliomas, Retinal OR Retinal Glioma OR Retinal Gliomas OR Eye Cancer, Retinoblastoma OR Cancer, Retinoblastoma Eye OR Cancers, Retinoblastoma Eye OR Eye Cancers, Retinoblastoma OR Retinoblastoma Eye Cancer OR Retinoblastoma Eye Cancers OR Glioblastoma, Retinal OR Glioblastomas, Retinal OR Retinal Glioblastoma OR Retinal Glioblastomas OR Sporadic Retinoblastoma OR Retinoblastoma, Sporadic OR Retinoblastomas, Sporadic OR Sporadic Retinoblastomas OR Familial Retinoblastoma OR Familial Retinoblastomas OR Retinoblastoma, Familial OR Retinoblastomas, Familial OR

Hereditary Retinoblastoma OR Hereditary Retinoblastomas OR Retinoblastoma, Hereditary OR Retinoblastomas, Hereditary

#5 "Eye Neoplasms"[Mesh] OR Eye Neoplasm OR Neoplasm, Eye OR Neoplasms, Eye OR Cancer of Eye OR Eye Cancers OR Cancer of the Eye OR Eye Cancer OR Cancer, Eye OR Cancers, Eye

#6 "Vaginal Smears"[Mesh] OR Smear, Vaginal OR Smears, Vaginal OR Vaginal Smear OR Cervical Smears OR Cervical Smear OR Smear, Cervical OR Smears, Cervical

#7 "Infectious Disease Transmission, Vertical"[Mesh] OR Pathogen Transmission, Vertical OR Transmission, Vertical Pathogen OR Vertical Pathogen Transmission OR Vertical Transmission of Infectious Disease OR Vertical Infection Transmission OR Vertical Infectious Disease Transmission OR Infection Transmission, Vertical OR Transmission, Vertical Infection OR Maternal-Fetal Infection Transmission OR Maternal Fetal Infection Transmission OR Transmission, Maternal-Fetal Infection OR Infection Transmission, Maternal-Fetal OR Infection Transmission, Maternal Fetal OR Infection Transmission, Fetomaternal OR Mother-to-Child Transmission OR Mother to Child Transmission OR Mother-to-Child Transmissions OR Transmission, Mother-to-Child OR Transmissions, Mother-to-Child OR Fetomaternal Infection Transmission OR Transmission, Fetomaternal Infection

(#1 OR #2 OR #3) AND (#4 OR #5) AND (#6 OR #7)

References

- 1) Chesson HW, Dunne EF, Hariri S, Markowitz LE. The estimated lifetime probability of acquiring human papillomavirus in the United States. *Sex Transm Dis.* 2014;41(11):660-664.
- 2) International Human Papillomavirus (HPV) Reference Center-HPV Reference Clones. Available online: https://www.hpvcenter.se/human_reference_clones/ (accessed on 10 March 2023).
- 3) Szymonowicz KA, Chen J. Biological and clinical aspects of HPV-related cancers. *Cancer Biol Med.* 2020;17(4):864-878.

- 4) Osorio JC, Candia-Escobar F, Corvalán AH, Calaf GM, Aguayo F. High-Risk Human Papillomavirus Infection in Lung Cancer: Mechanisms and Perspectives. *Biology (Basel)*. 2022;11(12):1691.
- 5) Chowdhury S, Darragh TM, Berry-Lawhorn JM, et al. HPV Type Distribution in Benign, High-Grade Squamous Intraepithelial Lesions and Squamous Cell Cancers of the Anus by HIV Status. *Cancers (Basel)*. 2023;15(3):660.
- 6) Sosse SA, Ennaji Y, Tiabi I, El Mzibri M, Laraoui A, Ennaji MM. The involvement of human papillomavirus in breast cancer in general and the different prognostic biomarkers in triple-negative breast cancer. In *Oncogenic Viruses 2023 Jan 1* (pp. 335-357). Academic Press.
- 7) Fernández-Nestosa MJ, Clavero O, Sánchez DF, et al. Penile intraepithelial neoplasia: Distribution of subtypes, HPV genotypes and p16INK4a in 84 international cases. *Hum Pathol*. 2023;131:1-8.
- 8) Vani NV, Madhanagopal R, Swaminathan R, Ganesan TS. Dynamics of oral human papillomavirus infection in healthy population and head and neck cancer. *Cancer Med*. 10.1002/cam4.5686
- 9) Soltani S, Tabibzadeh A, Yousefi P, et al. HPV infections in retinoblastoma: a systematic review. *J. Clin. Lab*. 2021;35(10):e23981.
- 10) Javanmard D, Moein M, Esghaei M, et al. Molecular evidence of human papillomaviruses in the retinoblastoma tumor. *Virusdisease*. 2019;30(3):360-366.
- 11) Chávez-López MG, Zúñiga-García V, Castro-Magdonel BE, et al. E6 Gene and Protein Expression in Human Retinoblastoma Tumors and its Regulation by pRb in HeLa Cells. *Genes (Basel)*. 2020;11(2):119.
- 12) Naru J, Aggarwal R, Mohanty AK, et al. Identification of differentially expressed proteins in retinoblastoma tumors using mass spectrometry-based comparative proteomic approach. *J Proteomics*. 2017;159:77-91.
- 13) Chauhan S, Sen S, Singh N, Sharma A, Chawla B, Kashyap S. Human Papillomavirus Detection Strategies in Retinoblastoma. *Pathol Oncol Res*. 2020;26(2):1341-1344.
- 14) Saktanasate J, Saksiriwutto P, Uprasertkul M, Horthongkham N, Trinavarat A, Atchaneeyasakul L. Human Papillomavirus DNA in Paraffin-Embedded Retinoblastoma. *J Med Assoc Thai*. 2018;101(2):229–231.

- 15) Shetty OA, Naresh KN, Banavali SD, et al. Evidence for the presence of high risk human papillomavirus in retinoblastoma tissue from nonfamilial retinoblastoma in developing countries. *Pediatr Blood Cancer*. 2012;58(2):185-190.
- 16) Xu XL, Singh HP, Wang L, et al. Rb suppresses human cone-precursor-derived retinoblastoma tumours. *Nature*. 2014;514(7522):385-388.
- 17) Mendonça V, Pereira Sena P, Evangelista Dos Santos AC, et al. Diverse mutational spectrum in the 13q14 chromosomal region in a Brazilian cohort of retinoblastoma. *Exp Eye Res*. 2022;224:109211.
- 18) Dimaras H, Corson TW, Cobrinik D, et al. Retinoblastoma. *Nat Rev Dis Primers*. 2015;1:15021.
- 19) Darwich R, Ghazawi FM, Rahme E, et al. Retinoblastoma Incidence Trends in Canada: A National Comprehensive Population-Based Study. *J Pediatr Ophthalmol Strabismus*. 2019;56(2):124-130.
- 20) Lee JO, Russo AA, Pavletich NP. Structure of the retinoblastoma tumour-suppressor pocket domain bound to a peptide from HPV E7. *Nature*. 1998;391(6670):859-865.
- 21) Moody CA, Laimins LA. Human papillomavirus oncoproteins: pathways to transformation. *Nat Rev Cancer*. 2010;10(8):550-560.
- 22) Nyamngee A, Onoriasakpobare FO, Agbede OO, Akanbi II AA, Sulaiman MK. Prenatal maternal prevalence and new-born vertical transmission of Human Papillomavirus (HPV) at the University of Ilorin Teaching Hospital, Ilorin, Nigeria. *Trop. J. Health Sci*. 2022;29(1):1-7.
- 23) Ardekani A, Taherifard E, Mollalo A, et al. Human papillomavirus infection during pregnancy and childhood: a comprehensive review. *Microorganisms*. 2022;10(10):1932.
- 24) Bhuvaneswari A, Pallavi VR, Jayshree RS, Kumar RV. Maternal transmission of human papillomavirus in retinoblastoma: A possible route of transfer. *Indian J Med Paediatr Oncol*. 2012;33(4):210-215.
- 25) Syrjänen S, Puranen M. Human papillomavirus infections in children: the potential role of maternal transmission. *Crit Rev Oral Biol Med*. 2000;11(2):259-274.
- 26) Page MJ, McKenzie JE, Bossuyt PM, et al. The PRISMA 2020 statement: an updated guideline for reporting systematic reviews. *BMJ*. 2021;372:71.

- 27) Wells GA, Shea B, O'Connell D, et al. The Newcastle-Ottawa Scale (NOS) for assessing the quality of nonrandomised studies in meta-analyses. Available from: https://www.ohri.ca/programs/clinical_epidemiology/oxford.asp (accessed on 10 March 2023).
- 28) Moher D, Shamseer L, Clarke M, et al. Preferred reporting items for systematic review and meta-analysis protocols (PRISMA-P) 2015 statement. *Syst Rev.* 2015;4(1):1.
- 29) Review Manager (RevMan) [Computer program]. Version 5.3. Copenhagen: The Nordic Cochrane Centre, The Cochrane Collaboration, 2014.
- 30) Guyatt GH, Oxman AD, Vist GE, et al. GRADE: an emerging consensus on rating quality of evidence and strength of recommendations. *BMJ.* 2008;336(7650):924-926.