Universidade do Algarve

Faculdade de Ciências e Tecnologia

# Vírus do Papiloma Humano (HPV)

## A história clínica e sua epidemiologia

Patrícia Manuela Xavier Carvalho

Dissertação para obtenção do grau de mestre em Ciências Farmacêuticas

Trabalho efetuado sob a orientação:

Prof. Dra. Isabel Pires Sebastião Ramalhinho

Prof. Dra. Ana Luísa De Sousa Coelho

2022

Universidade do Algarve

Faculdade de Ciências e Tecnologia

# Vírus do Papiloma Humano (HPV)

## A história clínica e sua epidemiologia

Patrícia Manuela Xavier Carvalho

Dissertação para obtenção do grau de mestre em Ciências Farmacêuticas

Trabalho efetuado sob a orientação:

Prof. Dra. Isabel Pires Sebastião Ramalhinho

Prof. Dra. Ana Luísa De Sousa Coelho

2022

# Vírus do Papiloma Humano (HPV)

## A história clínica e sua epidemiologia

## Declaração de Autoria do Trabalho

Declaro ser a autora deste trabalho, que é original e inédito. Autores e trabalhos consultados estão devidamente citados no texto e constam da listagem de referências incluída.

Patrícia Manuela Xavier Carvalho

---

(assinatura)

## Direitos de cópia ou Copyright

Copyright: Patrícia Manuela Xavier Carvalho

A Universidade do Algarve tem o direito, perpétuo e sem limites geográficos, de arquivar e publicitar este trabalho através de exemplares impressos reproduzidos em papel ou de forma digital, ou por qualquer outro meio conhecido ou que venha a ser inventado, de o divulgar através de repositórios científicos e de admitir a sua cópia e distribuição com objetivos educacionais ou de investigação, não comerciais, desde que seja dado crédito ao autor e editor.

# Agradecimentos

Gratidão é a palavra imperativa dos meus dias. Poder viver ao lado das pessoas magníficas que me acompanharam durante todo o percurso é um maravilhoso privilégio. Estiveram presentes em todos os momentos os bons e os menos bons, foram a minha fonte de força sem saber, quero dedicar esta monografia aos meus pais e irmão.

Agradeço à minha família e amigos que deixaram tarefas a fazer para mais tarde, de modo a acompanhar-me e auxiliar-me no que fosse preciso, aos que me limparam as lágrimas e me disseram que iria correr tudo bem.

Quero agradecer às professoras orientadoras Prof. Dra. Isabel Pires Sebastião Ramalhinho e Prof. Dra. Ana Luísa de Sousa Coelho pela paciência e cooperação durante toda a realização desta monografia.

Quero também realçar a importância de todos os profissionais incríveis, com que me cruzei ao longo destes anos, quero agradecer a sabedoria que partilharam comigo e ensinamentos que contribuíram muito para o meu crescimento.

# Resumo

O vírus do papiloma humano (HPV) do género *Papillomavirus*, pertence à família *Papillomaviridae.* Este vírus têm uma elevada afinidade para células do epitélio escamoso estratificado, que estão na parte mais inferior da epiderme. Possui a capacidade de se integrar no genoma do hospedeiro, assim quando no núcleo ocorre amplificação do ADN celular, o genoma viral é replicado em conjunto com o genoma celular do hospedeiro.

As manifestações clínicas variam com o tipo de HPV presente na infeção, o tipo de tecido que afeta e da resposta imunitária do hospedeiro.

São vários os tipos de verrugas cutâneas ou lesões de mucosas que podem surgir, estas diferenciam-se pelas suas características especificas, tecidos que afetam bem como o seu genótipo causador. Para que haja o diagnóstico de um cancro invasivo tem de haver múltiplos fatores essenciais para o desenvolvimento de cancro, após a infeção por HPV.

O vírus tem oncoproteínas de extrema importância para que haja carcinogénese, as proteínas são a E5, E6 e E7 com várias funções como, por exemplo, angiogénese, inibição de proteínas responsáveis pela apoptose.

Os métodos de diagnóstico são testes moleculares, que caso estejam positivos são seguidos de uma citologia. Existem vários tratamentos de venda livre disponíveis em farmácias comunitárias para lesões de baixo grau. Em Portugal está disponível a Gardasil® 9 (nonavalente) a qual têm demonstrado elevado grau de proteção.

A infeção por HPV é um fator de risco para o cancro do colo do útero, que ocupa a quarta posição dos mais comuns entre as mulheres, em 2020 registaram-se 604 127 novos casos de cancro em todo o mundo. Em Portugal foram registados 865. Em 2020 registaram-se 341 831 mortes associadas ao cancro do colo do útero a nível global. Em Portugal, no ano de 2020 foram registadas cerca de 379 mortes devido a cancro do colo do útero.

Palavras-chave / keywords: Vírus do papiloma humano, Tratamentos, Diagnóstico; Prevalência; Manifestações, Epidemiologia

# Abstract

Human papilloma virus (HPV) of the genus Papillomavirus, belongs to the Papillomaviridae family. This virus has a high affinity for cells of the stratified squamous epithelium, which are in the lowest part of the epidermis. It can integrate into the host genome, so when cellular DNA amplification occurs in the nucleus, the viral genome is replicated together with the host cell genome.

Clinical manifestations vary with the type of HPV present in the infection, the type of tissue it affects and the host's immune response.

There are several types of skin warts or mucosal lesions that can arise, these are differentiated by their specific characteristics, tissues they affect as well as their causative genotype. To diagnose an invasive cancer, there must be multiple factors essential for the development of cancer after HPV infection.

The virus has extremely important oncoproteins for carcinogenesis, the proteins are E5, E6 and E7 with various functions such as, for example, inducing uncontrolled cell proliferation of undifferentiated cells, angiogenesis, inhibition of proteins responsible for apoptosis.

The diagnostic methods are molecular tests, which if positive is followed by cytology. There are several over-the-counter treatments available from community pharmacies for low-grade injuries. In Portugal, Gardasil® 9 (ninth valent) is available, which has shown a high degree of protection.

HPV infection is a risk factor for cervical cancer, which occupies the fourth position of the most common among women, in 2020 there were 604 127 new cases of cancer worldwide. In Portugal, 865 were registered. In 2020, 341,831 deaths associated with cervical cancer were recorded globally. In Portugal, in 2020, around 379 deaths due to cervical cancer were recorded.



Keywords: Human Papilloma Virus, Treatments, Diagnosis; Prevalence; Manifestations, Epidemiology

# Índice de Abreviaturas

| | |
|---|---|
| AMP | Péptidos Antimicrobianos, do inglês *antimicrobial peptides* |
| ATP | Adenosina Trifosfato |
| ADN | Ácido Desoxirribonucleico |
| ARN | Ácido Ribonucleico |
| E | Gene Early |
| EV | Epidermodisplasia Verruciform |
| HPV | Vírus do Papiloma Humano, do inglês *human papillomavirus* |
| $IRF_3$ | Fator de regulação de interferão, do inglês *interferon regulation factor* |
| INSA | Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge |
| L | Gene Late |
| MHC | Complexo major de histocompatibilidade, do inglês *major histocompatibility complex* |
| NCR | Região Não-Codificante, do inglês *non-coding region* |
| NF-kB | Fator kappaB |
| OMS | Organização Mundial de Saúde |
| PCR | Reação de cadeia da polimerase, do inglês *polymerase chain reaction* |
| pRB | Proteína Retinoblastoma |
| RT-PCR | Transcriptase Reversa - PCR, do inglês *reverse transcriptase – polymerase chain reaction* |
| TFNR | Regulador nuclear semelhante ao fator de transcrição, do inglês *nuclear regulator similar to transcipton factor* |
| TGN | *trans* do complexo de Golgi, do inglês *trans golgi network* |
| TCA | Acido Tricloroacético, do inglês *trichloroacetic acid* |
| vírus-VLP | *Vírus like particle* |

# Índice Geral

1. Introdução ..... 1

2. Vírus do Papiloma Humano ..... 3

2.1. Características e classificação do HPV ..... 3

2.2. Estrutura do genoma do HPV ..... 4

2.3. Ciclo biológico ..... 5

2.4. Transmissão ..... 8

2.5. Manifestações clínicas ..... 9

2.6. Importância das Oncoproteínas ..... 18

2.7. Carcinogénese ..... 19

2.8. Importância do Sistema Imunitário ..... 22

2.9. Diagnóstico ..... 24

2.10. Fatores de Risco ..... 28

2.11. Terapêuticas Farmacológicas ..... 28

2.12. Vacinação ..... 31

3. Epidemiologia do HPV ..... 33

3.1. Incidência dos tipos de HPV de alto risco ..... 35

3.2. Incidência dos tipos de VPH de baixo risco ..... 40

3.3. Incidência de cancros por infeção de HPV em Portugal e no Mundo. ..... 41

3.4. Recuperação de infeção por HPV em Portugal e no Mundo ..... 43

3.5. Mortalidade associada a infeção HPV em Portugal e no Mundo ..... 44

3.6. Impacto da vacinação e rastreios na deteção de HPV ou cancro associados ..... 45

3.7. Evolução das taxas de mortalidade nos últimos anos, em Portugal .....47

4. Considerações finais .....48

5. Referências Bibliográficas .....49

# Índice de Figuras e Gráficos

Figura 2.1. Arvore filogenética que mostra a posição dos HPVs de alto e baixo risco consoante o grupo em que se encaixam. Adaptado de *"Virology: principles and applications de Jonh B. Carter e Venetia A. Saunders"*.....4
Figura 2.2. Genoma viral: alfapapilomavirus.....5
Figura 2.3. Modelo representativo da ligação vírus-recetor e entrada na célula.....8
Figura 2.4. Verruga Vulgar.....9
Figura 2.5. Verruga Plana.....10
Figura 2.6. Verruga Plantar.....10
Figura 2.7. Verruga Pigmentada.....11
Figura 2.8. Verruga Filiforme.....11
Figura 2.9. Epidermodisplasia Verruciforme.....12
Figura 2.10. Doença de Bowen.....13
Figura 2.11. Carcinoma em células escamosas.....13
Figura 2.12. Carcinoma em células basais.....14
Figura 2.13. Condiloma Acuminados.....14
Figura 2.14. Hiperplasia epitelial focal.....15
Figura 2.15. Papulose de Bowen.....15
Figura 2.16. Eritroplasia de Queryat.....16
Figura 2.17. Cancro Vulvar.....16
Figura 2.18. Cancro do Pénis.....17
Figura 2.19. Carcinogénese da infeção cervical. Evolução desde a infeção até ao cancro cervical invasivo.....17
Figura 2.20. Algoritmo de seguimento no rastreio primário de HPV "European Guidelines for Quality Assurance in Cervical Cancer Screening of 2015" .....20

Figura 3.1. Taxas de incidência padronizadas por idade de cancro do colo do útero no mundo (estimativas para 2020) .....34

Figura 3.2. Taxa especifica da incidência do cancro da orofaringe homens vs mulheres (estimativas para 2020) .....40

Gráfico 3.1. Distribuição dos genótipos de alto risco de HPV detetados nas 43 mulheres com infeção por HPV, setembro de 2014 a Dezembro de 2016.....36
Gráfico 3.2. Taxa especifica da incidência do cancro da orofaringe homens vs mulheres (estimativas para 2020) .....37
Gráfico 3.3. Taxas dos genótipos de HPV de alto risco encontrados numa população de mulheres portuguesas entre 2008 e 2009.....39
Gráfico 3.4. Distribuição dos genótipos de baixo risco de HPV detetados nas 43 mulheres com infeção por HPV, setembro de 2014 a Dezembro de 2016.....41
Gráfico 3.5. Proporção de mulheres vacinadas ao abrigo do Plano Nacional de Vacinação e fora, antes e após ter iniciado a vida sexual, entre setembro de 2014-dezembro de 2016.....46

# Índice de Tabelas

Tabela 2.1. Testes de deteção de HPV utilizados.....25

Tabela 3.1. Descrição da população com genótipos de alto risco, do estudo dirigido pela Unidade de Infeções Sexualmente Transmissíveis do Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge (INSA) .....36

Tabela 3.2. Prevalência dos genótipos de alto risco (HPV-16 e HPV-18) nas lesões analisadas.....37

Tabela 3.3. Descrição da população com genótipos de baixo risco, do estudo dirigido pela Unidade de Infeções Sexualmente Transmissíveis do Instituto de Saúde Doutor Ricardo Jorge (INSA) .....41

Tabela 3.4. Incidência de casos de cancro e distribuição entre géneros no Mundo.....41

Tabela 3.5. Mortalidade por cancros e distribuição entre géneros no Mundo.....45

# 1. Introdução

O objetivo desta monografia é fazer uma revisão da literatura sobre o vírus do papiloma humano (HPV), perceber como este se replica, as manifestações clínicas que dele podem surgir, métodos de diagnóstico e tratamentos disponíveis. Quer também perceber-se a distribuição da taxa de infeção por HPV e cancros associados a estas infeções em Portugal e no Mundo.

Para a realização desta monografia foi realizada uma vasta pesquisa no motor de busca PubMed e Web Of Science, usando como palavras-chaves: Human Papilloma Virus; Treatments, Diagnosis, Infection, Manifestations, Cervical Cancer e Epidemiology. Foi feita uma pesquisa complementar nos livros de virologia que existem na biblioteca da Universidade do Algarve.

Para selecionar os artigos utilizados foi feita avaliação dos títulos e resumos dando importância aos que descrevessem o mecanismo de ação viral, manifestações clínicas, estudos que correlacionassem a administração da vacina contra o HPV e a sua proteção contra alguns cancros. Um dos critérios era também que os documentos tinham de ser fornecidos por entidade internacionais/nacionais com relevância e fidedignos como a Organização Mundial de Saúde ou Instituto Doutor Ricardo Jorge.

O vírus do papiloma humano (HPV) do género *Papillomavirus*, pertence à família *Papillomaviridae* e os tipos estão divididos em 5 géneros consoante as diferenças na sequência do ADN. Esses géneros são: Alfa, Beta, Gama, Mu e Nu. O Alfa é o grupo maior podendo afetar qualquer tipo de tecido e mucosas, enquanto os restantes só afetam tecidos cutâneos (1). Estes vírus afetam os queratinócitos, células produtoras de queratina, presentes na pele e mucosas. Já se conhecem mais de 200 vírus do papiloma e foram sequenciados mais de 150 vírus do papiloma humano (1).

As infeções por HPV são maioritariamente assintomáticas e regridem espontaneamente ao fim de 1 ou 2 anos após infeção, por resposta do sistema imunitário do hospedeiro (1). Os queratinócitos param de se dividir à medida que se vão diferenciando, e estes vírus induzem a fase S (replicação) do ciclo celular dos queratinócitos, levando a uma replicação celular descontrolada. Assim uma pequena percentagem destas infeções pode persistir no hospedeiro humano, progredindo para uma lesão pré-maligna e consequentemente pode desenvolver-se cancro (1,2). Nestes casos ocorre um período de latência do vírus que pode levar anos. Desta forma, a infeção pelo vírus do papiloma humano pode estar relacionada tanto com lesões benignas (papilomas) que incluem verrugas a nível da pele da mucosa, como com lesões malignas (carcinomas), onde se incluem vários tipos de cancro, como o caso do cancro orofaríngeo, mas também cancro na mucosa anogenital: cancro do colo do útero, vulvar, vaginal, peniano e anal (1). Nesta monografia, deu-se especial destaque ao cancro do colo do útero em comparação aos outros tipos de cancros.

# 2. Vírus do Papiloma Humano

## 2.1. Características e classificação do HPV

Os HPVs são vírus pequenos de ADN que pertencem à família *Papoviridae,* género *Papillomavirus* (1,2). São vírus não-envelopados, com simetria icosaédrica. Apresentam um genoma de aproximadamente 8.000 pares de base (8 Kb) de ADN de cadeia dupla, circular. O ADN viral está associado a histonas (proteínas com função de compactar ou descompactar o ADN), estas histonas estão envoltas por duas proteínas estruturais, L1 e L2, que regulam a formação da cápside e empacotamento do ADN viral (1,2). Estes vírus apresentam grande afinidade para células epiteliais, levando a lesões na pele e mucosas. A replicação viral ocorre no núcleo das células escamosas epiteliais (1).

A principal diferença entre os serotipos até agora descobertos, reside nas alterações encontradas em cerca de 10 % da sequência genómica dos nucleótidos (3).

Existem 5 géneros: alfapapilomavirus, betapapilomavirus, gamapapilomavirus, mupapilomavirus e nupapilomavirus. Os alfapapilomavirus mostram ter tropismo para o epitélio genital, no entanto já se encontraram infeções em células cutâneas formando as verrugas. Os betapapilomavirus apresentam-se geralmente em indivíduos com epidermodisplasia verruciforme (EV) e por vezes são infeções assintomáticas (1). Os gamapapilomavirus causam lesões cutâneas, os mupapilomavirus manifestam-se por verrugas vulgares e palmares, por fim o nupapilomavirus é o género designado para o HPV-41 (1).

Os HPVs são classificados consoante o seu tropismo para os tecidos e mucosas, e a localização onde são encontrados (1). Assim, há 3 grupos de HPV: mucosos, cutâneos e associados a EV. Os mucosos dividem-se ainda em alto e baixo risco para desenvolver cancro. Esta divisão não é a mais adequada, pois os genótipos que provocam lesões nas mucosas por vezes podem também afetar o tecido cutâneo e vice-versa. Na Figura 2.1. podem observar-se os vários genótipos de HPV distribuídos na arvore filogenética,

consoante a sua capacidade de alto ou baixo risco para desenvolver cancro e os genótipos que estão associados a EV (1,3).

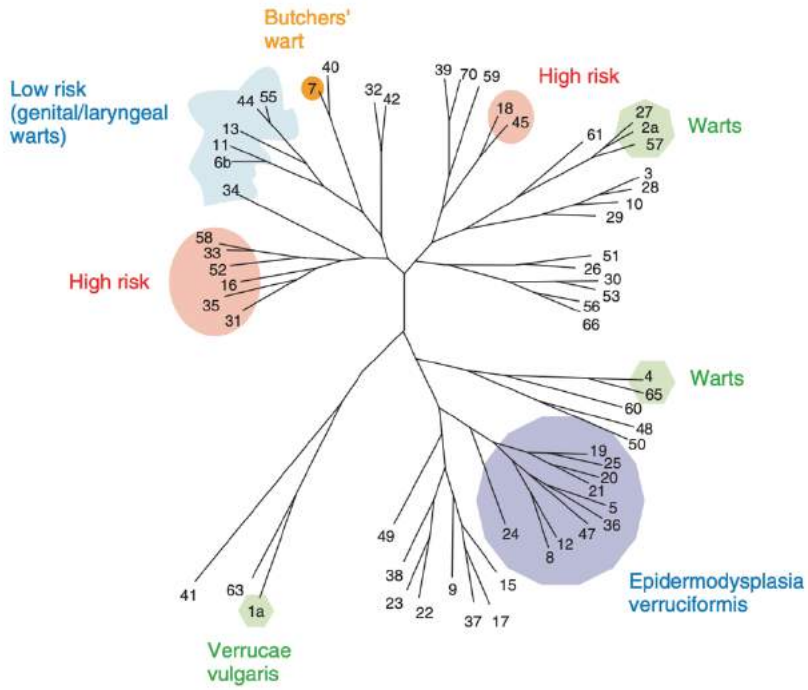


Figura 2.1. Arvore filogenética que mostra a posição dos HPVs de alto e baixo risco consoante o grupo em que se encaixam. Adaptado de "Virology : principles and applications de Jonh B. Carter e Venetia A. Saunders" (3).

## 2.2. Estrutura do genoma do HPV

Os genomas dos HPVs apresentam 3 regiões: Early (E); Late (L); Região não codificante (NCR) (Figura 2.2). Estas regiões apresentam características distintas que permitem a replicação viral e sobrevivência do vírus no hospedeiro (4,5). A região E contém os genes codificantes para os genes E1, E2, E4, E5, E6, E7 e E8. O E1 e o E2 estão envolvidos na replicação e transcrição viral. O E4 leva a maturação e libertação das proteínas virais, facilitando a transmissão viral. O gene E5 apenas se encontra nos alfapapilomavirus (Figura 2.2) e promove o crescimento celular. O gene E6 inibe a resposta imunitária degradando a proteína supressora de tumores p53 que induz a

apoptose celular. O E7 inibe a resposta imunitária por degradação da proteína retinoblastoma (pRb) (4,6). Na região L podem encontrar-se as proteínas L1 e L2 (Figura 2.2). Estas codificam o capsídeo viral, a L1 representa cerca de 80 % do capsídeo e a L2 incorpora o ADN viral dentro do virião (4,6,7).

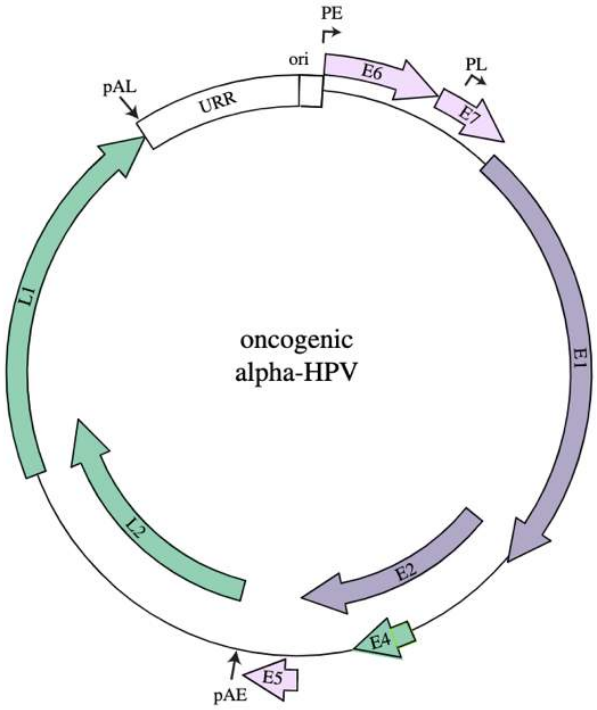


Figura 2.2. Genoma viral: alfapapilomavirus (23).

## 2.3. Ciclo biológico

A infeção por HPV dá-se por contacto direto com tecido infetado. Estes vírus têm uma elevada afinidade para células do epitélio escamoso estratificado, que estão na parte mais inferior da epiderme. O vírus chega até essas células por fissuras ou micro lesões (1,8).

Para que o vírus possa entrar na célula hospedeira têm de ocorrer alterações conformacionais na cápside viral por ação de protéases e ligação a recetores da membrana celular (8). Os proteoglicanos de sulfato de heparina (HSPGs), são glicoproteínas que podem estar na membrana celular ou na matriz extracelular, é onde se ligam as proteínas L1 da cápside viral. Os HSPGs promovem a adesão entre o vírus e a célula, assim o vírus sofre uma alteração conformacional na cápside viral (8,9). Esta conformação consiste na exposição da zona N-terminal da proteína L2 local onde pode ocorrer a clivagem, por ação de enzima como a furina ou *convertase*, após esta alteração a L1 perde afinidade para os HSPGs (Figura. 3), promovendo a transferência para recetores específicos as tetraspaninas (CD63 e CD151) que tem várias funções entre elas funcionar como recetores estão ligados ao citoesqueleto de actina permitindo a internalização do vírus na célula por endocitose (8,10) .

Os viriões são depois transportados por intermédio do sistema endossomal para que ocorra degradação da cápside, as partículas virais são distribuídas em endossomas iniciais/primários que tem como destino a eliminação celular, e em endossomas tardios/secundários (Figura 2.3.) que são corpos multivesiculares, nestes ocorre a descapsidação e ativação das hidrólases (10,11). No processo de descapsidação estão presentes fatores como as chaperonas que são importantes na separação do complexo L2-ADNviral da proteína L1, após a separação o complexo L2-ADN viral segue até chegar ao Complexo de Golgi e depois ao retículo endoplasmático. Durante este processo a proteína L2 tem de se ligar ao complexo proteico endossomal, definido como retrómero, esta ligação é fundamental para o complexo chegar ao sistema *trans* do complexo de Golgi (TGN) (11). O complexo L2-ADN viral é transportado em vesículas pelos microtúbulos até ao TGN, a entrada no TGN dá-se por ação da *gama-secretase* e permite uma diminuição da capacidade de recessão da infeção (10–12).

O complexo L2-ADN viral permanece no TGN até que consiga entrar no núcleo celular. A entrada do complexo L2-ADN viral acontece por rompimento da membrana

nuclear durante a mitose, aí a proteína L2 liga-se aos domínios nucleares 10 (DN10), permitindo a transcrição viral (11).

Ocorre no núcleo amplificação do ADN celular, assim o genoma viral é replicado em conjunto com o genoma celular do hospedeiro (10,11). Deste modo durante a divisão celular as células filhas vão sendo empurradas para a superfície da epiderme e o genoma viral é mantido no núcleo das células basais. As células infetadas começam a diferenciar-se e a promover a amplificação do genoma viral em maior proporção com o propósito de formar mais partículas virais. O HPV aproveita-se assim do processo replicativo do hospedeiro para se poder replicar e criar uma infeção persistente (11).

Nas células filhas que já estão mais à superfície dá-se a amplificação do genoma viral e a encapsidação do virião. Dado que que isto acontece nas células mais superficiais, o vírus garante uma infeção persistente e evasão ao sistema imunitário do hospedeiro (8).

A encapsidação viral ocorre com a saída do virião do núcleo celular e com a expressão da L1 e L2. A proteína E4 promove a maturação dos viriões, isto ocorre nas células diferenciadas por fosforilação oxidativa nas mitocôndrias e logo a seguir a proteína L2 surge para que ocorra o empacotamento do genoma viral. Quando termina a amplificação do genoma as proteínas L1 formam ligações dissulfito entre elas, levando à condensação da cápside e formação de viriões infeciosos muito estáveis (11,12).

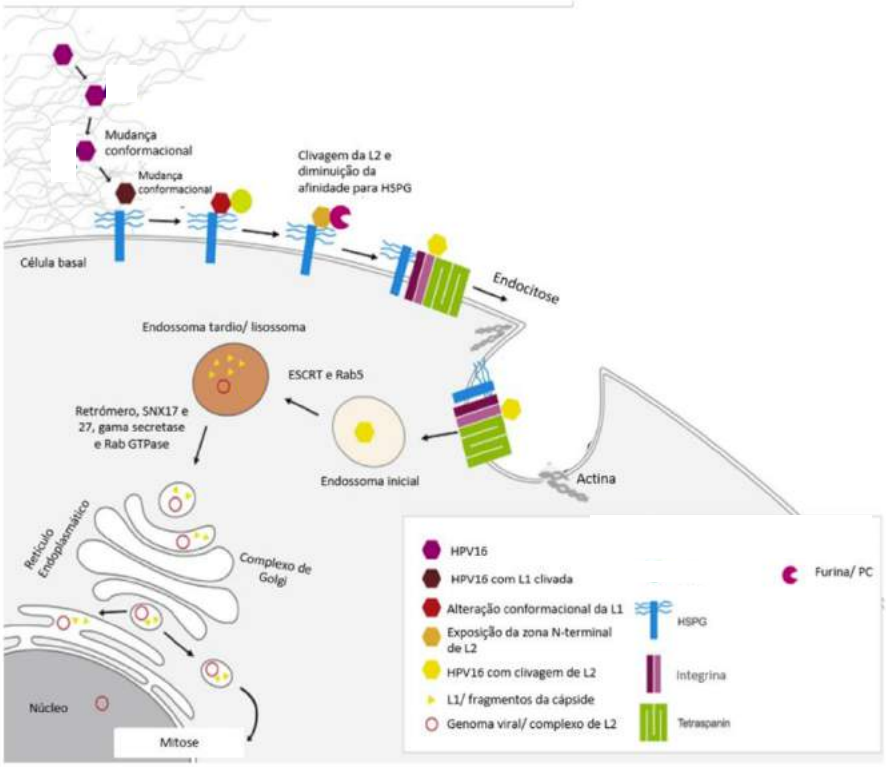


Figura 2.3. Modelo representativo da ligação vírus-recetor e entrada na célula (8).

## 2.4. Transmissão

A transmissão de HPV pode ocorrer por contacto direto quando há contacto com lesões da pele ou mucosas infetadas (pode ocorrer oral ou sexualmente). Podem também ocorrer infeções de forma indireta por instrumentos infetados que fiquem em contacto com micro lesões, traumatismos ou macerações que permitam a entrada viral. Ainda que rara, a transmissão vertical pode ainda ocorrer de mãe para filho, durante o parto normal por contacto direto com células infetadas (6,12).

## 2.5. Manifestações clínicas

As manifestações clínicas variam com o tipo de HPV presente na infeção, o tipo de tecido que afeta e a resposta imunitária do hospedeiro. Por exemplo, os mupapilomavirus provocam verrugas vulgares e plantares, os gamapapilomavirus geralmente provocam verrugas pigmentadas. Já os alfapapilomavirus provocam as verrugas planares, conhecidas popularmente como verrugas dos talhantes, pois as primeiras infeções vieram do contacto com carne infetada aquando da sua preparação para ser consumida (13,14).

São vários os tipos de verrugas cutâneas que podem surgir, estas diferenciam-se pelas suas características especificas, tecidos que afetam bem como o seu genótipo causador (14).

### 2.5.1. Verruga Vulgar

São lesões epidérmicas benignas, apresentam-se como nódulos rugosos, ásperos e coloração esbranquiçada, surgem nas mãos e dedos, podem surgir isoladas ou juntas (13).

Figura 2.4. Verruga Vulgar (13).

### 2.5.2. Verruga Plana

São salientes da cor da pele ou pigmentadas, apresentam uma superfície plana, lisa ou ligeiramente áspera. Estas lesões são provocadas por HPV-3 e HPV-10 (13).

Figura 2.5. Verruga Plana (13).

### 2.5.3. Verruga Plantar

Surgem na zona plantar e geralmente são dolorosas. Comumente provocadas por HPV-1 (13).

Figura 2.6. Verruga Plantar (13).

### 2.5.4. Verruga Pigmentada

Os subtipos HPV-4, HPV-60 e HPV-65 são os causadores destas lesões. Têm cor acinzentada ou castanha-escura. Podem aparecer nos dedos, mãos e pés (13).

Figura 2.7. Verruga Pigmentada (13).

### 2.5.5. Verruga Filiforme

Surgem no rosto e pescoço crescendo de forma perpendicular ou obliqua, caracterizam-se por ser pedunculadas, espiculadas. São provocadas pelo subtipo HPV-2 (13).

Figura 2.8. Verruga Filiforme (13).

### 2.5.6. Epidermodisplasia Verruciforme (EV)

É caracterizada como uma doença autoimune autossómica recessiva. As lesões na pele surgem na infância e são polimórficas. Quando surgem na face e no pescoço são indistinguíveis das planas; no tronco e nos membros, são máculas eritematosas (manchas de cor avermelhada devido a dilatação dos capilares) podem ser descamativas, são muito idênticas à pitiríase versicolor. Caracteriza-se ainda por hiperceratose, hipergranulose e acantose (13,14).

Figura 2.9. Epidermodisplasia Verruciforme (13).

Estas manifestações que podem ser ainda consideradas malignas ou benignas, e distinguidas pelos tecidos que afetam, são várias as lesões cutâneas que podem ser encontradas (13).

### 2.5.7. Doença de Bowen

É considerado um carcinoma espinocelular i*n situ*, acontece essencialmente em zonas expostas ao sol. Assemelha-se a uma placa escamosa idênticas às da psoríase e dermatite. Pode ocorrer sangramento nas lesões (13).

Figura 2.10. Doença de Bowen (13).

### 2.5.8. Carcinoma das células escamosas

A radiação ultravioleta é o causador principal deste tipo de cancro, surgem no rosto, pescoço braços e mãos. A infeção por HPV mostrou-se ser também um fator de risco (13).

Figura 2.11. Carcinoma em células escamosas (13).

### 2.5.9. Carcinoma das células basais

É o carcinoma cutâneo mais comum de se encontrar, principalmente no sexo masculino. Surge na camada mais inferior da epiderme e podem ter o poder de destruição tecidual. O seu aspeto pode ser escamativo, pigmentado e ulcerativo, é frequentemente confundido com psoríase, eczema ou dermatites (13,14).

Figura 2.12. Carcinoma em células basais (13).

As lesões que surgem nas mucosas podem adquirir caracter maligno ou benigno, também estas lesões variam com o genótipo de HPV e outras características. As benignas são os condilomas acuminados, hiperplasia epitelial focal e Papulose de Bowen. As malignas são a Eritroplasia de Queryat, cancro vulvar, do pénis, colo do útero e anal (13,14).

### 2.5.10. Condilomas Acuminados

Conhecidas como verrugas anogenitais, demoram até 8 meses para surgir aquando da infeção por HPV-6, HPV-11, HPV-16 ou HPV-18 (13).

Figura 2.14. Condilomas acuminados (13).

### 2.5.11. Hiperplasia Epitelial Focal

Afeta a mucosa oral e pode ter como origem a infeção por HPV-13 e HPV-32 (13).

Figura 2.15. Hiperplasia epitelial focal (13).

### 2.5.12. Papulose de Bowen

Muito associada ao HPV-16. Localiza-se habitualmente no prepúcio, no caso dos homens, e nas mulheres no clitóris, virilha ou em redor do ânus (13).

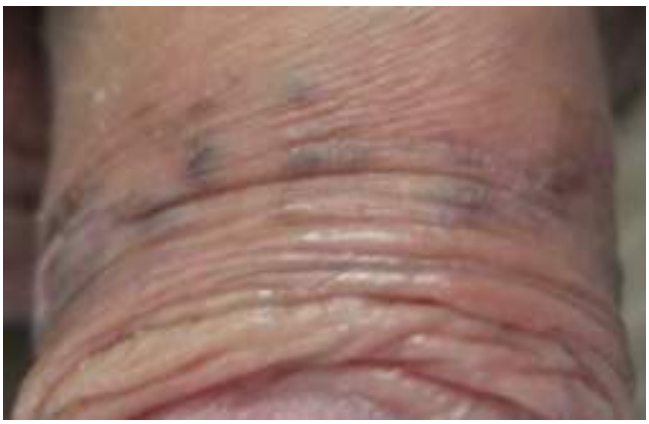

Figura 2.16. Papulose de Bowen (13).

### 2.5.13. Eritroplasia de Queryat

É um carcinoma escamoso *in situ*, podendo evoluir para invasivo. Os subtipos HPV-16 e HPV-18 são fatores que podem influenciar o desenvolvimento da patologia. Mostra-se como placa eritemato-escamosa e bordos irregulares. Surge frequentemente no pénis e uretra, vulva, mucosa oral (13).

Figura 2.17. Eritroplasia de Queryat (13).

### 2.5.14. Cancro Vulvar

É o que apresenta uma relação mais direta com o HPV. O carcinoma escamoso caracteriza-se por prurido de longa duração, fluxo ou exsudato vulvar (13).

Figura 2.18. Cancro Vulvar (13).

### 2.5.15. Cancro do Pénis

São vários os fatores relacionados com este tipo de cancro, os subtipos de HPV-16 e HPV-18 e outras doenças sexualmente transmissíveis são alguns (13,14).

Figura 2.19. Cancro do Pénis (13).

### 2.5.16. Cancro Anal

Os indivíduos queixam-se de hemorragias e dor numa fase inicial. Numa fase mais avançada o doente sente um nódulo. Os subtipos HPV-16, HPV-18 e HPV-33, podem ser a causa bem como outras infeções, por exemplo herpes, vírus da imunodeficiência humana (HIV) (13,14).

### 2.5.17. Cancro do Colo do Útero

São muitos os subtipos envolvidos, sendo os de alto risco os predominantes. As fases iniciais são geralmente assintomáticas ou caracterizadas por hemorragias vaginais e aumento de produção de secreções vaginais (13).

## 2.6. Importância das Oncoproteínas

Para que haja o diagnóstico de um cancro invasivo tem de haver múltiplos fatores essenciais para o desenvolvimento de cancro, após a infeção por HPV (15). Neste caso falamos das oncoproteínas E6 e E7, estas estão presentes nos genótipos de alto risco para desenvolver cancro, com várias funções:

- Induzir a proliferação celular descontrolada de células indiferenciadas;
- Angiogénese;
- Indução da telomerase;
- Evasão ao sistema imunitário;
- Inibição de proteínas responsáveis pela apoptose;
- Transformação celular das células do hospedeiro para que o vírus se possa replicar (15–17).

Após a infeção, a carcinogénese leva algum tempo e as lesões pré-cancerígenas podem regredir espontaneamente, ou evoluir para cancro. Para que o cancro apareça tem de existir uma infeção crónica (18).

A oncoproteína E6 tem como função principal degradar a proteína p53, por sua vez é considerado um gene supressor de tumores. Esta proteína bloqueia o ciclo celular de células com mutações (19). A proteína p53 está diminuída nas células que tem a oncoproteína E6, e esta tem ainda a capacidade de induzir a telomerase, assim não ocorre o encurtamento dos telómeros e há uma proliferação celular descontrolada (15,19,20).

A E7 degrada a proteína retinoblastoma (pRb), que tal como no processo anterior leva a uma proliferação celular descontrolada (21,22). A pRb é a proteína reguladora da transição das células da fase G1 à fase S, assim quando há degradação da proteína p53 por ação da E7. A ciclina que é  um dos fatores responsáveis pela ativação da fase S, ficam livres e não controlam as células normais das modificas. Não havendo controlo na replicação celular, nem reparação do ADN celular, há um crescimento celular descontrolado (22).

A E5 é a menos estudada das oncoproteínas e também a mais pequena. Esta atua como oncoproteína complementar. Esta é hidrofóbica e associa-se ao retículo endoplasmático e à membrana nuclear. A presença da proteína E5 reduz a concentração de leucócitos, diminuindo a resposta imunitária do hospedeiro (17).

## 2.7. Carcinogénese

Os HPVs de alto risco podem criar infeções persistentes e assintomáticas, no entanto podem surgir infeções de neoplasia cervical intraepitelial (CIN) e a expressão viral nestes casos é regulada pela diferenciação das células infetadas (23).

São 5 as fases que se encontram durante a carginogénese:

Fase 1: Nesta primeira fase ocorre a infeção das células da camada basal por HPV, entrada do vírus na célula.

Fase 2 ou CIN 1: Infeção produtiva, nesta fase a expressão genómica é regulada por células infetadas. É considerada uma displasia de baixo grau e afeta 1/3 da camada basal do epitélio.

Fase 3 ou CIN 2: Aqui já existem lesões de alto grau e já afeta 2/3 da camada basal. Há uma desregulação genómica que pode levar ao desenvolvimento de cancro.

Fase 4 ou CIN 3: Nesta fase a displasia já é considerada severa e afeta mais de 2/3 da camada basal. Considera-se nesta fase um cancro *in situ*.

Fase 5: Cancro invasivo e metástases.

Quando estamos na presença de um estádio CIN1, é criada uma infeção persistente que pode ou não evoluir para uma neoplasia. Nesta fase há desregulação da expressão viral levando a alterações no genoma do hospedeiro e integração do genoma viral nos cromossomas (23–25). Os níveis de expressão das oncoproteínas aumentam consoante o grau da neoplasia. Na CIN1 as oncoproteínas tem uma atividade quase nula. Já na CIN2, CIN3 ou passagem a cancro invasivo (Figura 2.19) fase há uma grande desregulação na expressão do genoma viral e atividade da oncoproteínas (23, 30).

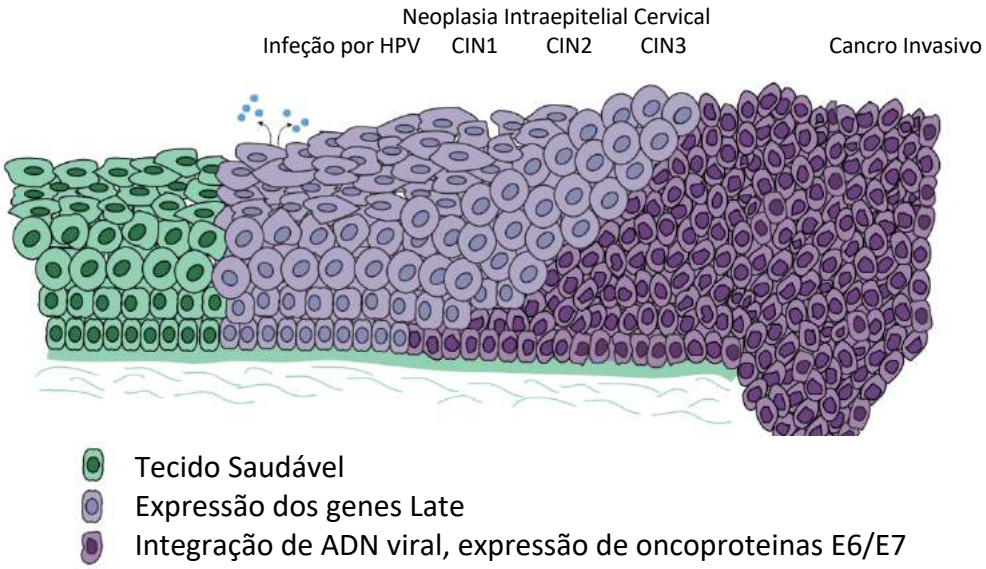


Figura 2.20. Carcinogénese da infeção cervical. Evolução desde a infeção até ao cancro cervical invasivo (23).

Durante a reparação e replicação celular das células do hospedeiro, o HPV aproveita para introduzir o seu material genético, isto consequentemente leva a uma alteração do gene viral E2 que anteriormente inibia a expressão da E6 e E7 (24).

As alterações pré-malignas ou displasia ocorrem nas células escamosas no epitélio cervical. As CIN podem progredir para carcinoma 'in situ' e carcinoma invasivo se não forem tratadas numa fase inicial ou se o HPV for capaz de desativar rapidamente as funções da célula. CIN de baixo risco podem levar até 12 anos a tornar-se um cancro, e as de alto risco 2-3 anos. De forma geral, após a infeção as células hospedeiras ativam os sistemas adaptativos e inatos do sistema imunitário, que são controlados pelo complexo major histocompatibilidade (MHC) classe I e II. O MHC codifica proteínas da superfície celular com grande importância para reconhecer células estranhas ao organismo. Quando o MHC é ativado pela célula após a infeção, é enviado um sinal para chamar as células T que tem a capacidade de eliminar células infetadas (16).

O MCH classe I apresenta uma fração de β-2-microglobulina que pode ser reconhecida pelos recetores CD8+ das células citotóxicas T, enquanto a de classe II apresentam uma fração β-1 e β-2 microglobulina para os recetores CD4+ das células antigénios T *helper.* As proteínas transmembranares codificadas pelo MHC estão à superfície da 21élula (16).

Durante a infeção pelo HPV o vírus é possível ser ativada uma outra forma de ação do sistema imunitário inato do hospedeiro. As células de Langerhans, são células dendríticas abundantes na epiderme, enviam interleucinas que têm função de ativar as células *killer* que se podem ligar ao MHC classe I, com o local ativador ou inibidor, sendo essa ligação que decide a eliminação ou não da célula. Os recetores "*toll- like*" (TLRS) são encontrados na membrana celular ou nas vesículas endossomais aquando da internacionalização do vírus na célula por endocitose (16). Os TLRS reconhecem os componentes virais e ativam a transcrição *do fator regulador nuclear semelhante ao fator de transcrição (TFNR))*, fator kappaB (NF-kB) e o fator regulador de interferão (IRF3) para que sejam produzidas citoquinas (16). Os TRLs também ativam

indiretamente o MCH classe I e II. É reportado que as proteínas virais E5, expressadas pelo HPV de alto risco consegue inibir a MHC classe I evitando assim a sua ligação às células T impedido a eliminação da célula infetada (16). Adicionalmente, as oncoproteínas virais E6 conseguem inibir os TRLs que ativariam o IRF3, representa assim mais uma evasão ao sistema imunitário do hospedeiro (16).

Os recetores *toll-like* (TLRs) são fundamentais no reconhecimento e ativação do sistema imunitário a induzir a produção de citoquinas necessárias para o desenvolvimento efetivo imunitário. Os TLR 3,4,7,8 e a 9, desempenham um papel muito importante na ativação da imunidade antiviral ao desencadearem a produção de interferões (IFNs). Estes TLR 3,4,7,8 e 9 encontram-se nas vesículas endossomais (16).

## 2.8. Importância do Sistema Imunitário

A resposta imunitária contra a infeção por HPV é mediada por anticorpos IgG e IgA, estes anticorpos podem ser encontrados em mulheres com cancro do colo do útero em recessão. Os condilomas em regressão apresentam macrófagos e células T CD4+ ligados ao MHC das células infetadas, a resposta linfoproliferativa destas células para o antigénio E2 favorece a eliminação do HPV. A ligação das células T CD8+ são especificas para degradar as oncoproteínas E6 e E7 presentes nas células infetadas, pelo que podem ser encontradas em casos de cancro do colo do útero em recessão (26,28,29).

A fase latente da infeção, permite ao genoma viral integrar o genoma de células basais podendo levar a reativação em episódios de depressão do sistema imunitário. O HPV também não desencadeia situações inflamatórias, e leva semanas ou meses até surgirem as primeiras lesões, assim percebe-se que o vírus tem a capacidade de se "esconder" do sistema imunitário do hospedeiro (28).

Ainda que esta capacidade de escape permita ao vírus replicar-se, a regressão espontânea acontece por ação de antigénios virais e das células dendríticas, que levam a um aumento dos linfócitos T que por sua vez inibe a expressão viral. No entanto, se o

vírus conseguir não ser detetado pelo sistema imunitário durante muito tempo pode evoluir para um cancro invasivo (26,27).

A pele como barreira primária entre o corpo e o meio externo, é a primeira linha de defesa do nosso organismo contra agente patogénicos, agressões físicas e químicas. A vigilância deste vasto órgão é muito importante para que a sua função seja sempre salvaguardada (28).

Se a sua resposta por parte da pele a fatores externos for insuficiente pode resultar em infeções graves ou cancros invasivos fatais. Por outro lado, se esta resposta for excessiva podem ser desenvolvidas inflamações crónicas e outras patologias autoimunes, pelo que deve ser mantido um equilíbrio (28).

Tal como as células intestinais, os queratinócitos (células diferenciadas do tecido epitelial) podem detetar agentes patogénicos e induzir respostas imunitárias que favoreçam a sua eliminação. Os queratinócitos são mediadores da resposta imunitária, através da produção de péptidos antimicrobianos (AMP's), estes são produzidos em superfícies epiteliais danificadas, durante a ocorrência de infeções a produção de AMP's aumenta consideravelmente através da estimulação dos queratinócitos por parte das citocinas formadas pelas células T, estes AMP's podem ser encontrados em grandes concentrações em doentes diagnosticados com psoríase (26,28).

Nem sempre as infeções por HPV resultam em cancro, e isso deve-se ao sistema imunitário do hospedeiro. O facto dos HPV-16 e HPV-18 terem uma erradicação mais lenta que os restantes genótipos de alto risco, pode ser motivo para o desenvolvimento de cancro em epitélios estratificados, tecidos em constante renovação, no entanto não foram encontradas diferenças nas taxas de eliminação (26,28).

## 2.9. Diagnóstico

A biologia molecular tem avançado muito nos últimos anos, o que facilitou a deteção de infeções por HPV, conhecimento dos seus subtipos e associações a patologias (30,31).

De modo a iniciar o processo aquando detetada uma lesão na pele ou mucosa, é recolhida uma amostra celular dessa lesão, a colheita é feita por esfoliação ou raspagem da lesão, esta segue posteriormente para análise. Os testes de deteção de HPV enquadram-se em três categorias:

- Testes de ADN;
- Teste de ARN;
- Deteção de marcadores celulares

Os testes de ADN, foram a primeira abordagem, a sua associação à tradicional citologia permitiu a deteção de precursores de cancros, como a neoplasia intraepitelial cervical (CIN) 2 e 3, mas teve uma desvantagem que se traduziu na diminuição da especificidade dos testes para a deteção de cancro, uma vez que numa fração aleatória da população analisada a maioria das mulheres pode não apresentar lesões e isso diminui a especificidade deteção de cancro, o que por vezes levou a colposcopias desnecessárias (31,32). Estes podem ainda dividir-se consoante a tecnologia utilizada por exemplo a amplificação de sinal de fragmentos de ADN por quimiluminescência, ou por amplificação do gene alvo e utiliza a tecnologia de PCR (*polymerase chain reaction*) (31).

Já os testes de ARN, por RT-PCR (*reverse transcriptase* PCR), procuram detetar a expressão das oncoproteínas E6 e E7 (tabela 2.1.). Estas oncoproteínas mostraram ter grande importância para travar a resposta imunitária do individuo. A deteção das oncoproteínas permitiu que os testes de ARN apresentassem uma maior sensibilidade quando comparados aos testes de ADN, dado que as oncoproteínas estão presentes em infeções persistentes (31).

Por outro lado, a consiste em diagnosticar doenças associadas ao HPV. O marcador celular é a proteína p 16, esta está aumentada quando a oncoproteína E7 interrompe o ciclo celular, este mecanismo está presente em algumas neoplasias (30).

Tabela 2.1. Teste de deteção de HPV mais utilizados (30).

| ***Teste*** | ***Método*** | ***Subtipos*** |
|---|---|---|
| ***Hybrid Capture 2 (HC2)*** | ADN (hibridação por quimiluminescência e amplificação de sinal de fragmentos) | 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68 |
| ***Cervista HPV HR*** | ADN (amplificação de sinal de fragmentos) | 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68 |
| ***Cobas HPV test*** | ADN (por reação PCR e hibridação do ácido nucleico há amplificação de sinal do alvo) | 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68 |
| ***BD Onclarity HPV assay*** | ADN (PCR e hibridação com sondas que emitem sinal fluorescente) | 16, 18, 45, 31, 33, 35, 39, 51, 52, 56, 58, 59, 66 e 68 |
| ***Aptima HPV assay*** | Deteção de E6/E7 ARNm por RT-PCR | 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68 |

Sabe-se assim que os testes de diagnóstico molecular são mais sensíveis ainda que menos específicos do que a citologia cervical por esfregaço de Papanicolau, para deteção de lesões pré-malignas principalmente em jovens (31).

Segundo o que nos indicam as *guidelines europeias*, (Figura. 19) quando a mulher obtém um resultado positivo num rastreio por testes de diagnóstico molecular, é realizada uma citologia de triagem, que nos indicará a presença de lesões cervicais, esta citologia diminui a possibilidade de falsos-positivos, caso a citologia esteja positiva segue-se a colposcopia, é um exame onde decorre observação do colo do útero, vulva e vagina, que nos permite detetar lesões precursoras de cancro do colo do útero (31). Caso a citologia de triagem venha com resultado negativo há vários caminhos a seguir (Figura 2.20), sendo que há a probabilidade de se realizar novo teste molecular de diagnóstico dentro de 12 meses e nova citologia entre 6-12 meses, caso seja novamente negativo a mulher mantém o plano de rastreio do qual disponha no seu país (31,32).

Os planos de rastreio dependem de vários fatores como os fundos disponíveis em cada país, infraestruturas médicas e perceção de risco e tolerância da sociedade. Países como a Dinamarca, Estónia, Finlândia, Letónia, Polónia, Holanda e Reino Unido já dispõem de testes de diagnóstico molecular primários para deteção de infeção por HPV. Em Portugal e Espanha o rastreio depende das zonas do país em mulheres com idades entre os 25-59 anos, usam o método de co-teste que combina a citologia e um teste de diagnóstico molecular (16,31,32).

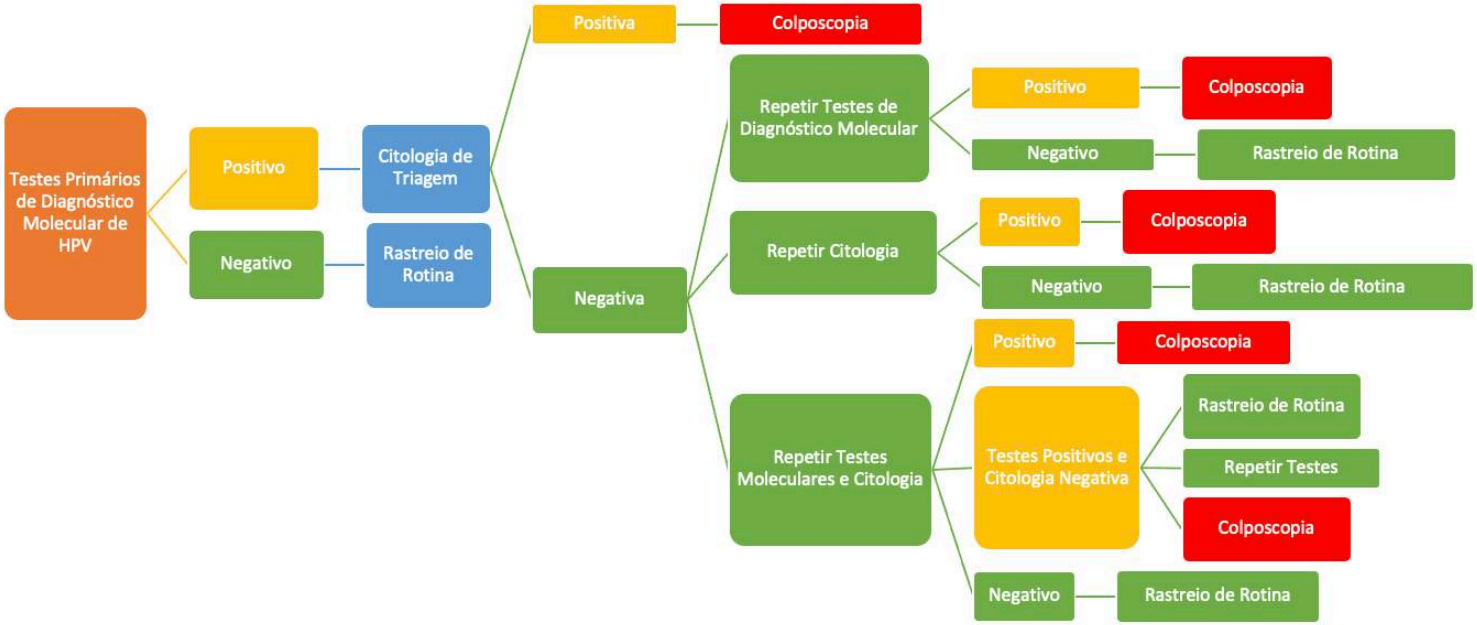


Figura 2.21. Algoritmo de seguimento de rastreio primário de HPV "European Guidelines for Quality Assurance in Cervical Cancer Screening of 2015". (31)

## 2.10. Fatores de Risco

A infeção por HPV é a causa principal de cancro do colo-do-útero, entre outros. No entanto, existem múltiplos co-fatores, individuais a cada pessoa, para que ocorra carcinogénese após uma infeção por HPV (33–35). Entre estes podemos encontrar:

- Predisposição genética;
- Mudança regular de parceiros sexuais;
- Sexo desprovido de método barreira – ainda que este método não seja totalmente seguro, pois basta haver contacto com a pele infetada que já possa haver infeção;
- Início precoce da vida sexual;
- Consumo de tabaco e álcool;
- Casos associados a sistemas imunitários deprimidos;
- Infeção por genótipos 16 e 18, ou infeções mistas com outros tipos de HPV de alto risco (33);
- Outras doenças sexualmente transmissíveis, por exemplo *Herpex Simplex* tipo 2 e *Chlamydia trachomatis* (33,34).

## 2.11. Terapêuticas Farmacológicas

Quanto ao tratamento, até ao momento de escrever a presente monografia, não existem tratamentos curativos para as infeções por HPV, no entanto já existem inúmeros tratamentos para as lesões provocadas pelo vírus. Começam agora a surgir novos estudos onde se apresentam substâncias imunomodeladoras que conferem ao sistema imunitário uma maior eficácia na eliminação do vírus. Os tratamentos disponíveis podem ser tópicos ou sistémicos (27,28,36).

### 2.11.1. Tratamentos Locais

Podem ser agentes químicos como a podofilotoxina e a podofilina, sendo a primeira a sustância ativa extraída da planta *Podophyllum emodi*. Esta substância inibe

o ciclo celular induzindo necrose local, a terapêutica com esta substância deve ser usada 3 dias por semana e não dever exceder as 4 semanas de utilização, não deve haver contacto entre a substância e o tecido saudável. A podofilina de momento não é recomendada pela sua elevada toxicidade e possíveis efeitos teratogénicos (37).

O 5-fluorouracilo (5-FU) é outro exemplo dos agentes químicos usados mais antigos, devido a sua elevada toxicidade, este pode ser usado topicamente. O ácido tricloroacético (TCA) é outro exemplo de agente químico, é uma solução que queima, cauteriza e provoca necrose da massa que forma a lesão (37). O *Coriolus Versicolor* é comercializado na forma de gel vaginal, combinado com ácido hialurónico, centelha asiática, aloé vera entre outras substâncias que permitem a regeneração dos tecidos e equilíbrio da microbiota vaginal (37,38).

Mas existe ainda outra modalidade de terapêutica tópica, recorrendo a agentes físicos. A crioterapia é um dos casos, esta consiste na congelação do tecido anormal, com éter dimetilo por exemplo, este método mostrou ter mais eficácia que o TCA (37,39). Também já se pode encontrar técnicas que usam a fotossensibilidade de substâncias como o 5-FU e de seguida faz-se incidir uma fonte de luz e oxigénio, esta técnica pode ser usada ainda em outras queratoses actínicas como acne, psoríase, etc (37).

Por fim as lesões podem ser removidas cirurgicamente (37,39).

### 2.11.2. Tratamentos Sistémicos

O interferão (IFN) é uma proteína produzida pelos leucócitos, no entanto a que vamos falar neste tópico é a proteína produzida por tecnologia de ADN recombinante, estas têm com propriedades imunomodeladoras, antiproliferativas e antivirais. Pode ser administrado por via intra-lesional ou intramuscular, sendo a intra-lesional a que se mostrou mais eficaz, mais dolorosa. Os efeitos adversos são cefaleias, náuseas, vómitos, mialgias, etc (37,39).

Por via oral podemos ainda encontrar o *Coriolus Versicolor* que tem atividade imunomodeladora, capaz de induzir resistência contra os vários tipos de HPV. Esta substância tem vindo a ser estudada cada vez mais, e a sua eficácia comprovada.

Foram feitos vários estudos e pesquisas neste sentido, no entanto foram escolhidos dois estudos, por serem feitos em parceria e um deles ter sido realizado em Portugal: um estudo no IPO de Coimbra e um outro no Serviço de Ginecologia do Hospital Universitário de Sofia, na Bulgária, onde se avaliou a eficácia do *Coriolus Versicolor* em casos positivos, com lesões de HPV comparativamente a um grupo controlo com as mesmas características, mas tratado com placebo (40).

Na Bulgária, em Sofia 88,9% dos casos positivos de HPV passaram a negativos após 6 meses da toma de *Coriolus Versicolor,* 93% dos casos que tomaram a suplementação após cirurgia também obtiveram resultados negativos para HPV após 6 meses. Em Coimbra 90% das mulheres que participaram no estudo passaram a ter resultados negativos para infeção de HPV 1 ano após a toma de *Coriolus Versicolor.* Por outro lado, o grupo controlo, que não tomou o suplemento, mostro que 93% das mulheres continuavam infetadas com HPV. Nestes estudos obtiveram-se resultados bastante satisfatórios, sendo que ambos mostraram eficácia acima dos 80% quanto a eliminação do vírus (38,40,41).

Adjuvante ao tratamento com *Coriolus Versicolor* já é possível usar micro-imunoterapia com um produto homeopático designado por 2LPAPI, *Labo'life, Biotech,* este pode ser encomendado ao laboratório e ser comercializado em Portugal. O estudo está na fase IV, é um estudo randomizado, controlado por placebo, duplo cego, nas infeções genitais por HPV. Os medicamentos homeopáticos obtêm-se com a quantidade mínima de substâncias ativas. No caso do 2L PAPI usaram-se interleucinas 1 e 2, ciclosporina A, interferões α, ácido ribonucleico (ARN) e ácidos nucleicos específicos HLAII e PAPI que sofreram várias diluições consecutivas que provocaram libertação de energia. O 2LPAPI é considerado um regulador imunológico no tratamento de infeções por HPV, nos estudos mostrou ter efeitos benéficos na depuração viral (42).

### 2.11.3. Tratamentos em Desenvolvimento

A Organização Mundial da Saúde (OMS) tem equipas especializadas a trabalhar em vacinas terapêuticas, já estão várias em ensaios clínicos de fase III, o objetivo de aumentar a capacidade de adaptação das células T, ou seja induzir uma resposta imune direcionada às oncoproteínas E6 e E7, tentando ativar a imunidade celular contra estas oncoproteínas. Se diminuirmos a quantidade E6 e E7 conseguimos retardar a progressão de um cancro. Já se põe novos alvos biológicos para o desenvolvimento de novas vacinas, pois a E1 e E2 também são de extrema importância para a replicação viral (43).

O artesunato é um análogo da artemisinina, usualmente conhecido como tratamento para a malária com forte atividade antineoplásica. Já decorrem ensaios de fase I para a aplicação tópica de artesunato em lesões pré-cancerígenas (43).

À medida que o rastreio e a deteção precoce de lesões aumentam, aumenta a necessidade de tratamentos eficazes e acessíveis nestas (43).

## 2.12. Vacinação

No ano de 2009 foram 27 os países que implementaram o protocolo de vacinação contra infeções por HPV (44).

As vacinas contra o HPV tem mostrado grande eficácia na proteção contra infeções por HPV (45). Estão de momento disponíveis três vacinas, em Portugal, todas com partículas semelhantes ao vírus (VLP, *virus like particles*) produzidas por tecnologia recombinante através de clonagem da capside viral de vários tipos de HPV (45). A primeira vacina a surgir foi a Cervarix (bivalente, protege contra infeção dos genótipos HPV-16 e HPV-18), seguida da Gardasil (quadrivalente), mas já nenhuma delas é comercializada em Portugal. De momento está disponível a Gardasil 9 (nonavalente). A Cervarix e a Gardasil deixaram de ser comercializadas após aprovação da Gardasil 9, que a semelhança das outras está indicada na imunização ativa de indivíduos com mais de 9 anos, para prevenir doenças associadas ao HPV, mas abrange um maior número de genótipos virais. O regime de posologia para idades 9-15 anos é um esquema de 2 doses,

em que a segunda dose deve ser administrada 5-13 meses após a primeira dose, caso contrário será necessário uma terceira dose da vacina. A partir dos 15 anos de idade a Gardasil 9 deve ser administrada num esquema de 3 doses, em que a segunda deve ser administrada pelo menos um mês após a primeira, e a terceira 3 meses após a segunda, há um período máximo de 1 ano para administração das 3 doses (44,46).

A Gardasil 9 apenas tem o objetivo de ser usada profilaticamente, esta não apresenta qualquer efeito nas infeções ativas por HPV, não tendo assim qualquer efeito terapêutico. O alvo principal desta vacinação são os adolescentes que ainda não tenham iniciado a sua vida sexual. Tem de haver uma aceitação da vacina por parte dos adolescentes e pais, dai ser de extrema importância a passagem de informação fidedigna sobre os riscos da infeção por HPV, seguranças, eficácia e custos associados à vacina (43,47). No resumo de características da vacina Gardasil podem ser encontrados alguns ensaios que corroboram a eficácia da vacina, a Austrália iniciou a administração da Gardasil quadrivalente em 2007 em mulheres com idade inferiores a 27 anos, e chegou-se a conclusão de que a vacina teve um impacto de 25,1% na redução de condilomas genitais (45,48).

É importante também iniciar a administração das vacinas em homens, dado que as taxas de lesões ano genitais por infeções de HPV, em homens ronda os 65% (48). Esta vacinação no sexo masculino prevê a diminuição de novas infeções por HPV bem como lesões associadas. A Gardasil quadrivalente mostrou ter uma eficácia de prevenção de 89,4% dos condilomas acuminados no sexo masculino (48).

# 3. Epidemiologia do HPV

Após a infeção por HPV, o portador pode ser assintomático, isto acontece quando o sistema imunitário consegue eliminar o vírus, podem ocorrer manifestações clínicas como verrugas ou lesões benignas, no entanto esta infeção pode ocorrer de modo persistente tendo a capacidade de evoluir para cancro. O facto de haver infeções assintomáticas leva a que não haja muitos dados acerca do número total de infeções, pois muitas vezes não são detetadas. É quando as infeções começam a evoluir para lesões cutâneas ou das mucosas, que são sinalizadas, ainda assim em Portugal no ano de 2015 foram detetados 5,6% casos de infeção por HPV em 425 citologias normais, O maior número de casos desta infeção ocorre em jovens na faixa etária dos 25-30 anos (49).

A infeção por HPV pode estar na origem da maior parte dos cancros do colo do útero. A infeção por genótipos de HPV de alto risco na presença de fatores de risco que promovem a persistência da infeção precede o desenvolvimento de lesões pré-cancerosas do colo do útero(50).

O cancro do colo do útero ocupa a quarta posição dos mais comuns entre as mulheres. Em 2020 registaram-se 604 127 novos casos de cancros e 341 831 mortes em todo o mundo (48).

Na figura 3.1 é possível ver o modo como a incidência de cancro afeta de forma diferente os vários continentes, sendo o africano aquele que tem um maior peso nas percentagens de cancro o útero, isto deve-se a ser um país em desenvolvimento, cujos métodos de rastreio de infeção por HPV e vacinação ficam muito longe dos objetivos da OMS (48).

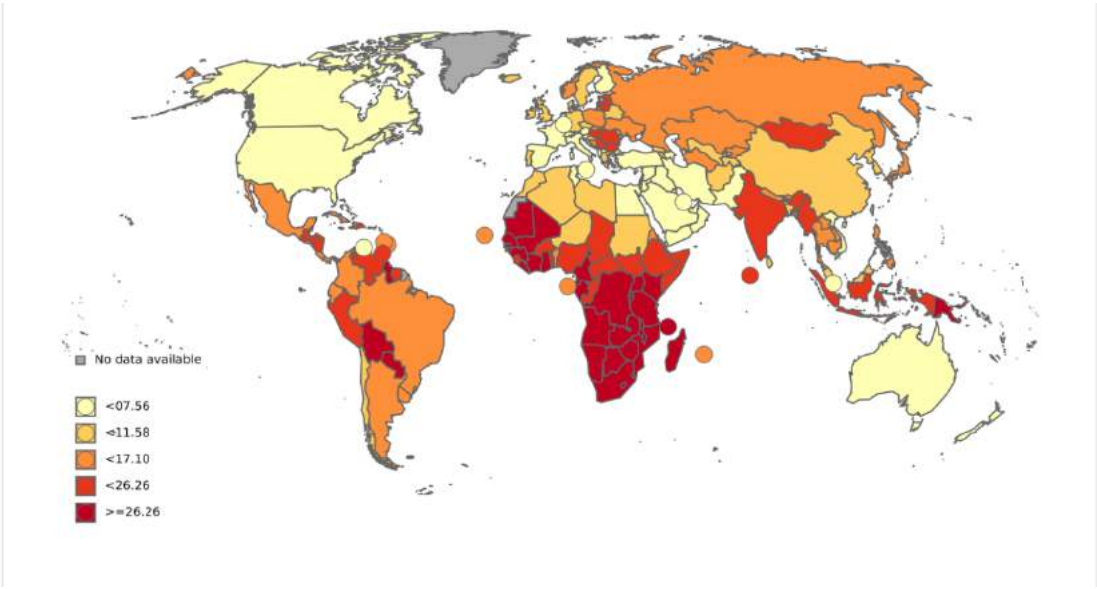


Figura 3.1. Taxas de incidência padronizadas por idade de cancro do colo do útero no mundo (estimativas para 2020) (48).

Cerca de 4,73 milhões de mulheres, com mais de 15 anos em Portugal, correm risco de desenvolver cancro do colo do útero (49).

De setembro de 2014 a dezembro de 2016 realizou-se um estudo em Portugal dirigido pela Unidade de Infeções Sexualmente Transmissíveis do Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge (INSA). Foi um estudo observacional transversal onde se analisaram amostras de mulheres jovens vacinadas que já tinham iniciado a vida sexual com objetivo de observar a eficácia da vacina (51).

A identificação de HPV foi efetuada pela técnica microarrays, esta amplifica um fragmento da região L1 levando à identificação de 35 genótipos (HPV-6, 11, 16, 18, 26, 31, 33, 35, 39, 40, 42, 43,44, 45, 51, 52, 53, 54, 56, 58, 59, 61, 62, 66, 68, 70, 71, 72, 73, 81, 82, 83, 84, 85 e 89) (51).

Foram estudadas 152 mulheres com esquema vacinal completo e vida sexual ativa, com idades entre 14-30 anos (51).

Foram identificados neste estudo um total de 21 genótipos, detetaram-se infeções mistas ou simples levando a uma soma de 66 tipos de HPV (51).

Os estudos CLEOPATRE (*Cervical Lesions Observed by Papillomavirus Types – a Research in Europe*) tem como objetivo dar uma melhor perceção da epidemiologia da infeção por HPV em toda a Europa. A amostra populacional foi colhida de clínicas de ginecologia, foi possível estimar a prevalência geral por (18-64 anos) e o genótipo responsável pela infeção, na população em Portugal (52).

Ao todo, 2 326 mulheres foram incluídas neste estudo. As 2 210 (95%) das mulheres nasceram em Portugal; 518 (22,3%) eram fumadoras e o tabagismo foi associado a um risco aumentado de infeção por HPV, com OR de 2,18; 2 072 (89,1%) confirmaram o uso de métodos contracetivos; 1333 (57,3%) mulheres afirmaram ter apenas um parceiro sexual na vida; 2 246 (96,6%) não tiveram DST nos últimos 12 meses e apresentaram menor risco de infeção pelo HPV o OR foi de 0,31; 2234 (96,0%) não tinham história de neoplasia intra epitelial cervical; e 2277 (97,9%) não eram imunocomprometidos (52).

## 3.1. Incidência dos tipos de HPV de alto risco

### a) entre a população feminina em Portugal e no Mundo

Dos 43 casos positivos para HPV, 25 mulheres (58%) tinham infeção por HPV de alto risco, em que duas destas 25 mulheres tinham genótipo 16 (tabela 3.1.). Foram identificados 18 casos com genótipos possíveis de alto risco. O mais frequente foi o HPV-51, alto risco, seguido do HPV-53 e HPV-66 (gráfico 3.1). Das 43 mulheres infetadas 14 apresentaram infeções mistas e quase todas associadas a genótipos de HPV de alto risco (51).

Tabela 3.1. Descrição da população com genótipos de alto risco, do estudo dirigido pela Unidade de Infeções Sexualmente Transmissíveis do Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge (INSA).

| Nr total da população estudada | Nr total de infeções detetadas | Genótipos de alto risco | Genótipos de baixo risco |
|---|---|---|---|
| **152** | 43 (28,3%) | 25 | 18 |

No gráfico 3.1. estão representadas as percentagens e a sua distribuição pelos vários genótipos encontrados, podendo afirmar-se que o HPV-51 é o mais prevalente. Por conhecimento já anteriormente adquirido sabe-se que este genótipo não está presente nas vacinas administradas, este facto corrobora a eficácia da vacina, dado que o HPV-16 está em baixa percentagem e o HPV-18 não foi detetado nas 43 mulheres infetadas (51).

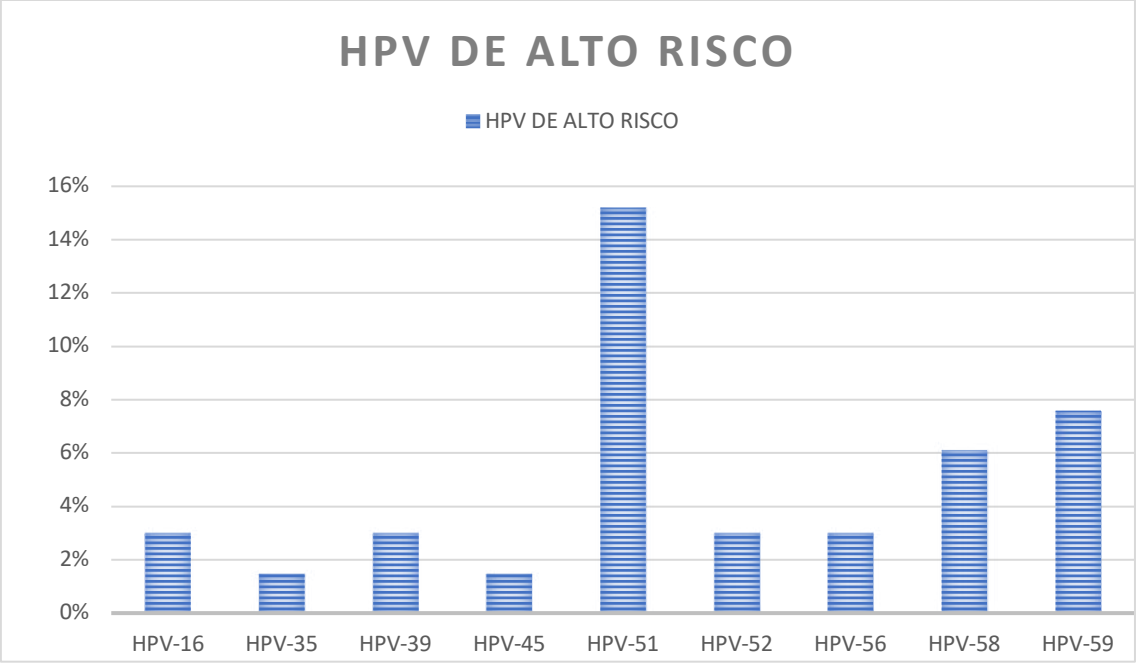


Gráfico 3.1. Distribuição dos genótipos de alto risco de HPV detetados nas 43 mulheres* com infeção por HPV, setembro de 2014 a Dezembro de 2016 (51).

Os genótipos de possível alto risco HPV-53 e HPV-66 são os que se fazem notar em maior percentagem (gráfico 3.2) (51).

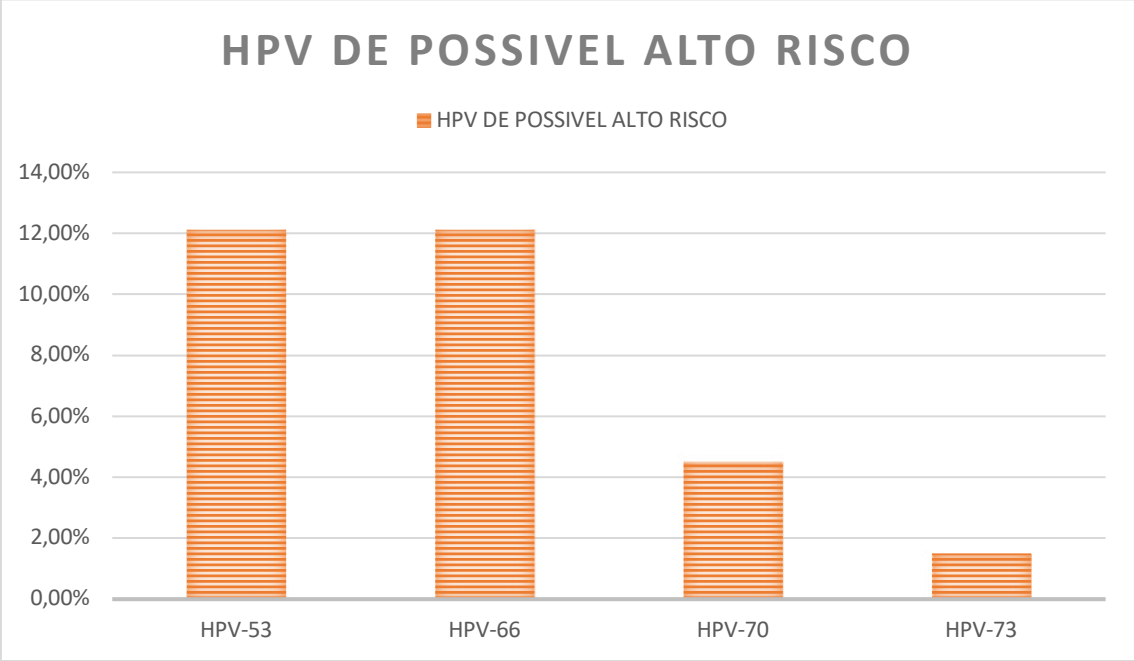


Gráfico 3.2. Distribuição dos genótipos de possível alto risco de HPV detetados nas 43 mulheres* com infeção por HPV, setembro de 2014 a Dezembro de 2016 (51).

Como já sabemos o cancro do colo do útero está fortemente relacionado com os genótipos HPV-16 e HPV-18 e estes estão presentes em cerca de 81,5% (tabela 3.2) destes cancros (48). A associação destes genótipos de alto risco a lesões de alto grau também ultrapassa os 50%, é de extrema importância atuar contra a transmissão destes genótipos (48).

Tabela 3.2. Prevalência dos genótipos de alto risco (HPV-16 e HPV18) nas lesões analisadas (48).

| | **Número de Testes** | **Prevalência de HPV 16/18 (%)** |
|---|---|---|
| **Citologia Normal** | 425 | 5,6% |
| **Lesões de Baixo Grau** | 444 | 45,3% |
| **Lesões de Alto Grau** | 875 | 56,3% |
| **Cancro do Colo do Útero** | 168 | 81,5% |

O estudo Cleopatre decorreu entre fevereiro de 2008 e março de 2009, a prevalência geral de HPV na população estudada era de 19,4%, um total de 451 mulheres. A prevalência varia consoante as faixas etárias, destas 451 mulheres infetadas 345 (76,5%) tiverem testes positivos para HPVs de alto risco. Foram 165 mulheres que apresentaram infeção múltipla por vários genótipos, isto dá uma percentagem de 7,1% de prevalência sobre a população total estudada, e 36,6% de prevalência sobre as mulheres infetadas com HPV da amostra (50).

Em 2018 decorreu um outro estudo que tinha como objetivo observar a distribuição dos genótipos de HPV de alto risco pelas várias regiões de Portugal. Estimou-se um total de 750 novos casos e 350 óbitos, com uma incidência e mortalidade de 8,9 e 2,8 por 100 000 mulheres, respetivamente (52).

Este estudo, englobou um total de 105 458 mulheres, das quais 465 (0,44%) tiveram uma amostragem insuficiente. Dos 104 993 casos incluídos, 48 casos foram inconclusivos (0,04%) e 106 65 (10,2%) foram HPV positivos, foram detetadas infecções múltiplas 25,7% que se traduz em 2736 mulheres (52).

As infeções mais comuns são por HPV-16(17,5%), HPV-39 (16,7%)( , HPV-31( 15%), HPV-68(13,2%). Menos comuns são as infeções por HPV-52(10,7%) e HPV-51 (10,6%) (gráfico 3.3) (52).

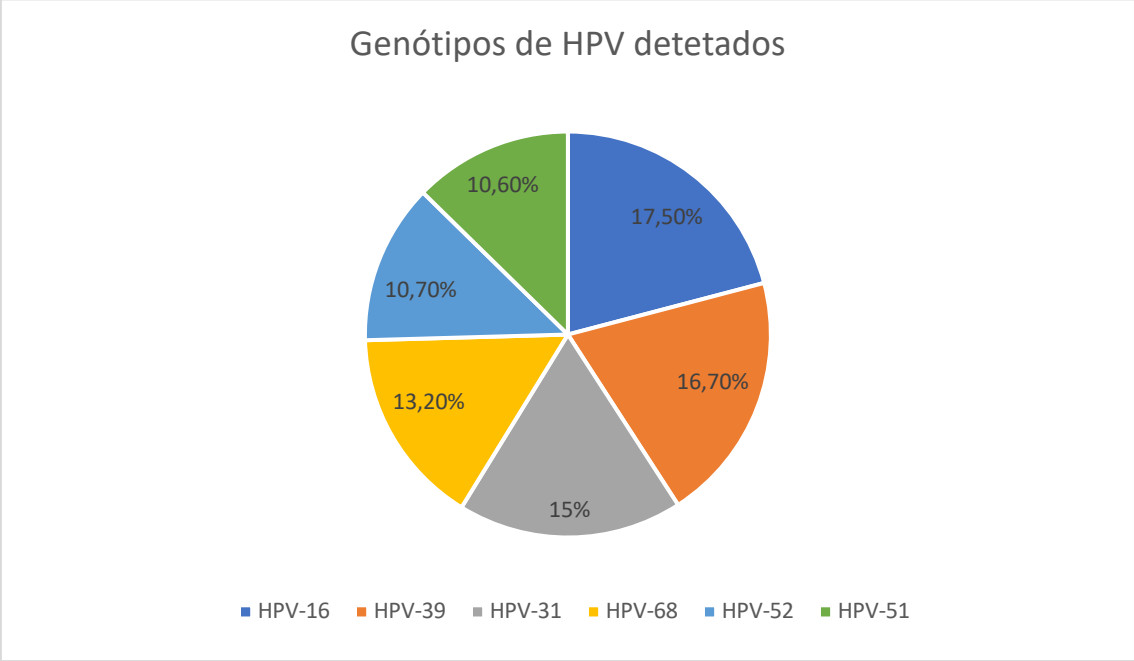


Gráfico3.3. Genótipos de HPV de alto risco encontrados numa população de mulheres portuguesas entre 2008 e 2009 (50) .

### b) entre a população masculina em Portugal e no Mundo

O cancro anal é raro e a sua incidência é superior em mulheres do que em homens, mas no género masculino é comum de se encontrar em homens que mantenham sexo desprotegido com outros homens (49).

No ano de 2018 foram registados cerca de 34 000 casos positivos de cancro do pénis, este esta fortemente relacionado com as taxas de cancro de colo do útero. Afeta a faixa etário 50-70 anos, é mais frequente nos países em desenvolvimento e representa cerca de 10% dos cancros em homens, em regiões de Africa, Ásia e América do Sul (48,49).

Em Portugal o cancro da orofaringe afeta, maioritariamente, o sexo masculino nas faixas etárias entre os 50-80 anos, sendo que além do genótipo HPV-16 como fator causal, também tem como cofatores o álcool e o tabaco. O gráfico abaixo mostra bem a diferença da incidência do cancro da orofaringe em função do género (48).

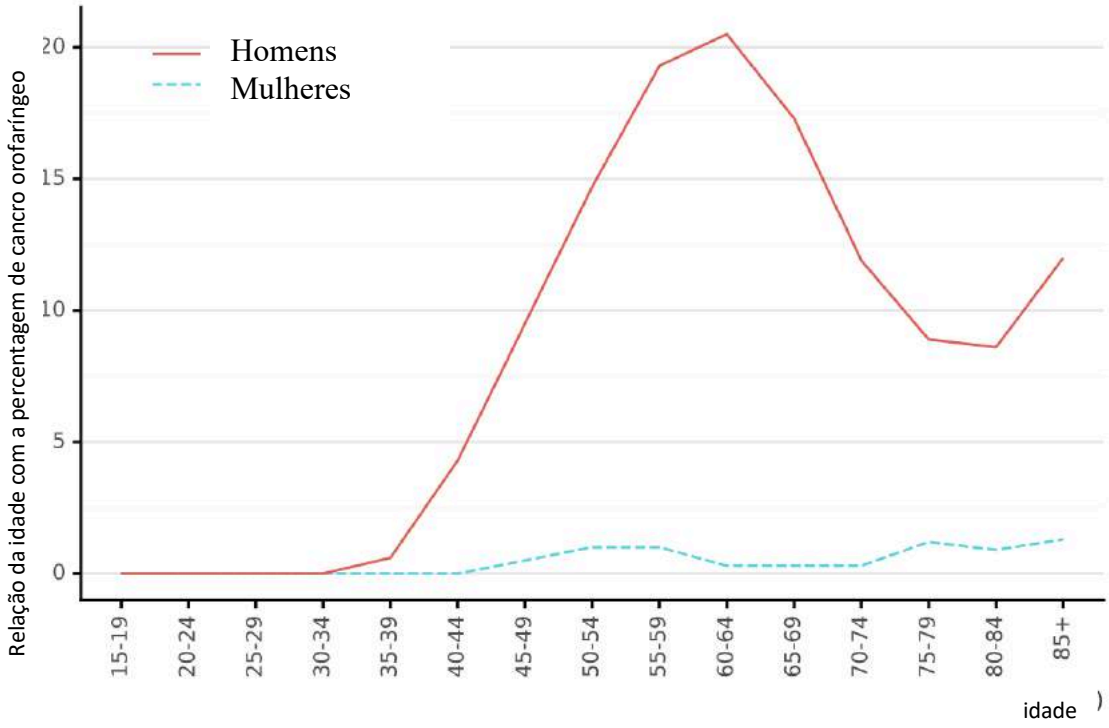


Figura 3.2. Taxa especifica da incidência do cancro da orofaringe homens vs mulheres (estimativas para 2020) (48).

## 3.2. Incidência dos tipos de HPV de baixo risco

### a) entre a população feminina em Portugal

Das 43 mulheres que apresentam infeção por HPV (tabela 3.3), 11 casos (25%) tinham genótipos de baixo risco (tabela 3.3.). O gráfico 3.4 mostra-nos a distribuição dos genótipos de baixo risco de HPV detetados. O genótipo de baixo risco mais frequente foi o HPV-42 (51).

Tabela 3.3. Descrição da população com genótipos de baixo risco, do estudo dirigido pela Unidade de Infeções Sexualmente Transmissíveis do Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge (INSA) (51).

| Nr total da população estudada | Nr total de infeções detetadas | Genótipos de baixo risco | Genótipos de risco indeterminado |
|---|---|---|---|
| **152** | 43 (28,3%) | 11 | 5 |

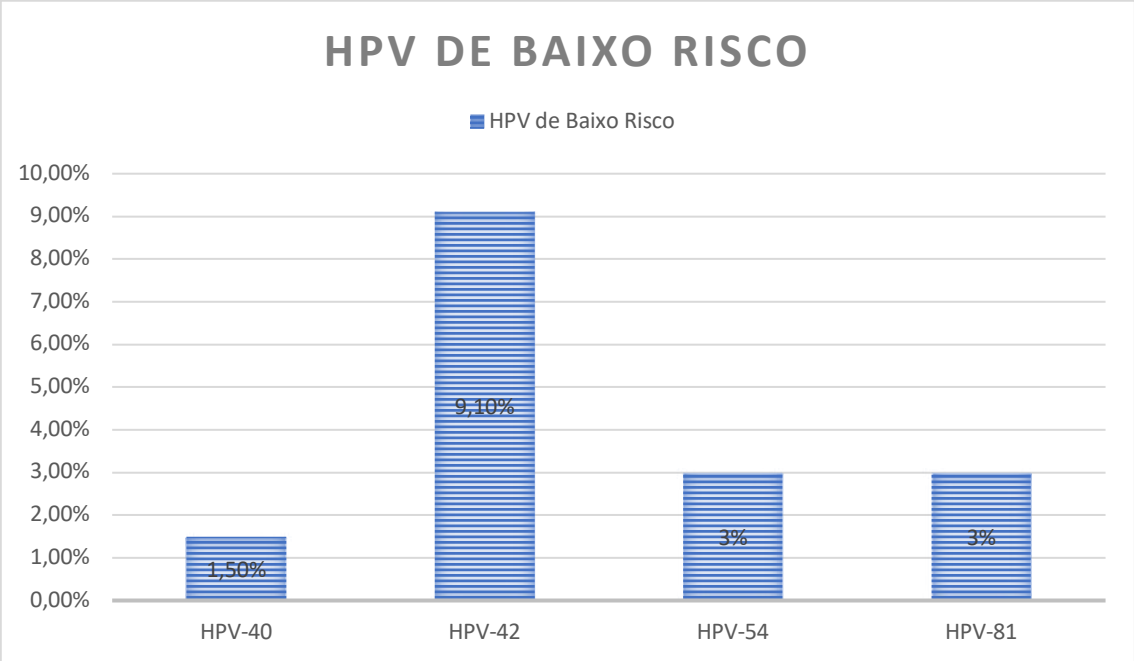


Gráfico 3.4. Distribuição dos genótipos de baixo risco de HPV detetados nas 43 mulheres* com infeção por HPV, setembro de 2014 a Dezembro de 2016 (51).

## 3.3. Incidência de cancros por infeção de HPV em Portugal e no Mundo.

A incidência determina-se pelo número de casos novos que são registados num determinado período, numa população especifica. Através desta incidência é possível calcular o risco de desenvolver cancro (49).

O cancro do colo do útero ocupa a quarta posição dos mais comuns entre as mulheres, em 2020 registaram-se 604 127 novos casos de cancro em todo o mundo (tabela 8). Em Portugal foram registados 865, a faixa etária mais afetada foi dos 45-50 anos de idade (48,49).

As mulheres apresentam uma maior taxa de incidência no cancro anal, e a segunda maior taxa corresponde a homens que mantenham sexo anal com parceiros do mesmo género. No género masculino cerca de 91 casos de cancro anal foram registados em Portugal, e 21 706 no mundo (tabela 3.4.). No caso das mulheres foram registados 89 casos em Portugal e 29 159 no mundo, no ano de 2020. A OMS registou também 200 novos casos de cancro vulvar em Portugal e 45 240 no mundo (tabela 3.4.). Os números de casos de cancro vaginal também aumentaram, em Portugal foram registados 49 e a nível mundial 17 908 casos (tabela 3.4.). Por outro lado, o cancro do pénis afetou em Portugal 119 homens e 36 068 em todo o mundo (48,49).

Os cancros orofaríngeos, cavidade oral e laringe afetam em maior número os homens que as mulheres, o da cavidade oral é o cancro que com maior número de casos (48).

Tabela 3.4. Incidência de casos de cancro, e distribuição entre géneros em Portugal e no Mundo (49).

| Tipos de Cancro | Nº anual de casos registados em Portugal no sexo feminino | Nº anual de casos registados em Portugal no sexo masculino | Nº anual de casos registados no Mundo no sexo feminino | Nº anual de casos registados no Mundo no sexo masculino |
|---|---|---|---|---|
| **Cancro do Colo do Útero** | 865 | - | 604 127 | - |
| **Cancro Anal** | 89 | 91 | 29 159 | 21 706 |
| **Cancro Vulvar** | 200 | - | 45 240 | - |
| **Cancro Vaginal** | 49 | - | 17 908 | - |
| **Cancro do Pénis** | - | 119 | - | 36 068 |
| **Cancro da Cavidade Oral** | 299 | 804 | 113 502 | 264 211 |
| **Cancro da Orofaringe** | 21 | 359 | 19 367 | 79 045 |
| **Cancro da Laringe** | 45 | 484 | 24 350 | 160 265 |

## 3.4. Recuperação de infeção por HPV em Portugal e no Mundo

A prevalência de um determinado cancro pode ser definida como o número de pessoas que foram diagnosticadas com cancro e as que ainda permanecem vivas no mesmo período. Pacientes que estejam vivos 5 anos após o diagnostico são considerados geralmente como curados, pois as taxas de mortalidade são semelhantes às da restante população (48,49).

## 3.5. Mortalidade associada a infeção HPV em Portugal e no Mundo

A mortalidade é o número de mortes que sucedem numa determinada população num determinado período (48).

Em 2020 registaram-se 341 831 mortes associadas ao cancro do colo do útero a nível global. Em todo o mundo as taxas de mortalidade por cancro do colo do útero são inferiores à incidência da doença, com uma razão de 57% (49). Em Portugal, no ano de 2020 foram registadas cerca de 379 mortes devido a cancro do colo do útero. É o 3ª cancro que mais causa mortes no sexo feminino em Portugal (53).

No mesmo ano houve 18 mortes no sexo masculino por cancro anal e 9 416 a nível mundial, no sexo feminino foram registadas 27 mortes em Portugal e 9 877 no mundo (48,49).

Houve 71 mortes associados ao cancro vulvar em Portugal e 17 427 no mundo. Ainda relativamente a cancros que só afetam o sexo feminina está o cancro vaginal que causou 49 mortes em Portugal (tabela 3.5.) e 7 995 em todo o mundo (48,49). Faleceram em Portugal 34 homens vítimas de cancro do pénis e 13 211 a nível mundo como se pode ver na tabela 3.5 (48).

Tabela 3.5. Mortalidade por cancros, e distribuição entre géneros em Portugal e no Mundo (49).

| Tipos de Cancro | Nº anual de mortes registadas em Portugal no sexo feminino | Nº anual de mortes registadas em Portugal no sexo masculino | Nº anual de mortes registadas no Mundo no sexo feminino | Nº anual de mortes registadas no Mundo no sexo masculino |
|---|---|---|---|---|
| **Cancro do Colo do Útero** | 379 | - | 341 831 | - |
| **Cancro Anal** | 27 | 18 | 9 877 | 9 416 |
| **Cancro Vulvar** | 71 | - | 17 427 | - |
| **Cancro Vaginal** | 22 | - | 7 995 | - |
| **Cancro do Pénis** | - | 34 | - | 13 211 |
| **Cancro da Cavidade Oral** | 92 | 290 | 52 735 | 125 022 |
| **Cancro da Orofaringe** | 17 | 201 | 8 553 | 39 590 |
| **Cancro da Laringe** | 21 | 308 | 14 489 | 85 351 |

## 3.6. Impacto da vacinação e rastreios na deteção de HPV ou cancro associados

Já está bastante destacada a importância de programas de rastreio por citologia do tecido do colo do útero, na redução da mortalidade provocada por cancro do colo do útero (53).

No estudo feito pelo INSA anteriormente referido, foi possível conhecer a história vacinal das 152 mulheres que entraram no estudo. Das 152 mulheres, 124

destas mulheres foram vacinadas pelo Programa Nacional de Vacinação implementado em Portugal e cerca de 28 mulheres foram vacinadas foram do programa. Das 124 vacinadas ao abrigo do programa nacional apenas 95 cumpriram o esquema vacinal predefinido. Das 28 que foram vacinadas fora do plano apenas 17 cumpriram o esquema (gráfico 3.5.) (51).

No decorrer da monografia sabemos que a vacina não tem eficácia terapêutica, apenas ação preventiva, pelo que não protege de anteriores contactos com o vírus. Das mulheres vacinadas ao abrigo do plano nacional de vacinação 103 iniciaram a vida sexual após a administração da vacina e 15 das 28 vacinadas foram do plano já teriam iniciado a vida sexual aquando da administração da vacina (51).

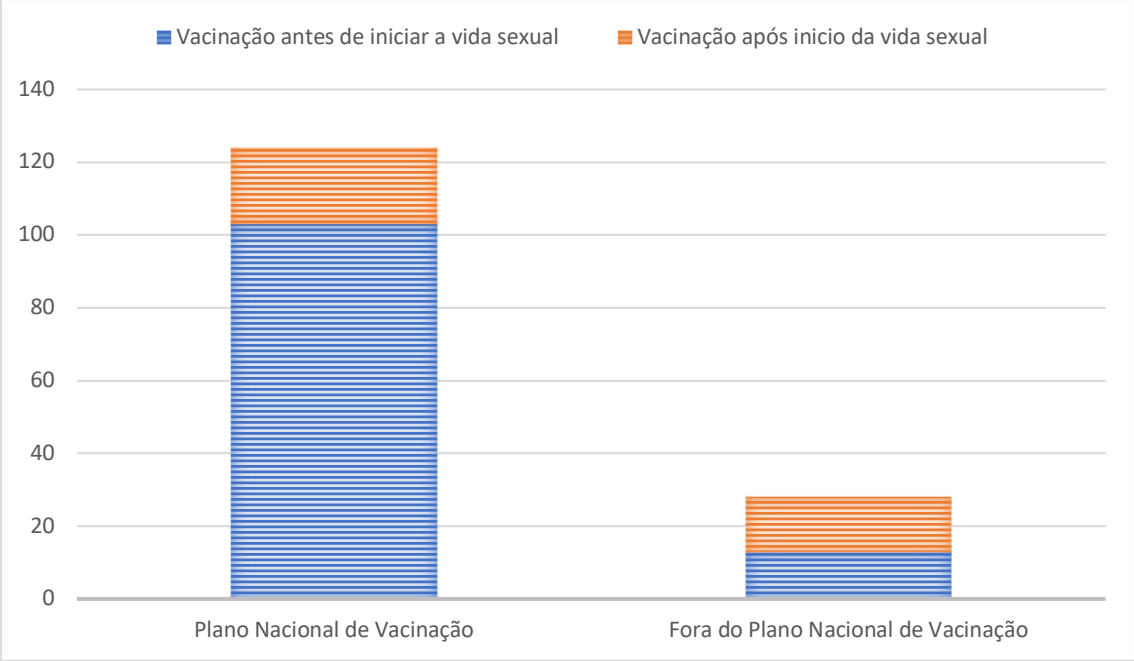


Gráfico 3.5. Proporção de mulheres vacinadas ao abrigo do Plano Nacional de Vacinação e fora, antes e após ter iniciado a vida sexual, entre setembro de 2014-dezembro de 2016 (51).

Perante este estudo podemos considerar o impacto da vacinação bastante benéfico pois avaliando o maior número de infeções eram por HPV de alto risco e apenas terem sido detetados dois casos de HPV-16, podemos considerar que o facto deste genótipo estar presente na vacina administrada tenha conferido proteção. Deve ser sempre

reforçado que a vacina apenas demonstra eficácia se tiver administração prévia ao contacto viral (49,51).

Em Portugal, o rastreio do cancro do colo do útero foi introduzido em 1978 como estratégia oportunista e em 1990 passou a ser parcialmente organizado na região Centro do país. Devido à divisão do país em diferentes administrações regionais de saúde, o programa de rastreio do cancro do colo do útero foi progressivamente implementado no Alentejo, Algarve, Açores e região Norte de Portugal (53). Na região Norte de Portugal, o rastreio do cancro do colo do útero iniciou-se em 2009 e alargou-se progressivamente a toda a região, recorrendo à citologia em meio líquido e ao teste de deteção de HPV. Em 2016, foi implementado um estudo piloto na Região Norte de Portugal utilizando a genotipagem completa do HPV como método primário de rastreio do cancro do colo do útero (53).

## 3.7. Evolução das taxas de mortalidade nos últimos anos, em Portugal

Apesar de Portugal apresentar uma das taxas de mortalidade por cancro do colo do útero mais elevada da Europa salienta-se a redução deste indicador entre 1955 e 2014. Registou-se também uma diminuição de casos nas faixas etárias mais jovens e a estagnação do número de casos nas idades mais avançadas (53).

Em Portugal a faixa etária em que o cancro do colo do útero tem maior incidência é entre os 40-49 anos. A diminuição destes casos em faixas etárias mais jovens permite-nos associar a uma diminuição na taxa de transmissão/infeção, seja por programas preventivos introduzidos, seja por maior conhecimento sobre os riscos da infeção por HPV (53).

# 4. Considerações finais

No final da presente monografia entende-se que após a infeção por HPV, o hospedeiro pode ser assintomático meses ou mesmo anos, na maioria dos casos há regressão espontânea da infeção ou mesmo de algumas lesões. No entanto, uma pequena percentagem destes casos de infeção pode evoluir para carcinomas, o que acontece com genótipos de alto risco.

Os carcinomas são resultado da introdução do material genético viral no genoma celular do hospedeiro e a presença das oncoproteínas nos genótipos de alto risco também são um fator importante para esta carcinogénese.

A vacina disponível demonstra grande eficácia, são vários os artigos onde são detalhadas as condicionantes para que se possa ter a maior proteção possível contra o vírus. Um dos critérios é iniciar a vida sexual após o esquema vacinal completo, mas devem ser tomados outros cuidados de proteção individual dado que a vacina não contém todos os genótipos. Se a vida sexual for iniciada antes do esquema vacinal estar completo, a vacina não apresenta eficácia no combate à infeção em infeções já pré-existentes.

A vacinação em massa das camadas jovens demonstra agora, passados 15 anos uma diminuição no número de casos de cancros diagnosticados, que estão associados a infeções por HPV. E geralmente nos casos de cancro associados a infeção por HPV são detetados genótipos que não estão na composição da Gardasil 9, no entanto ainda muito está por conhecer e ainda é cedo para garantir uma eficácia de 100% da mesma.

De notar que são de extrema importância os rastreios e os diagnósticos precoces, de infeções por HPV ou mesmo lesões pré-cancerígenas, para que se possa iniciar o tratamento mais eficaz o quanto antes e diminuir as taxas de mortalidade associadas.

Com a presente revisão bibliográfica pode-se concluir que a maior parte das mulheres infetadas com HPV e que apenas iniciaram a vida sexual após o esquema de vacinação completo, contraiu infeção por outros genótipos que não eram os que constituem a vacina. Isto veio corroborar a eficácia da vacina e a decisão desta se incluir no Plano Nacional de Vacinação, em Portugal (44,51).

# 5. Referências Bibliográficas


1. Harden ME, Munger K. Human papillomavirus molecular biology. Mutation Research - Reviews in Mutation Research. Harvard Medical School, Boston. 2017; 772:3-12.
2. N de Lima Camara GN, Rojas Cruz M, Sales Veras V, Renata Martins CF. Os papilomavírus humanos-HPV: histórico, morfologia e ciclo biológico. Universitas Ciências da Saúde. Vol. 01.Brasília. 2004:149-158.
3. Carter JB, Saunders VA. Virology: Principles and Applications. 1ª Edition. Chichester, Inglaterra. 2007: 287–296.
4. Doorbar J, Quint W, Banks L, Bravo IG, Stoler M, Broker TR, *et al*. The biology and life-cycle of human papillomaviruses. Vaccine. Elsevier Ltd; 2012:F55-F70
5. Flint S, Racaniello V, Enquist L, Skalka A. Principles Of Virology. Molecular Biology. Third Edition. Washington DC; 2009.
6. Doorbar J, Egawa N, Griffin H, Kranjec C, Murakami I. Human papillomavirus molecular biology and disease association. Reviews in Medical Virology. John Wiley and Sons Ltd; Vol. 25. 2015:2–23.
7. Fera AN, Warburton A, Coursey TL, Khurana S, McBride AA. Persistent human papillomavirus infection. Viruses. Vol 13. 2021 Feb 1; 321:1-16.
8. Aksoy P, Gottschalk EY, Meneses PI. HPV entry into cells. Mutation Research - Reviews in Mutation Research. Vol. 772.; 2017:13–22.
9. Schiller JT, Day PM, Kines RC. Current understanding of the mechanism of HPV infection. Gynecologic Oncology. Vol.118. Junho 2010:1-13.
10. Spoden G, Freitag K, Husmann M, Boller K, Sapp M, Lambert C, *et al*. Clathrin- and caveolin-independent entry of human papillomavirus type 16. Involvement of tetraspanin-enriched microdomains (TEMs). PLoS One.Vol 3. 2 de outubro 2008: 1-15.
11. DiGiuseppe S, Bienkowska-Haba M, Hilbig L, Sapp M. The nuclear retention signal of HPV16 L2 protein is essential for incoming viral genome to transverse the trans-Golgi network. Virology. Elvesier Inc. Los Angeles. 2014:93-105.

12. Candotto V, Lauritano D, Nardone M, Baggi L, Arcuri C, Gatto R, *et al*. HPV Infection in the Oral Cavity: Epidemiology, Clinical Manifestations and Relationship with Oral Cancer. Oral & Implantology. Vol X N3. Itália.2017:209-220.
13. Angel M, Sierra M, Orgaz Molina J, Merino-Salas S, Lopez-Carmona Pintado F, Arrabal-Martin M*, et al*. Clinical Manifestations of the Human Papillomavirus. In: Human Papillomavirus and Related Diseases. Bench to Bedside a Diagnostic and Preventive Perspective. InTech Capítulo 7. 2013:187-219.
14. Graças M, Leto P, Francisco G, Júnior S, Porro AM, Tomimori J. Human papillomavirus infection: etiopathogenesis, molecular biology and clinical manifestations. An Bras Dermatol.Vol 86. Salvador da Baía. 2011:306-317.
15. Isaacson Wechsler E, Wang Q, Roberts I, Pagliarulo E, Jackson D, Untersperger C, *et al*. Reconstruction of Human Papillomavirus Type 16-Mediated Early-Stage Neoplasia Implicates E6/E7 Deregulation and the Loss of Contact Inhibition in Neoplastic Progression. Journal ASM. Reino Unido, 2012:6358-6364.
16. Balasubramaniam SD, Balakrishnan V, Oon CE, Kaur G. Key molecular events in cervical cancer development. Medicina Vol. 55, Lituania. 2019; 384:1-13.
17. Grce M, Sabol I, Gasperov N. The transforming properties of human papillomavirus oncoproteins. Peridicum Biologorum, Vol 114 N4. Croácia. 2012: 479-487.
18. Jabbar SF, Abrams L, Glick A, Lambert PF. Persistence of high-grade cervical dysplasia and cervical cancer requires the continuous expression of the human papillomavirus type 16 E7 oncogene. Cancer Reserch. 2009:1-16.
19. Zanier K, Boulade-Ladame C, Rybin V, Chappelle A, Atkinson A, *et al*. Solution structure analysis of the HPV16 E6 oncoprotein reveals a self-association mechanism required for E6-mediated degradation of p53. Structure. 2012: 1-24.
20. Munger 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. Journal of Virology, Vol 63 N10. Maryland. 1989:4417-4421.

21. Hawley-Nelson P, Vousden1 KH, Hubbert NL, Lowy DR, Schiller JT. HPV16 E6 and E7 proteins cooperate to immortalize human foreskin keratinocytes. The EMBO Journal. Vol 8 N12. 1989:3905-3910.

22. Munger K, Werness BA, Dyson' N, Phelps2 WC, Harlow' E, Howley PM. Complex formation of human papillomavirus E7 proteins with the retinoblastoma tumor suppressor gene product. The EMBO Journal. Vol 8 N13. 1989:4099-4105.

23. McBride AA. Oncogenic human papillomaviruses. Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences. Royal Society Publishing; Vol 372. 2017:1-9.

24. Middleton K, Peh W, Southern S, Griffin H, Sotlar K, Nakahara T, *et al*. Organization of Human Papillomavirus Productive Cycle during Neoplastic Progression Provides a Basis for Selection of Diagnostic Markers. Journal of Virology, Vol 77 N19. 2003:10186-10201.

25. Balasubramaniam SD, Balakrishnan V, Oon CE, Kaur G. Key molecular events in cervical cancer development. Medicina Vol. 55, Lituania. 2019; 389:1-13

26. Machado P, Carvalho L, Araújo M, Carvalho E. Mecanismos de resposta imune às infeções.Educação Médica Continuada. Vol 74. Rio de Janeiro 2004:647-664..

27. Koshiol JE, Schroeder JC, Jamieson DJ, Marshall SW, Duerr A, Heilig CM, et al. Time to clearance of human papillomavirus infection by type and human immunodeficiency virus serostatus. International Union Against Cancer. Vol 119 Outubro 2006:1623-1629.

28. Nestle FO, di Meglio P, Qin JZ, Nickoloff BJ. Skin immune sentinels in health and disease. Nature Reviews Immunology, Vol 9. 2009:679–691.

29. Maglennon GA, McIntosh PB, Doorbar J. Immunosuppression Facilitates the Reactivation of Latent Papillomavirus Infections. Journal of Virology. Vol 8 2014:710-716.

30. Burd EM. Human papillomavirus laboratory testing: The changing paradigm. American Society Microbiology, Vol 29.. 2016:291-319.

31. Chrysostomou AC, Stylianou DC, Constantinidou A, Kostrikis LG. Cervical cancer screening programs in Europe: The transition towards HPV vaccination and population-based HPV testing. Viruses, Vol. 10, 2018:1-35.
32. Cuzick J, Clavel C, Petry KU, Meijer CJLM, Hoyer H, Ratnam S, et al. Overview of the European and North American studies on HPV testing in primary cervical cancer screening. International Union Against Cancer, Vol 119. 2006:1095-1101.
33. Winer RL, Hughes JP, Feng Q, O'reilly S, Kiviat NB, Holmes KK, et al. Condom Use and the Risk of Genital Human Papillomavirus Infection in Young Women, Vol. 354 Nº25. 2006:2645-2654.
34. Maucort-Boulch D, Plummer M, Castle PE, Demuth F, Safaeian M, Wheeler CM, et al. Predictors of human papillomavirus persistence among women with equivocal or mildly abnormal cytology. International Journal of Cancer, Vol 126. 2010:684-691.
35. Wen LM, Estcourt CS, Simpson JM, Mindel A. Risk factors for the acquisition of genital warts: are condoms protective?. Sex Transm Inf, Vol7 5. 1999:312-316.
36. Schiffman M, Rodriguez AC, Chen Z, Wacholder S, Herrero R, Hildesheim A, et al. A population-based prospective study of carcinogenic human papillomavirus variant lineages, viral persistence, and cervical neoplasia. Cancer Research, Vol 70. 2010:3159-3169.
37. Brás F, Sardinha R, Pacheco A. Therapeutic procedures in the treatment of condylomata acuminata.Acta Obstétrica Ginecológica Portuguesa, Vol 9. 2015: 383-392.
38. Serrano L, López AC, González SP, Palacios S, Dexeus D, Centeno-Mediavilla C, *et al.* Efficacy of a Coriolus versicolor-Based Vaginal Gel in Women with Human Papillomavirus-Dependent Cervical Lesions: The Paloma Study. Cervix and HPV. Journal of Lower Genital Tract Disease, Vol 25 Nº2 2021:130-136.
39. Charles M, Kodner M, Nasraty M. Management of Genital Warts. American Family Physician, Vol 70 Nº12.2004:2335-2342
40. Aneid Produtos Farmacêuticos. HPV Imunonutrição: Brochura de Coriolus - MRL. 2017.

41. Couto J, Salgueiro L. Evolution de un preparado de Coriolus versicolor em pacientes com lesiones cervicales por papilomavirus. Revista de Fitoterapia, Vol 8. 2007:5-10.
42. Labo'Life. Estudo de 2LPAPI® na eliminação de infecções genitais HR-PV. [Internet]. 2022 [acedido em 2022 set 7]. Available from: https://ichgcp.net/pt/clinical-trials-registry/NCT04232917
43. Khallouf H, Grabowska AK, Riemer AB. Therapeutic vaccine strategies against human papillomavirus. Vaccines, Vol 2. 2014:422–62.
44. Vitorino A, Pacheco A, Pedro A, Pista A, Matos A, Quintas A, *et al.* Consenso Nacional Vacinas contra HPV. Sociedade Portuguesa de Ginecologia 2017.
45. Magalhães GM, Vieira ÉC, Garcia LC, de Carvalho-Leite M de LR, Guedes ACM, Araújo MG. Update on human papilloma virus - part I: epidemiology, pathogenesis, and clinical spectrum. Sociedade Brasileira de Dermatologia. Belo Horizonte, Basil. 2021;96:1–16.
46. Merck Sharp & Dohme L. Anexo I: Resumo das Características do Medicamento - Gardasil 9. 2022.
47. Manini I, Montomoli E. Epidemiology and prevention of Human Papillomavirus. Ann Ig, Vol 30. Siena, Itália. 2018:28-32.
48. Bruni L, Albero G, Serrano B, Mena M, Collado J, Gómez D, *et al*. Human Papillomavirus and Related Diseases Report WORLD. Centro de Informação de HPV2021.
49. Bruni L, Albero G, Serrano B, Mena M, Collado J, Gómez D, *et al*. Human Papillomavirus and Related Diseases Report PORTUGAL. Centro de Informação de HPV. 2021.
50. Pista A, de Oliveira CF, Cunha MJ, Paixao MT, Real O. Risk factors for human papillomavirus infection among women in Portugal: The Cleopatre Portugal Study. International Journal of Gynecology and Obstetrics, Vol 118. Coimbra. 2012.
51. Rocha R, Verdasca N, Grupo de estudo da vacina HPV. Primeiro estudo em Portugal sobre a identificação dos genótipos do vírus do papiloma humano (HPV)

numa população feminina vacinada com atividade sexual ativa. Boletim Epidemiológico Artigos breves Nº1. Lisboa 2017.

52. Sousa H, Tavares A, Campos C, Marinho-Dias J, Brito M, Medeiros R, *et al.* High-Risk human papillomavirus genotype distribution in the Northern region of Portugal: Data from regional cervical cancer screening program. Papillomavirus Research. 2019:1-7.

53. Teixeira C, Pereira AM, Anes E, Rodrigues C, Castanheira MJ. Time-trends in cervical cancer mortality in Portugal. Acta Medica Portuguesa. 2019 Jun 1.