



PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DE GOIÁS
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
COORDENAÇÃO DE PÓS-GRADUAÇÃO STRICTO SENSU
MESTRADO EM CIÊNCIAS AMBIENTAIS E SAÚDE



MESTRADO EM CIÊNCIAS
AMBIENTAIS E SAÚDE

**O CARCINOMA COLORRETAL (CCR) E O PAPILOMAVÍRUS HUMANO (HPV):
DETECÇÃO E GENOTIPAGEM**

THALITA DE SIQUEIRA

GOIÂNIA/GO

2019



PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DE GOIÁS
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
COORDENAÇÃO DE PÓS-GRADUAÇÃO STRICTO SENSU
MESTRADO EM CIÊNCIAS AMBIENTAIS E SAÚDE



**MESTRADO EM CIÊNCIAS
AMBIENTAIS E SAÚDE**

**O CARCINOMA COLORRETAL (CCR) E O PAPILOMAVÍRUS HUMANO (HPV):
DETECÇÃO E GENOTIPAGEM**

THALITA DE SIQUEIRA

Orientadora: Prof^ª Dr^ª Vera Aparecida Saddi

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Ambientais e Saúde da Pró-Reitoria de Pós-Graduação e Pesquisa da Pontifícia Universidade Católica de Goiás como requisito para obtenção do Título de Mestre em Ciências Ambientais e Saúde.

GOIÂNIA/GO

2019

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada à fonte.

Catálogo da Publicação

Serviço de documentação da Pontifícia Universidade Católica de Goiás

S618c Siqueira, Thalita de
O carcinoma colorretal (CCR) e o papilomavírus humano
: detecção e genotipagem / Thalita de Siqueira.--
2019.
80 f.: il.

Texto em português, com resumo em inglês
Dissertação (mestrado) - Pontifícia Universidade Católica
de Goiás, Goiânia, 2019
Inclui referências: f. 61-76

1. Cólon (Anatomia) - Câncer. 2. Papilomavírus. I.Saddi,
Vera Aparecida. II.Pontifícia Universidade Católica
de Goiás - Programa de Pós-Graduação em Ciências Ambientais
e Saúde - 2019. III. Título.

CDU: Ed. 2007 -- 616.34-006(043)
578.826(043)



DISSERTAÇÃO DO MESTRADO EM CIÊNCIAS AMBIENTAIS E SAÚDE
DEFENDIDA EM 15 DE MARÇO DE 2019 E CONSIDERADA
APROVADA PELA BANCA EXAMINADORA:

1) Vera Aparecida Saddy

Profa. Dra. Vera Aparecida Saddy / PUC Goiás (Presidente/Orientadora)

2)

Megmar Carneiro

Profa. Dra. Megmar Aparecida dos Santos Carneiro / UFG (Membro Externo)

3)

Antonio Márcio Teodoro Cordeiro Silva

Prof. Dr. Antonio Márcio Teodoro Cordeiro Silva / PUC Goiás (Membro)

4)

Profa. Dra. Flávia Melo Rodrigues / PUC Goiás (Suplente)

*Aos meus pais,
Benedito Sinédrio e Roseli.*

AGRADECIMENTOS

A Deus que permitiu que tudo isso acontecesse ao longo de minha vida e não somente nestes dois anos, mas que em todos os momentos é o maior mestre que alguém pode conhecer. E também por ter me dado saúde e força para superar as dificuldades e meus limites.

À minha orientadora Prof^ª Dr^ª Vera Aparecida Saddi, que nos anos de convivência durante o mestrado, muito me ensinou, contribuindo para o meu crescimento científico e intelectual.

À Prof^ª Dr^ª Rejane da Silva Sena Barcelos, que muito me ensinou durante o estágio, contribuindo para o meu crescimento discente.

À Prof^ª Dr^ª Karlla Greik Batista Dias Penna, pelo carinho, incentivo e todo amor.

À Pontifícia Universidade Católica de Goiás, pela oportunidade de realização do meu curso de Mestrado em Ciências Ambientais e Saúde, e toda a sua equipe envolvida.

Ao Hospital Araújo Jorge e a Associação ao Combate ao Câncer de Goiás, pelos laboratórios, equipe de profissionais, colegas e pacientes analisados.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Goiás (FAPEG), à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e ao Programa de Pesquisa Para o SUS (PPSUS), pela concessão da bolsa de mestrado e pelo apoio financeiro para a realização desta pesquisa.

Aos meus pais Benedito Sinédrio de Siqueira e Roseli Miguel de Godoi, pelo amor, incentivo e apoio incondicional.

E a todos que direta e indiretamente fizeram parte da minha formação, o meu muito obrigada.

RESUMO

A incidência do câncer colorretal (CCR) é crescente em todo mundo e a doença representa a quarta causa de morte por câncer. A associação do Papilomavírus humano (HPV) com o CCR é inconclusiva e a presença do genoma viral no CCR consiste na primeira etapa para a elucidação desta questão. O objetivo deste estudo consistiu em analisar retrospectivamente 92 casos de CCR e investigar a presença do DNA do HPV, os genótipos e as possíveis associações entre o HPV e as características clínicas e patológicas dos CCR. Trata-se de estudo retrospectivo que incluiu 92 pacientes com CCR assistidos em uma instituição de referência do Centro-Oeste do Brasil. Foram utilizadas amostras tumorais fixadas em formol e incluídas em parafina. A detecção do HPV foi feita por PCR com o uso de primers SPF 10 e com o uso kit comercial INNO-LIPA HPV *Genotyping Extra II*[®] (FujirebioEurope, Ghent, Bélgica). As associações entre a presença do vírus e as características tumorais investigadas foram avaliadas pelo teste de exato de Fisher, com nível de significância de 5% ($p < 0,05$). A prevalência do HPV no grupo de CCR investigado foi de 35,8% (IC95%;26,8-46,0). Associações entre presença do HPV e os aspectos clinicopatológicos dos CCR não foram detectadas neste estudo. Nossos resultados demonstraram a prevalência do DNA do HPV em um grupo de CCR e a ausência de associações entre a presença do vírus e as características dos tumores.

DESCRITORES: Câncer colorretal; HPV; Detecção viral; Prevalência.

ABSTRACT

The incidence of colorectal cancer (CRC) is increasing worldwide and the disease is the fourth leading cause of cancer death. The association of human papillomavirus (HPV) with CRC is inconclusive and the presence of the viral genome in the CRC is the first step in elucidating this issue. The objective of this study was to retrospectively analyze 92 cases of CRC and to investigate the presence of HPV DNA, genotypes and possible associations between HPV and the clinical and pathological characteristics of CRC. It is a retrospective study that included 92 patients with CRCs assisted at a reference institution in the Center-West of Brazil. Tumor samples fixed in formalin and embedded in paraffin were used. HPV detection was performed by PCR using SPF 10 consensus primers and the commercial INNO-LIPA HPV Genotyping Extra II © kit (FujirebioEurope, Ghent, Belgium). The associations between the presence of the virus and the investigated tumor characteristics were assessed by Fisher exact test, with a significance level of 5% ($p < 0.05$). The prevalence of HPV in the CRC group was 35,8% (IC95%; 26,8-46,0). Associations between the presence of HPV and the clinicopathological aspects of CRC were not detected in this study. Our results demonstrated the prevalence of HPV DNA in a group CRC and the absence of association between the presence of the virus and the characteristics of the tumors.

KEY WORDS: Colorectal cancer; HPV; Viral detection; Prevalence.

LISTA DE FIGURAS E QUADROS

FIGURA 1. Anatomia do intestino grosso	17
FIGURA 2. Fotomicrografia mostrando corte histológico do intestino grosso	18
FIGURA 3. Transição de adenoma para carcinoma	24
FIGURA 4. Via da Map-quinase	25
FIGURA 5. Organização genômica do HPV e suas respectivas proteínas	30
FIGURA 6. Ação viral e expressão gênica do HPV de acordo com as camadas epiteliais	32
FIGURA 7. Proteínas virais interferindo nas funções dos supressores tumorais	34
FIGURA 8. Fluxograma de busca e seleção dos casos de CCR	47
QUADRO 1. Principais fatores de risco para o desenvolvimento do câncer colorretal	21
QUADRO 2. Estadiamento TNM dos CCRs de acordo com a AJCC	27
QUADRO 3. Estadiamento dos CCRs de acordo com a AJCC	28
QUADRO 4. Características dos estudos (revisão da literatura) associando o HPV ao CCR	42
QUADRO 5. Estudos recentes associados ao HPV e CCR	43
QUADRO 6. Estudos que utilizaram método de detecção SPF10 e INNO-LiPA	56

LISTA DE TABELAS

TABELA 1. Características sociodemográficas de indivíduos com CCR (N 92)	50
TABELA 2. Características clinicopatológicas de indivíduos com CCR (N 92)	52
TABELA 3. Características sociodemográficas de indivíduos com e sem HPV	53
TABELA 4. Características clinicopatológicas de indivíduos com e sem HPV	55

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

ACCG: Associação de Combate ao Câncer de Goiás

AJCC: do inglês, *American Joint Committee on Cancer*

APC: do inglês, *Adenomatous Polyposis Coli*

ASC-US: Células escamosas atípicas de significado indeterminado, mas com origem provavelmente benigna.

A/T: Região do genoma, rica em adenosina e timina

ATP: Adenosina trifosfato

Bp: do inglês, *base pair*

BPV: do inglês: *Bovinepapillomavirus*

CCR: Câncer Colorretal

CEP: Comitê de Ética em Pesquisa

Ciclina-CDK: Quinase dependentes de ciclina

CIMP: do inglês, *CpG island methylattion phenotype*

c-myc: Fator de transcrição nuclear

CpG: Regiões do genoma que apresentam grande quantidade de citosina e guanina

DNA: Ácido desoxirribonucleico

EGF: Fator de crescimento epidérmico

EGFR: Receptor do fator de crescimento epidérmico

E2F: Fator de transcrição E2F

E2s: Ubiquitina carreadora ou proteína conjugadora

E3: Ubiquitina ligase

FAP: Polipose Adenomatosa Familiar

FFPE: Tecidos fixados em formal e embebidos em parafina

g: Gramas (unidade de medida para peso)

GAPDH: Gene constitutivo humano, Gliceraldeído-3-P-desidrogenase

GP5+/GP6+: Iniciadores de PCR para detecção de HPV

H AJ: Hospital Araújo Jorge

HE: Hematoxilina Eosina

HLA-DPBI: Antígeno do complexo de histocompatibilidade de classe II, cadeia DP beta 1, do inglês, *Major Histocompatibility Complex, Class II, DP Beta 1*

HNPCC: Câncer Colorretal Hereditário sem Polipose

HPV: Papilomavírus humano

hr-HPV: HPV de alto risco

HSPG: Receptores de proteoglicanos de sulfato de heparano com carga negativa

IARC: do inglês, *International Agency for Research on Cancer*

IBD: do inglês, *Inflammatory Bowel Disease*

ICTV: do inglês, *The International Committee on Taxonomy of Viruses*

IMC: Índice de massa corporal

INCA: Instituto Nacional do Câncer

IST: Infecção sexualmente transmissível

KDa: Quilo daltons (unidade de medida para peso molecular)

LCR: do inglês, *Long Control Region*

MAPK: proteína quinase ativadora por mitogeno

MHC: Complexo principal de histocompatibilidade, do inglês, *Main Histocompatibility Complex*

MY09/10: Iniciadores de PCR para detecção de HPV

OMS: Organização Mundial da Saúde

p16^{INK4A}: Proteína supressora de tumor p16

p53: Proteína supressora de tumor p53

p21-ras: Proteína 21 da família RAS

PCR: Reação em cadeia da polimerase, do inglês, *Polimerase Chain Reaction*

PI3K: Fosfatidilinositol-3-cinase, do inglês, *Phosphoinositide-3-kinase*

pRb: Proteína do retinoblastoma

qPCR: PCR quantitativa

raf-1: Proteína que faz parte da via MAP-quinase

RT-PCR: PCR em tempo real

SPF10: Iniciador de PCR para detecção de HPV

TCLE: Termo de consentimento livre esclarecido

TGF- β : Fator de transformação do crescimento beta

TNM: Classificação clínica do tumor, nódulo linfático e metástase

URR: do inglês, *Upstream Regulatory Region*

Ub: Ubiquitina

VEGF: Fator de crescimento vascular endotelial, do inglês, *Vascular Endotelial Growth Factor*

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	15
2. REFERENCIAL TEÓRICO	17
2.1 Intestino Grosso	17
2.2 Carcinoma Colorretal (CCR)	18
2.2.1 Epidemiologia do CCR	18
2.2.2 Fatores de risco	19
2.2.3 Fisiopatologia do CCR	22
2.2.4 Estadiamento dos tumores colorretais	26
2.2.5 Prevenção e tratamento	28
2.3 O Papilomavírus humano (HPV)	29
2.3.1 Organização genômica	29
2.3.2 Características das proteínas do HPV	31
2.3.3 Classificação dos papilomavírus	32
2.3.4 História natural da infecção e mecanismos carcinogênicos por HPV	35
2.3.5 Epidemiologia do infecção por HPV	36
2.3.6 Diagnóstico da infecção pelo HPV	36
2.4 O CCR associado ao HPV	40
3. JUSTIFICATIVA	44
4. OBJETIVOS	45
5. METODOLOGIA	46
6. RESULTADOS	50
7. DISCUSSÃO	55
8. CONCLUSÃO	59
9. BIBLIOGRAFIA	60
10. ANEXOS	75

1. INTRODUÇÃO

O câncer é uma doença que envolve mudanças genéticas e epigenéticas nas células (DOORBAR et al., 2015). A carcinogênese é um processo de várias etapas que leva à ativação de oncogenes e à perda da função dos genes supressores de tumor (HANAHAN; WEINBERG, 2000). Os processos moleculares acumulados durante o desenvolvimento de tumores compreendem: a sustentação da sinalização proliferativa, o escape dos supressores de crescimento, a evasão à morte celular, a imortalização celular, o estímulo à angiogênese, a invasão celular (metástase), instabilidade genômica (acúmulo de mutações no genoma), promoção tumoral por inflamação, reprogramação do metabolismo energético e escape da destruição das células tumorais pelo sistema imune (HANAHAN; WEINBERG, 2011).

O câncer é uma doença multifatorial, sendo as causas externas representadas por agentes ambientais e as internas promovidas por alterações no genoma, ação hormonal e mecanismos imunológicos (DOORBAR et al., 2015). A chance de se ter câncer pode ser diminuída pela redução da exposição aos fatores de risco como, por exemplo: tabagismo, alcoolismo, dieta de má qualidade, sedentarismo e obesidade (ZAMPINO et al., 2009).

O câncer colorretal (CCR) é uma doença neoplásica comum, sendo a quarta causa de morte por câncer em todo mundo. O CCR é o terceiro tipo de câncer mais prevalente em homens (746.000 casos, 10% do total) e o segundo em mulheres (614.000 casos, 9,2% do total) (GLOBOCAN, 2012). No Brasil espera-se para o biênio 2018-2019, 36.360 novos casos de CCR, sendo 17.380 em homens e 18.980 em mulheres (INCA, 2017).

O risco para se desenvolver CCR pode ser herdado, mas como a doença é multifatorial, acredita-se que os fatores ambientais desempenham um papel mais importante do que a hereditariedade (KUIPERS et al., 2016). A evolução do CCR é um processo gradativo, no qual muitos fatores de risco estão envolvidos, dentre eles tem-se: dieta pobre em fibras, obesidade, sedentarismo, tabagismo, alcoolismo, idade, histórico pessoal de pólipos, histórico pessoal de doença inflamatória intestinal, histórico familiar de CCR, síndromes hereditárias e diabetes tipo 2 (KANTH et al., 2017; KUIPERS et al., 2016).

Aproximadamente 15% dos cânceres humanos estão relacionados a uma causa viral, contribuindo para a instabilidade genética e levando ao aparecimento de aberrações cromossômicas (PICANÇO-JUNIOR et al., 2014). O Papilomavírus humano (HPV) tem sido associado a vários tipos de câncer (SHUKLA et al., 2009).

Os HPVs são vírus epitéliotrópicos de DNA de cadeia dupla, que infectam as células basais do epitélio escamoso e do epitélio glandular (DOORBAR et al., 2015), provocando

uma variedade de lesões como verrugas, papilomas, lesões intra-epiteliais cervicais e câncer (DOORBAR et al., 2015). O HPV está associado a uma parcela significativa dos cânceres que afetam regiões como colo do útero, vagina, vulva, pênis, ânus e cavidade oral (MUÑOZ et al., 2006).

Suspeita-se que o HPV possa infectar a mucosa do cólon e/ou do reto por meio de uma infecção perineal ascendente, a partir dos sítios anogenitais (CHEN et al., 2012; PÉREZ et al., 2006; SHUKLA et al., 2009). No entanto, o suposto papel da infecção por HPV na carcinogênese colorretal ainda não foi devidamente esclarecida e continua questionável (CHEN et al., 2015; CHEN et al., 2012; PÉREZ et al., 2006).

Atualmente, a associação do HPV com a carcinogênese colorretal já foi investigada em vários estudos (BAANDRUP et al., 2014; DAMIN; ZIGELMANN; DAMIN, 2013; LORENZON et al., 2011; PELIZZER et al., 2016). Esta associação é baseada no papel já bem conhecido do vírus na carcinogênese cervical e anal (SHUKLA et al., 2009). Porém, a presença do HPV nos CCR é considerada como incidental por vários autores, que questionam a real contribuição do vírus na carcinogênese colorretal (AGHAKHANI et al., 2014; LORENZON et al., 2011; TAHERIAN et al., 2014; VUITTON et al., 2016; YAVUSER et al., 2011).

Assim, o primeiro passo para elucidar a contribuição do HPV nos CCR consiste na detecção do genoma viral nas células tumorais. O presente estudo faz parte de um projeto maior que visa entender a associação do HPV na carcinogênese colorretal, buscando a detecção e a genotipagem do vírus em amostras tumorais. Nesta etapa, foi investigada a presença do DNA do HPV em amostras de CCR e suas implicações clínicas e patológicas.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Intestino Grosso

O intestino grosso é um órgão composto por: apêndice, ceco, cólon ascendente, cólon transverso, cólon descendente, cólon sigmóide, reto e ânus. A camada mais interna e a que circunda diretamente a luz do intestino é conhecida como mucosa, que é composta por: epitélio, camada basal ou lâmina própria e muscular da mucosa. As células epiteliais da mucosa intestinal são constantemente substituídas por novas células (Figura 1) (GUYTON; HALL, 2011; JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2008).

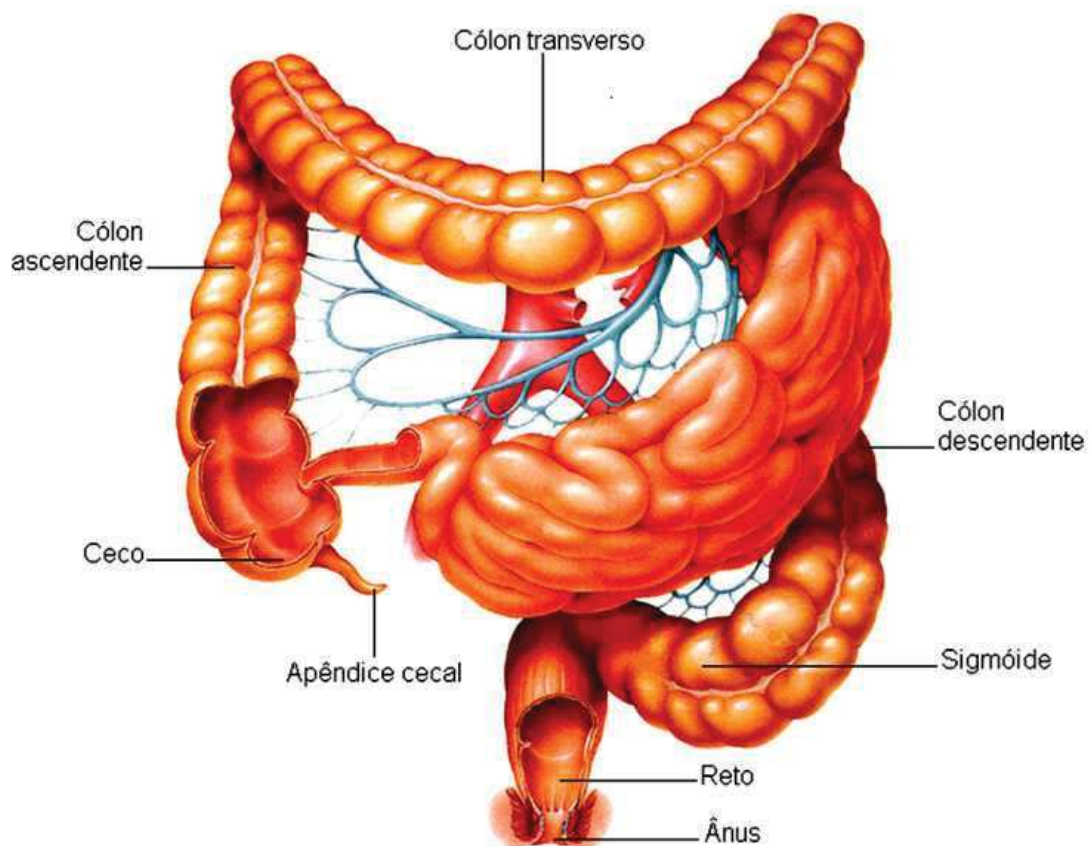


Figura 1. Anatomia do intestino grosso. Fonte: <http://www.hidrocolonix.com/colon.jpg>

O epitélio colorretal possui algumas funções como: absorção de água, fermentação, formação da massa fecal e produção de muco. A lâmina própria é constituída por tecido conjuntivo, contém glândulas e componentes do sistema circulatório. Já a camada muscular da mucosa é composta por músculo liso e apresenta camadas circulares e longitudinais. A submucosa é composta por tecido conjuntivo mais denso, que sustenta fisicamente a mucosa e oferece suprimento vascular, linfático e terminações nervosas. Em seguida, tem-se a muscular externa que é constituída por uma camada circular interna e uma camada longitudinal externa

de músculo liso, rede vascular e a rede nervosa que fica entre as camadas (Figura 2) (GUYTON; HALL, 2011; JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2008).

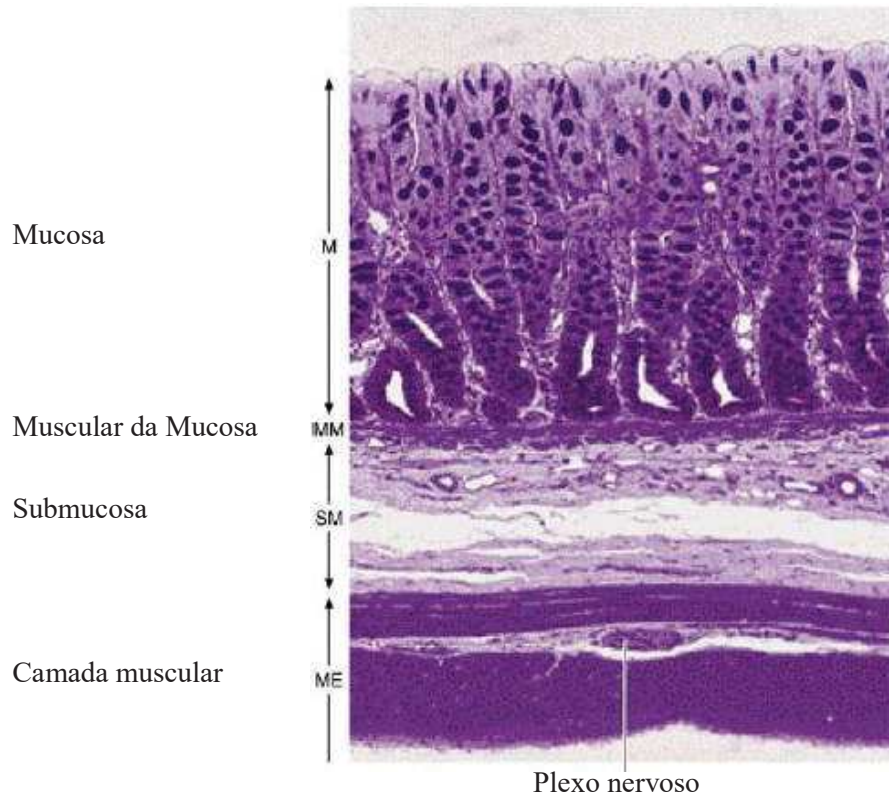


Figura 2. Fotomicrografia mostrando corte histológico de intestino grosso. Modificado de JUNQUEIRA E CARNEIRO (2008).

2.2 Carcinoma Colorretal (CCR)

2.2.1 Epidemiologia do CCR

A incidência de CCR aumentou nos últimos tempos e esse aumento é atribuído principalmente à melhoria no diagnóstico, o tratamento e à vigilância médica desses tumores. Esses fatores tiveram impacto na expectativa de vida média na maioria das regiões do mundo. O diagnóstico dos pacientes com CCR esporádico costuma ser feito após os 50 anos e corresponde aproximadamente 75% dos pacientes com câncer colorretal (KUIPERS et al., 2016).

Ao analisar a frequência dos casos de CCR na população brasileira, assim como em outros países, observa-se que este tipo de câncer encontra-se entre os cinco primeiros mais incidentes (FERLAY et al., 2015). No mundo todo, o CCR é a quarta causa de morte por

câncer, sendo o segundo tipo de câncer mais encontrado em mulheres e o terceiro tipo mais comumente encontrado em homens (GLOBOCAN, 2012).

A estimativa de incidência mundial de CCR reporta 1.360.602 novos casos, em 2018, sendo 746.298 em homens e 614.304 em mulheres, segundo a *International Agency for Research on Cancer* (IARC) (GLOBOCAN, 2018). A estimativa de incidência brasileira de CCR, em 2016, foi de 34.280 casos, sendo 16.660 em homens e 17.620 em mulheres, segundo o Instituto Nacional do Câncer (INCA) (INCA, 2016). Em Goiás, estima-se que a cada 100.000 habitantes 420 homens e 520 mulheres possam desenvolver este tipo de câncer (INCA, 2016).

A taxa de mortalidade mundial por CCR foi estimada em 693.933 mortes, em 2018, 373.639 em homens e 320.294 em mulheres, e variações de distribuição são registradas de acordo com o continente avaliado. Em ordem decrescente, a Ásia liderou com 331.615, mortes, seguida pela Europa com 214.866 mortes, América do Norte com 63.465 mortes, América Latina e Caribe com 48.727 mortes, África com 29.372 mortes e Oceania com 5.888 mortes (WHO, 2018).

Dados brasileiros indicam que a taxa de mortalidade, no ano de 2011, foi de 17.198 mortes, sendo 8.659 em homens e 8.538 em mulheres, constituindo um sério problema de saúde pública (DATASUS, 2013). Do total de mortes 10.966 foram por neoplasia maligna do cólon, 4.941 por neoplasia maligna do reto e 1.291 por neoplasia maligna da junção reto-sigmóide. Esta taxa variou de acordo com faixas etárias, com valores de 657 mortes até os 39 anos, 1.317 mortes entre 40 e 49 anos, 2.843 mortes entre 50 e 59 anos, 4.349 mortes entre 60 e 69 anos, 4.279 mortes entre 70 e 79 anos, 3.752 mortes entre 80 e 89 anos e uma morte com idade não identificada (DATASUS, 2013). Em Goiás, a taxa de mortalidade por CCR, para o ano de 2011, foi de 455 mortes, sendo 241 em homens e 214 em mulheres (DATASUS, 2013).

2.2.2 Fatores de risco

Fatores genéticos e ambientais desempenham papel importante no desenvolvimento do CCR. O risco aumenta em indivíduos que apresentam algum membro da família de primeiro grau com CCR. Uma parte da população com CCR é afetada por alguma síndrome hereditária, responsável por cerca de 5 a 10% deste tipo de câncer (KUIPERS et al., 2016). Dentre os fatores genéticos (hereditários) associados ao CCR destacam-se as síndromes que

predispõem ao aparecimento de pólipos intestinais e a doença inflamatória intestinal (BYRNE; TSIKITIS, 2018).

O risco para o desenvolvimento de CCR, nos portadores da síndrome de Lynch, varia de 15-17% (DIENSTMANN et al., 2017). A síndrome de Lynch ou Câncer Colorretal Hereditário Sem Polipose (HNPCC) é uma doença autossômica dominante caracterizada por mutações nos genes que reparam o pareamento errôneo de bases nitrogenadas na estrutura do DNA (genes *Mismatch Repair: MLH1, MSH2, MSH6, PMS2*) ou deleções germinativas no gene *EPCAM* (resultando na perda da expressão da proteína MSH2) que é também responsável pelo reparo do DNA (WEINBERG; MARSHALL; SALEM, 2017). O diagnóstico para este tipo de câncer é baseado nos critérios de Amsterdam e Bethesda, que incluem o histórico familiar e idade precoce de acometimento (BYRNE; TSIKITIS, 2018).

A Polipose Adenomatosa Familiar (FAP) é causada pela mutação no gene *APC* (cromossomo 5q21), sendo responsável por pelo menos 1% dos casos de CCR. Nesta doença, o paciente herda de um dos pais uma cópia do gene *APC* mutado, gerando uma proteína com alteração funcional e/ou estrutural e consequentemente com reduzida capacidade supressora tumoral (KUIPERS et al., 2016). O diagnóstico se baseia no histórico familiar e no número de pólipos retirados do intestino, sendo os portadores desta doença submetidos à vigilância colonoscópica a cada ano. Dependendo do seguimento do paciente, quanto maior a quantidade de pólipos maior o risco de desenvolver o CCR (XIRASAGAR et al., 2015).

A doença inflamatória intestinal (do inglês: *Inflammatory Bowel Disease; IBD*), relacionada à colite crônica pode aumentar o risco para o desenvolvimento de câncer colorretal. Essa doença só faz parte de 1,06% (IC 95%; 1,05-3,1%) dos CCR na população ocidental (JESS et al., 2012). A incidência de CCR em pacientes que apresentam histórico de IBD pode diminuir pelo uso de antiinflamatórios (CASTAÑO-MILLA; CHAPARRO; GISBERT, 2014; JESS et al., 2012).

Apesar das causas genéticas conhecidas, a maioria dos casos de CCR é de origem multifatorial, incluindo causas ambientais. Entende-se por ambiental aquilo que abrange fatores culturais, sociais e de estilo de vida correspondendo a cerca de 90% dos casos de câncer (ZAMPINO et al., 2009). O aumento de casos de CCR nos últimos tempos justifica-se pelo fato de que a população está envelhecendo mais e que apresenta mudanças no estilo de vida, como dieta (pobre em fibras), sedentarismo, tabagismo e alcoolismo (Quadro 1) (HAGGAR; BOUSHEY, 2009).

A dieta rica em gordura animal é um considerável fator de risco para o desenvolvimento do CCR (BOYLE; LANGMAN, 2000). O alto consumo de carne vermelha bem passada na dieta também pode contribuir para o desenvolvimento de CCR, com aumento estimado de 1,16 vezes a cada 100g ingerido por dia (SONG; GARRETT; CHAN, 2015). Acredita-se que os hidrocarbonetos formados durante o cozimento da carne podem agir como agentes cancerígenos para os indivíduos que consomem esse tipo de carne (SANTARELLI; PIERRE; CORPET, 2008). Uma dieta pobre em frutas e fibras pode aumentar o risco para o desenvolvimento de CCR e muitas substâncias com propriedades anti-carcinogênicas (pectinas e resinas) são encontradas em frutas, verduras, legumes, e grãos integrais que auxiliam no bom funcionamento intestinal (HAGGAR; BOUSHEY, 2009).

Quadro 1. Principais fatores de risco para o desenvolvimento do câncer colorretal.

Fatores de Risco	Relevância	Referências
Síndromes hereditárias	Responsáveis por cerca de 5-10%	KUIPERS et al., 2016
Doença inflamatória intestinal	Uma média de risco de 1,6% (IC 95%; 1,05-3,1) na população ocidental	JEES et al., 2012
Dieta	Dieta rica em fibras e frutas pode reduzir o risco de CCR em 70%	HAGGAR; BOUSHEY, 2009
Consumo de carne vermelha na dieta	Aumento estimado de 1,16 vezes a cada 100g de carne ingerida por dia	SONG; GARRETT; CHAN, 2015
Sedentarismo	O aumento do IMC pode aumentar o risco de desenvolver CCR em 2-3%	WCFR; IARC, 2011
Álcool	Aumenta o risco em 20%	FEDIRKO et al., 2011
Tabagismo	Fumantes são propensos a desenvolver CCR em 18%	BOTTERI et al., 2008

O aumento do índice de massa corporal (IMC) pode aumentar o risco de desenvolver o CCR em 2-3% (WCFR; IARC, 2011). Sendo assim, a atividade física tem grande importância na prevenção do CCR, auxilia na redução dos níveis séricos de insulina, estimula mais o trânsito intestinal e conseqüentemente reduz o tempo em que os alimentos ficam no intestino (SHAW et al., 2018). Além de prevenir, a atividade física ajuda na mudança de hábitos de vida, auxiliando também na diminuição de risco de desenvolvimento do CCR (SHAW et al., 2018).

Estima-se que o consumo de álcool (duas a três unidades por dia) aumente o risco de desenvolver CCR em 20% e o tabagismo também pode causar o mesmo efeito (FEDIRKO et al., 2011; LIANG; CHEN; GIOVANNUCCI, 2009). O consumo regular de álcool é um promotor carcinogênico para a mucosa colorretal, que estimula a proliferação celular e inibe a metilação e o reparo do DNA, que são processos relacionados ao desenvolvimento de CCR. Os metabólitos do álcool, como o acetaldeído, são altamente cancerígenos. Além disso, o álcool é um solvente orgânico, que pode facilitar a entrada de outros metabólitos carcinógenos na célula (PÖSCHL; SEITZ, 2004).

O tabagismo é outro fator que favorece em 18% o desenvolvimento de CCR (BOTTERI et al., 2008). Este hábito proporciona o crescimento de pólipos adenomatosos no intestino. Algumas substâncias cancerígenas como os hidrocarbonetos aromáticos policíclicos encontrados no tabaco são observados na mucosa colônica, junto com outros metabólitos do tabaco que influenciam no crescimento das lesões precursoras (pólipos) (BOTTERI et al., 2008).

2.2.3 Fisiopatologia do CCR

O desenvolvimento do câncer é um processo de várias etapas que pode levar à perda da função de alguns genes supressores e também ao estímulo de oncogenes. As características moleculares de cada câncer ajudam a identificar o seu comportamento, facilitando o estabelecimento de estratégias para as terapias mais efetivas no tumor analisado (HANAHAN; WEINBERG, 2011).

Uma característica importante é que a célula tumoral que origina o CCR está presente na camada basal das criptas do cólon, denominadas células-tronco progenitoras (do inglês: *stem cell* ou *stem cell-like*). Mutações no genoma dessas células levam à formação de células-tronco tumorais que são responsáveis pela iniciação e manutenção do tumor (ZEKI; GRAHAM; WRIGHT, 2011). No intestino grosso podem surgir tanto neoplasias benignas (adenomas), quanto malignas (carcinomas). A maioria dos carcinomas de cólon e reto se desenvolvem a partir dos pólipos que evoluem para adenomas (MUNTEANU; MASTALIER, 2014).

O pólipo é uma pequena massa séssil, que quando cresce pode adquirir uma haste, sendo a maioria definida como não neoplásico de acordo com sua história natural. No entanto, alguns pólipos são resultados de proliferação anormal no epitélio com displasia e são denominados adenomas. Os adenomas representam lesões neoplásicas pré-malignas do

intestino grosso (LUO et al., 2014). Com o tempo, as células do adenoma vão sofrendo alterações, tornando-se mais displásicas. Finalmente, adquirem características de carcinoma com capacidade de ultrapassar a barreira da camada basal (lâmina própria) e atingir a mucosa e a submucosa. Esse processo é dirigido pelo acúmulo de mutações e alterações epigenéticas e pode levar de 10 a 15 anos para se completar, mas pode progredir mais rapidamente em pacientes que apresentam algum histórico de síndrome familiar de predisposição ao câncer colorretal (COHEN et al., 2017).

Os pólipos adenomatosos são classificados em três tipos, incluindo: adenomas tubulares (compostos por glândulas tubulares), adenomas vilosos (contem mais de 50% de projeções vilosas) e adenomas túbulo-vilosos (apresentam tanto glândulas tubulares quanto projeções vilosas) (BOSMAN et al., 2018). As células do adenoma podem sofrer mais alterações que as transformam em carcinoma, adquirindo a capacidade de invasão e com capacidade progressiva de metástase (HILL; MORSON; BUSSEY, 1978).

O modelo originalmente proposto para o CCR, em 1988, por Vogelstein e colaboradores correlacionou mudanças genéticas às alterações histológicas observadas na progressão de adenoma para carcinoma (Figura 3). Esses estudos forneceram informações importantes sobre as alterações nos genes supressores de tumor (gene *APC*, *TP53* e *SMAD4*), oncogenes (gene *KRAS* e a subunidade- α catalítica de *PI3K*) e genes de reparo do DNA (*MMR – Mismatch Repair*) (ROSSI et al., 2005). Desta forma, surgiu a possibilidade de identificar as alterações genéticas correlacionados com o CCR, melhorando o rastreamento, tratamento e possibilitando uma melhor sobrevida para os pacientes portadores dessa doença (VOGELSTEIN et al., 1988).

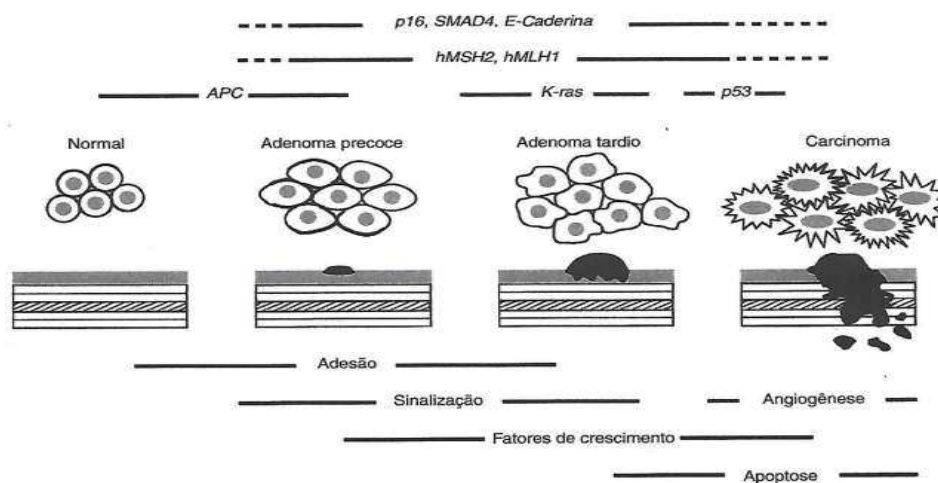


Figura 3. Transição de adenoma para carcinoma. Fonte: ROSSI et al., 2005.

As alterações mais comuns observadas no câncer colorretal incluem aquelas associadas aos genes: *APC*, *KRAS*, *BRAF*, *TP53* e *PIK3CA*, que promovem a carcinogênese colorretal alterando a função das principais vias de sinalização como das proteínas: Wnt- β -catenina, fator de crescimento epidérmico (EGF), proteína quinase ativada por mitógeno (MAPK), fosfatidilinositol-3-quinase (PI3K) e fator de transformação do crescimento beta (TGF- β) (DIENSTMANN et al., 2017).

Um dos mais importantes genes relacionados ao CCR é o fator de crescimento epidérmico (do inglês: *Epidermal Growth Factor*; EGF), que controla a sobrevivência, a proliferação e a diferenciação celular da mucosa intestinal através da ligação ao seu receptor EGFR (do inglês: *Epidermal Growth Factor Receptor*) (PENG et al., 2014). Uma troca de adenina (A) por guanina (G) na posição 61 (rs4444903-61 A>G) da região 5' no gene EGFR resulta em uma variante funcional do EGFR, que leva ao aumento do estímulo do receptor sem a presença de EGF, desempenhando um aumento na transdução de sinais na célula aumentando a suscetibilidade ao CCR (ZHU et al., 2018).

Estímulos extracelulares levam à ativação da via de transdução de sinais na célula, também conhecida como via MAP-quinase (do inglês: *Mitogen Activated Protein Kinase*; *MAPK*) (Figura 4) (ORTON et al., 2005). Uma subfamília de proteínas específicas que respondem a estímulos extracelulares é a família RAS (*NRAS*, *HRAS* e *KRAS*) que regula a expressão gênica, mobilidade, sobrevivência e proliferação celular (DIENSTMANN et al., 2017). Localizado no braço curto do cromossomo 12, o gene *KRAS* codifica a proteína de peso molecular de 21 kDa conhecida como p21-ras. Em seu estado ativo, a proteína p21-ras fosforila a proteína raf-1, que por sua vez ativa uma cascata de quinases que acabam por ativar fatores de transcrição nuclear como o c-myc. Quando a proteína p21-ras estiver mutada, a via estará sempre ativa, podendo desencadear um processo de sinalização contínuo para a proliferação celular e resultando na suscetibilidade para o CCR (ORTON et al., 2005).

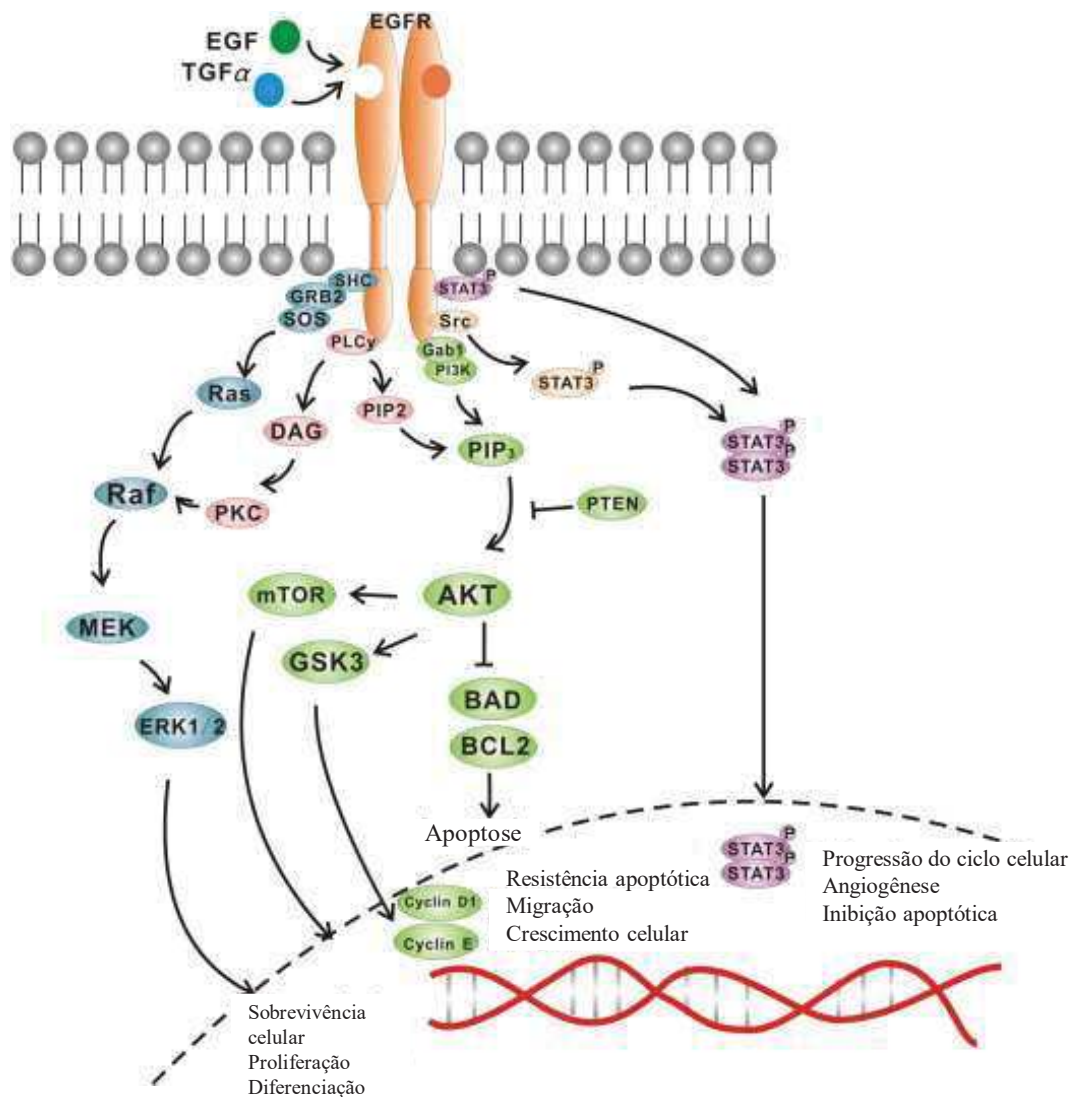


Figura 4. Via da MAP-quinase. Fonte: <https://www.researchgate.net/figure/EGFR>.

O gene *TP53* (do inglês: *tumor protein; p53*), conhecido como guardião do genoma, tem função supressora tumoral e age na regulação do crescimento celular. As mutações no gene *TP53*, localizado no braço curto do cromossomo 17 (17p13), são identificadas em 50% dos carcinomas colorretais. Pacientes com CCR que apresentam mutação no gene *TP53* apresentam pior prognóstico (GRADY; PRITCHARD, 2014).

O gene *BRAF* codifica uma proteína quinase responsável pela proliferação e a sobrevivência celular e faz parte da cascata de sinalização da via MAP-quinase. Uma mutação

no gene *BRAF* leva ao crescimento descontrolado da célula, estando também intimamente correlacionado com o câncer colorretal (BOND; WHITEHALL, 2018).

2.2.4 Estadiamento dos tumores colorretais

Anteriormente, a classificação do CCR era feita por meio da classificação de Dukes, que foi proposta há mais de 80 anos. É composta por dois parâmetros, como: extensão do tumor e acometimento linfonodal. Após algumas modificações esta classificação não foi mais utilizada (DUKES, 1932). Atualmente, o estadiamento do CCR é feito pela classificação da AJCC (do inglês: *American Joint Committee on Cancer*) que prevê a classificação T, relativa à capacidade de invasão do tumor na parede do intestino, a classificação N que verifica o número de linfonodos acometidos por metástase e a classificação M que diz respeito à presença ou ausência de metástase à distância (Quadro 2 e 3) (JESSUP et al., 2017).

Quadro 2. Estadiamento TNM dos CCRs de acordo com a AJCC. Fonte: Modificado de AJCC *Cancer Staging Manual* – 8ª edição – 2017.

Tumor Primário (T)	Linfonodos regionais (N)	Metástase a distância (M)
(TX) Tumor primário inacessível	(NX) Linfonodos regionais inacessíveis	
(T0) Sem evidência do tumor primário	(N0) Sem evidência de linfonodos regionais	(M0) Sem metástase
(Tis) CA <i>in situ</i> intraepitelial ou invasão da lâmina própria	(N1) Metástase em um até três linfonodos pericólicos ou perirretais	
(T1) Tumor invadindo submucosa	(N1a) Metástase em um linfonodo pericólico ou perirretais	(M1) Metástase a distância em um ou mais órgãos distantes do sítio de origem
(T2) Tumor invadindo a muscular própria	(N1b) Metástase em dois ou três linfonodos pericólicos ou perirretais	(M1a) Metástase em um órgão
(T3) Tumor invadindo através da muscular própria até subserosa ou nos tecidos pericólicos não peritonizados ou perirretais	(N1c) Sem evidências de linfonodos regionais, não há tumor na submucosa, mesentério ou tecidos pericólicos ou perirretais	(M1b) Metástase em dois ou mais órgãos
(T4) Tumor invadindo o peritônio visceral e outros órgãos adjacentes	(N2) Metástase em quatro ou mais linfonodos ao longo da cadeia.	(M1c) Metástase para a superfície peritoneal é identificado isoladamente ou em outros sítios ou órgãos
(T4a) Tumor invade peritônio visceral	(N2a) Metástase em quatro ou seis linfonodos ao longo da cadeia.	
(T4b) Tumor invade outros órgãos adjacentes	(N2b) Metástase em sete ou mais linfonodos ao longo da cadeia.	

Quadro 3. Estadiamento dos CCRs de acordo com a AJCC. Fonte: Modificado de AJCC *Cancer Staging Manual* – 8ª edição – 2017.

Estágio AJCC	Tumor primário	Linfonodos Regionais	Metástase a distância
Estágio 0	Tis	N0	M0
Estágio I	T1-T2	N0	M0
Estágio II A	T3	N0	M0
Estágio II B	T4a	N0	M0
Estágio II C	T4b	N0	M0
Estágio III A	T1-T2	N1/N1c	M0
Estágio III A	T1	N2a	M0
Estágio III B	T3-T4a	N1/N1c	M0
Estágio III B	T2-T3	N2a	M0
Estágio III B	T1-T2	N2b	M0
Estágio III C	T4a	N2a	M0
Estágio III C	T3-T4a	N2b	M0
Estágio III C	T4b	N1-N2	M0
Estágio IV A	Qualquer T	Qualque N	M1a
Estágio IV B	Qualquer T	Qualque N	M1b
Estágio IV C	Qualquer T	Qualque N	M1c

2.2.5 Prevenção e Tratamento

Entende-se como prevenção um conjunto de medidas tomadas para diminuir a chance de adquirir uma doença (NAHAS et al., 2013). No caso do CCR, a prevenção primária consiste em diminuir os fatores de risco como: má alimentação, sedentarismo, obesidade, alcoolismo e tabagismo e aumentar os fatores de proteção como: dieta saudável e atividade física, além de se submeter aos exames de triagem na época certa, com objetivo de diminuir a incidência de CCR (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2010).

A prevenção secundária do CCR permite detectar precocemente a neoplasia nos primeiros estágios. Deve-se levar em consideração a fisiopatologia do CCR, o rastreamento e a confirmação diagnóstica (retirada de lesões pré-malignas ou pólipos adenomatosos) para o estabelecimento de tratamentos dos pacientes, com objetivo de diminuir a morbidade e a mortalidade da doença. Já a prevenção terciária do CCR se baseia na definição do tratamento adequado e tem como objetivo minimizar os sintomas da doença e aumentar a sobrevivência do paciente. O diagnóstico de CCR por exames e o tratamento logo na fase inicial da doença auxiliam na organização de estratégias de prevenção primária e secundária (NAHAS et al., 2013; ROSSI et al., 2005).

As estratégias de rastreamento do CCR devem ser tomadas inicialmente pelos fatores de risco e posteriormente quanto aos fatores genéticos (NAHAS et al., 2013). O diagnóstico de CCR por exames e o tratamento logo na fase inicial da doença, auxiliam na organização de estratégias de prevenção primária e secundária. Inicialmente, é recomendada a pesquisa de sangue oculto nas fezes a partir dos 50 anos de idade, sendo o intervalo de rastreio anual ou bienal. Outro exame bastante utilizado é a colonoscopia que é indicado para o rastreio de CCR e lesões polipoides a cada três a cinco anos, dependendo do histórico do paciente (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2010; XIRASAGAR et al., 2015).

O quadro de saúde do paciente, a localização e a extensão do tumor são informações importantes para delinear o tratamento efetivo (NAHAS et al., 2013). A cirurgia é o método de tratamento para pacientes portadores de CCR e procede-se com a retirada do segmento intestinal onde se encontra o tumor, também como a retirada de linfonodos adjacentes para o estadiamento (ROSSI et al., 2005).

A quimioterapia pode ser feita antes ou depois da cirurgia, dependendo do estágio do CCR. A quimioterapia adjuvante é indicada para os pacientes em estágio II e III, com início entre quatro a seis semanas após ressecção do tumor (ROSSI et al., 2005). Quimioterapia paliativa é indicada para os pacientes em estágio IV ao diagnóstico ou com recidiva inoperável. Alguns medicamentos utilizados na quimioterapia de CCR são: Folfox6, Xelox, Flox, Roswell Park, LV5FU2, QUASAR e Capecitabina (YOTHERS et al., 2011). E a radioterapia é mais utilizada para pacientes portadores de câncer retal, em que auxilia no tratamento local da doença. Os critérios RECIST (do inglês: *Response Evaluation Criteria in Solid Tumours*) são utilizados para avaliar a resposta ao tratamento e orientar as próximas condutas (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2010).

2.3 O Papilomavírus humano (HPV)

2.3.1 Organização genômica do HPV

O Papilomavírus humano (HPV) pertence à família *Papillomaviridae* e apresenta estrutura icosaédrica com 50 a 60 nanômetros de diâmetro (BERNARD; VILLIERS; HAUSEN, 2016). São vírus não envelopados com genoma formado por uma molécula de DNA circular de dupla fita, medindo aproximadamente oito quilobases, sendo envolto pelo capsídeo que contem 72 capsômeros em sua estrutura (BIRYUKOV; MEYERS, 2015). Os capsômeros são constituídos por duas proteínas virais, a proteína viral L1 que compõe grande

parte do capsídeo, associada à proteína L2. A formação do capsídeo requer a interação entre os capsômeros através da cauda C-terminal da proteína viral L1 (EL-ALIANI et al., 2017).

A Figura 5 mostra a representação esquemática do genoma do HPV que apresenta três regiões funcionais, sendo uma região reguladora e as outras duas regiões codificadoras de proteínas. A região não codificadora, também chamada de *Long Control Region* (LCR) ou *Upstream Regulatory Region* (URR), contém elementos que regulam e auxiliam na transcrição viral. As regiões codificadoras são divididas em duas partes, sendo uma precoce – *E* (do inglês: *early*) e a outra tardia – *L* (do inglês: *late*). A região precoce codifica várias proteínas que regulam a transcrição e a replicação viral, como também controlam o ciclo celular, conferindo a capacidade do vírus de transformar e imortalizar a célula. Já na região tardia estão presentes genes que codificam as proteínas do capsídeo viral (MUÑOZ et al., 2006).

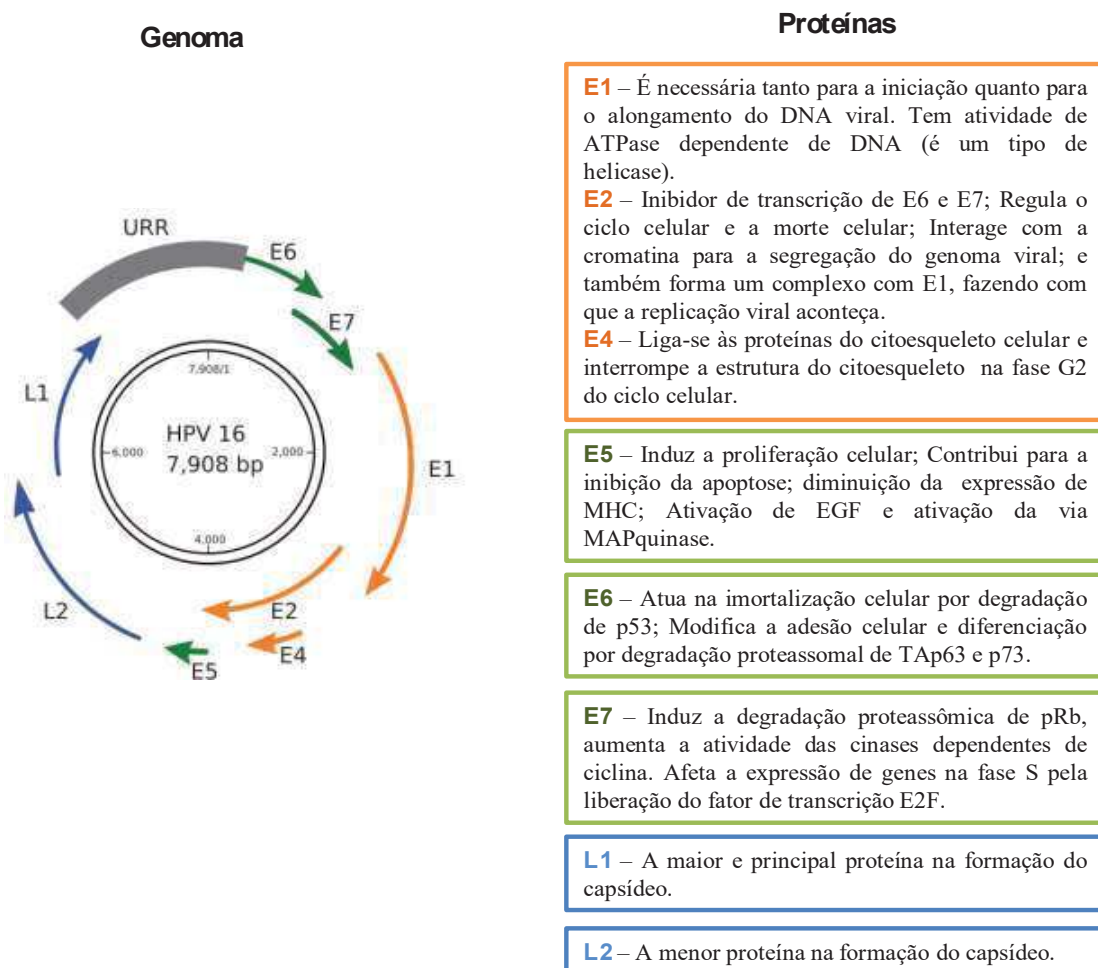


Figura 5. Organização genômica do HPV e suas respectivas proteínas. Fonte: modificado de BRAVO; FÉLEZ-SÁNCHEZ (2015).

2.3.2 Características das proteínas do HPV

A nomenclatura protéica viral não foi feita ao acaso e está relacionada com a etapa em que a transcrição ocorre durante o ciclo de vida viral. Assim como no genoma viral os produtos dos genes virais podem ser divididos em precoces (E1, E2, E4, E5, E6 e E7) e tardios (L1 e L2) (DOORBAR et al., 2015). As proteínas E1 e E2 são encontradas no núcleo da célula hospedeira e estão envolvidas na integração viral. A proteína E1 é uma helicase dependente de ATP (adenosina trifosfato) que se liga e desenrola o DNA para iniciar a replicação. A proteína E2 interage com a cromatina da célula do hospedeiro por meio do sítio de ligação N-terminal e também carrega a helicase (E1) para iniciar a replicação do DNA viral (MCBRIDE, 2017).

A proteína E4 atua na liberação dos vírions da célula, ligando-se às proteínas celulares e desestabilizando o citoesqueleto da célula hospedeira (YAJID et al., 2017). A proteína E5 é hidrófoba e pode ser encontrada no retículo endoplasmático rugoso ou no complexo de Golgi da célula hospedeira e tem como função: estimular a proliferação celular mediada pelo fator de crescimento epidérmico (EGF), inibir a apoptose induzida pelo Ligante de Fator de Necrose Tumoral (TNFL) e pelo ligante CD95 (CD95L), modular os genes envolvidos na adesão e mobilidade celular, intervindo indiretamente no sistema imunológico do hospedeiro (diminuindo a expressão de MHC) (FREITAS et al., 2017; KABSCH et al., 2004).

A proteína E6 é uma oncoproteína do HPV que promove a imortalização celular por meio da degradação proteossômica de p53, modifica a adesão celular por meio de interação com as proteínas celulares e interfere na diferenciação celular (OLMEDO-NIEVA et al., 2018). A oncoproteína E7 do HPV interage com proteínas celulares e inativa pRb, induzindo a instabilidade cromossômica e permitindo a progressão do ciclo celular para a fase S (REUSCHENBACH et al., 2008).

A L1 é a maior proteína do capsídeo viral que se liga posteriormente com L2 para formar o capsídeo. Sua expressão está relacionada ao programa de diferenciação da célula hospedeira (BUCK; DAY; TRUS, 2008). Por fim, a proteína L2 tem função de se ligar ao DNA viral e conduzi-lo até o núcleo da célula hospedeira, além de se ligar a L1 e participar da montagem dos vírions (BREINER et al., 2018).

2.3.3 Classificação dos papilomavírus

A classificação dos papilomavírus foi elaborada pelo Comitê Internacional de Taxonomia Viral (do inglês: *The International Committee on Taxonomy of Viruses*, ICTV), da divisão de virologia, da União Internacional das Associações de Microbiologia (BERNARD; VILLIERS; HAUSEN, 2016). Os termos sorotipo ou cepa não são utilizados para distinguir os papilomavírus, mas sim o termo genótipo (DOORBAR et al., 2015).

Os papilomavírus são classificados de acordo com a espécie de origem e o grau de similaridade dos genomas virais, diferente dos outros tipos de vírus (VILLIERS et al., 2004). As espécies de papilomavírus são denominadas de acordo com o grupo de animais que infectam, exemplificando: *Bovine papillomavirus* (BPV), *Human papillomavirus* (HPV), etc (MUÑOZ et al., 2006). Apesar de sua diversidade biológica os papilomavírus partilham uma organização gênica em comum e são dependentes da infecção do epitélio em diferenciação (DOORBAR et al., 2015).

Conforme foram identificados, os vírus que infectam os humanos foram classificados filogeneticamente em cinco gêneros, incluindo *Alphapapillomavirus*, *Betapapillomavirus*, *Gamapapillomavirus*, *Mupapillomavirus* e *Nupapillomavirus*. Os genótipos que infectam os humanos são divididos de acordo com a sequência de nucleotídeos (gene *L1*, *E6* e *E7*) e variações nesses nucleotídeos menores que 2% constituem variantes de tipos. As diferenças entre 2% até 10% representam novos subtipos e as diferenças superiores a 10% definem genótipos diferentes (VILLIERS et al., 2004). Ultimamente, com métodos mais sensíveis para detecção e análise de DNA, novos tipos de HPV têm sido identificados. Apesar da filogenia fornecer similaridades, os tipos de papilomavirus podem causar patologias distintas. Por exemplo, o genoma do HPV 13 apresenta 78% de similaridade e 22% de diferença com a sequência gênica dos HPV 6 e HPV 11, que causam verrugas anogenitais, mas o HPV 13 não causa a mesma doença (SYRJÄNEN, 2003).

Até então foram classificados mais de 200 tipos de HPVs e cerca de 40 apresentam tropismo para a região anogenital (BRAVO; FÉLEZ-SÁNCHEZ, 2015). Os HPVs de alto risco carcinogênico pertencem ao gênero *Alphapapillomavirus*. Existem 15 genótipos considerados de alto risco carcinogênico e são: HPV-16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68, 73 e 82 e outros 11 genótipos são caracterizados como de baixo risco carcinogênico e estão associados ao aparecimento de verrugas, são eles: HPV-6, 11, 40, 42, 43, 44, 54, 61, 70, 72 e 81 (DOORBAR et al., 2015).

2.3.4 História natural da infecção e mecanismos carcinogênicos por HPV

Normalmente as infecções pelo HPV são assintomáticas, mas podem estar associadas a verrugas, condilomas e dependendo do tipo do HPV contribuir para o desenvolvimento do câncer. Depois da entrada do vírus nas células basais do epitélio do hospedeiro, o genoma viral usa a maquinaria celular para replicar seu DNA e mantém-se em baixo número de cópias na forma de plasmídeos (Figura 6) (BRAVO; FÉLEZ-SÁNCHEZ, 2015).

O HPV apresenta tropismo por células do epitélio escamoso estratificado e epitélio glandular, mas apresenta variações quanto ao sítio anatômico infectado, como por exemplo: mãos, pés, mucosa oral ou genital (DAY; LOWY; SCHILLER, 2003). O tropismo pelas células epiteliais parece ser controlado por elementos genéticos virais da região LCR. Esta região reguladora tem elementos potencializadores que mostram alguma especificidade com o tipo de tecido ou célula e também auxilia no controle da expressão inicial dos genes virais após a infecção viral (MÜNGER; HOWLEY, 2002).



Figura 6. Ação viral e expressão gênica do HPV de acordo com as camadas epiteliais. Fonte: Modificado de BRAVO; FÉLEZ-SÁNCHEZ, 2015.

Outro fator determinante no tropismo dos tecidos é a interação das proteínas do capsídeo com receptores das células do hospedeiro. A interação com receptores de proteoglicanos de sulfato de heparan com carga negativa (HSPG) na membrana basal é considerada como passo inicial que levará à infecção viral. A entrada do vírus na célula

ocorre por meio das proteínas virais do capsídeo (L1 e L2) que se ligam de forma específica aos receptores celulares (HANDISURYA et al., 2013).

O início da infecção pelo HPV acontece nas células da camada basal com capacidade replicativa, fazendo-se necessário a entrada do vírus na camada mais profunda do epitélio. Dessa forma, o HPV se vincula ao ciclo de vida da célula hospedeira. O estágio produtivo da infecção acontece quando as células basais infectadas começam a se dividir e o HPV diminui o programa de diferenciação celular e faz com que a célula hospedeira amplifique o genoma viral e trabalhe para a produção de novas partículas virais (SANJOSÉ; BROTONS; PAVÓN, 2018).

Uma característica importante para o desenvolvimento neoplásico é a persistência do HPV por muitos anos na célula do hospedeiro. Esta característica está associada à três condições que são: alteração genética e epigenética, supressão da imunidade celular e outros cofatores que corroboram com a transformação celular como tabagismo e uso de hormônios (DOORBAR et al., 2015; SCHIFFMAN et al., 2016).

Quando há a integração do genoma do HPV ao material genético da célula hospedeira, há o rompimento do gene viral *E2* e aumento da expressão dos genes virais *E6* e *E7*. Os altos níveis de proteínas virais *E6* e *E7* fazem com que a célula hospedeira entre na fase de síntese (fase S) do ciclo celular, sintetizando o material genético viral necessário para a sua replicação. Em seguida, nas células escamosas maduras, os genes virais *L1* e *L2* são expressos para a montagem do capsídeo viral (SCHIFFMAN et al., 2016).

As oncoproteínas *E6* e *E7* do HPV induzem a carcinogênese por diferentes mecanismos, provocando instabilidade cromossômica e inibindo a atividade supressora tumoral celular (DOORBAR et al., 2015). A oncoproteína viral *E6* atua na degradação e inativação da proteína supressora tumoral (p53) através de sua degradação proteossômica. Além disso, a proteína *E6* tem a capacidade de inibir as vias mediadas por proteínas de controle do ciclo celular, diminuindo a capacidade de diferenciação da célula e corroborando para a hiperplasia (POL; KLINGELHUTZ, 2013).

A oncoproteína viral *E7* se liga a proteína do retinoblastoma (pRb) e inativa sua função impedindo a ligação de pRb ao fator de transcrição (E2F), levando à sua degradação proteossômica, inibindo sua atividade supressora tumoral e resultando a ativação do ciclo celular e a indução de p16^{INK4A} (inibidor de quinase dependente de ciclina) (Figura 7) (REUSCHENBACH et al., 2008; SCHIFFMAN et al., 2016). Além disso, E2F livre atua na progressão do ciclo celular e exerce suas atividades transcricionais como a angiogênese por

meio de VEGF-C/VEGFR-3 (fator de crescimento endotelial – C/ receptor de fator de crescimento endotelial – 3) (ENGELMAN et al., 2013; YIM; PARK, 2005).

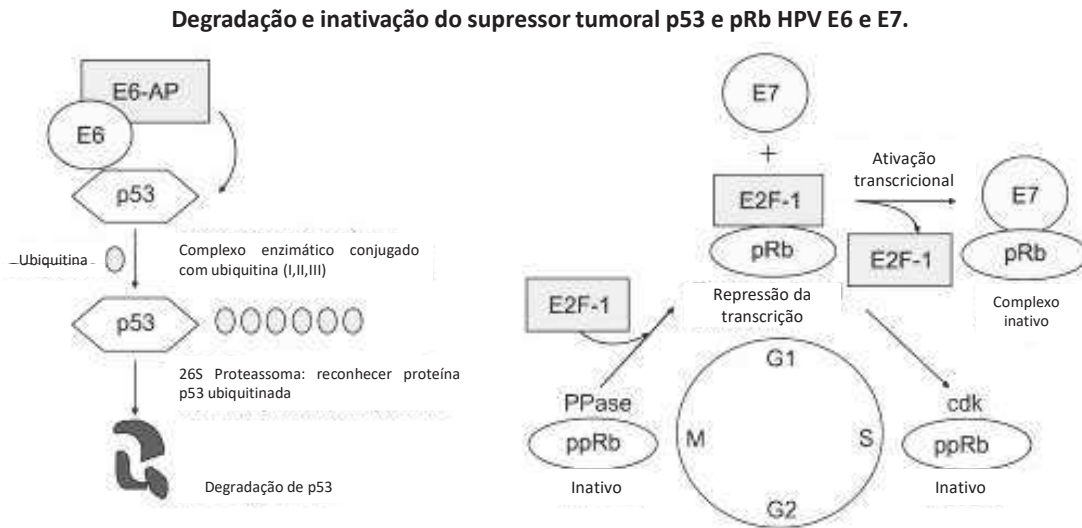


Figura 7. Proteínas virais interferindo nas funções dos supressores tumorais. Fonte: Modificado de YIM; PARK (2005).

A degradação proteossômica é um processo utilizado pelas células para controlar a atividade de proteínas específicas, conjugando tais proteínas com a ubiquina (Ub) e promovendo a degradação proteossômica dessas proteínas (BHATTACHARYYA et al, 2014). Além disso, a degradação proteossômica controla vários processos celulares, como a degradação dos inibidores do complexo ciclina-CDK na passagem da fase G1 para a fase S no ciclo celular (LECHER; GOLDBERG; MITCH, 2006).

A ubiquitina (Ub) é um peptídeo composto por 76 aminoácidos. Sua extremidade C-terminal tem uma glicina que é necessária para a sua conjugação com outras moléculas (SENFT; QI; RONAI, 2018). São necessários três componentes enzimáticos para conjugar cadeias de Ub em proteínas que se destinam à degradação. As enzimas E1 (enzima ativadora de Ub) e E2s (Ub-carreadora ou proteína conjugadora) preparam Ub para a conjugação, mas a enzima chave no processo é a E3 (Ub-proteína ligase), pois é ela que reconhece o substrato proteico específico e catalisa a transferência de Ub (LECHER; GOLDBERG; MITCH, 2006).

Os HPVs de alto risco possuem genomas com capacidade de transformação celular. As oncoproteínas virais E6 e E7 induzem a ubiquitinação de proteínas celulares, diminuindo as chances da célula hospedeira de se recuperar de danos (BERNARD et al., 2011). Um

exemplo é a oncoproteína viral E6 que tem a capacidade de induzir a ubiquinação e a degradação proteossômica de p53, por meio da formação do complexo E6-p53-E6Ap (YIM; PARK, 2005).

2.3.5 Epidemiologia da infecção por HPV

O HPV é uma das principais causas de câncer relacionada a infecção tanto em mulheres quanto em homens, sexualmente ativos. Embora existam variações consideráveis entre estudos e região geográfica. A prevalência global da infecção por HPV em mulheres com citologia cervical normal é de 11,7% (IC 95%; 11,6 – 11,7), baseado em revisões sistemáticas e metanálises pelo Instituto Catala d'Oncologia (ICO) / Centro de Informações da IARC sobre HPV e câncer. Globalmente, a maior prevalência de infecção por HPV é observada na África e o genótipo mais frequente é o HPV 16 (SERRANO et al., 2018).

Em 2012, considerando as estatísticas mundiais, o HPV foi responsável por 630.000 novos casos de câncer, sendo 570.000 (8,6%) em mulheres e 60.000 (0,8%) em homens (MARTEL et al., 2017). Um estudo nacional recente mostrou que a prevalência de infecção por HPV na população brasileira foi de 54,6% e que 38,4% das infecções são causadas por HPV de alto risco oncogênico (WENDLAND et al., 2018).

Sabe-se que vários fatores aumentam o risco de infecção pelo HPV, e podendo tais infecções podem progredir para câncer. Dentre eles têm-se: tabagismo, co-infecção pelo HIV, história reprodutiva e comportamento sexual, incluindo o número de parceiros sexuais ao longo da vida e o histórico de IST (Infecção Sexualmente Transmissível) (AYRES et al., 2017).

No Brasil, o genótipo de HPV mais prevalente é o HPV 16 seguido do genótipo 18 (WENDLAND et al., 2018). Na região central do país, há uma diferença no segundo genótipo mais prevalente, que é o HPV 33 seguido do HPV 18 e por último o HPV 31 (RABELO-SANTOS et al., 2003). Na cidade de Goiânia, a prevalência da infecção em mulheres com alterações citológicas foi de 44,6% e os genótipos mais comuns foram: HPV-16, 51, 31, 52 e 18 (ALVES et al., 2013).

2.3.6 Diagnóstico da infecção pelo HPV

Os métodos de detecção e de genotipagem do material genético do HPV são importantes na elucidação da carcinogênese associada ao vírus (LAUDADIO, 2013). Os HPVs de alto risco apresentam várias habilidades carcinogênicas, logo a sua detecção e

genotipagem podem auxiliar nas estratégias de tratamento e também na prevenção contra o câncer associado ao vírus (EIDE; DEBAQUE, 2012).

Na maioria dos casos, os HPVs não crescem em meio de cultura de tecidos e a sua detecção depende de métodos de biologia molecular (ABREU et al., 2012; VILLA; DENNY, 2006). As lesões associadas ao HPV são comumente diagnosticadas por técnicas citológicas, porém quando associadas aos métodos de biologia molecular permitem o acompanhamento de mulheres com resultados negativos para biópsia, triagem de mulheres com anormalidades citológicas de resultado duvidoso (ASC-US) e na determinação da prevalência de diferentes genótipos que podem auxiliar no impacto da vacinação contra o HPV (ABREU et al., 2012).

O diagnóstico da infecção pelo HPV é feito por meio de técnicas moleculares que detectam os ácidos nucleicos, DNA e RNA, viral nas células infectadas (EIDE; DEBAQUE, 2012). A detecção direta do genoma do HPV pode ser obtida por meio de métodos de hibridização que incluem as técnicas de *Southern blot*, *Northern blot*, *Dot blot*, hibridização *in situ* e sequenciamento do DNA viral (ABREU et al., 2012; VILLA; DENNY, 2006).

As técnicas de *Southern blot* (para DNA) e *Northern blot* (para RNA) são excelentes procedimentos que geram informações de alta qualidade. Mas estas técnicas requerem grandes quantidades de material genético (DNA e RNA) purificado, não são capazes de detectar muitos genótipos de HPV na amostra e consomem tempo (MOLIJIN et al., 2005). O *Dot blot* é uma técnica de excelente qualidade e apresenta boa exatidão e precisão, mas consome tempo e requer grandes quantidades de material genético, com sensibilidade similar a técnica de *Southern blot* (MOLIJIN et al., 2005; VILLA; DENNY, 2006). Um procedimento que é também tecnicamente trabalhoso e que consome tempo é a hibridização *in situ* que utiliza sondas radiomarcadas que se ligam a sequências nucleotídicas virais específicas, que são identificadas nas células e tecidos (VILLA; DENNY, 2006). Apesar dessas técnicas serem de alta utilidade, apresentam: baixa sensibilidade, requerem grande quantidade de DNA purificado e consomem muito tempo (ABREU et al., 2012).

Atualmente, estão disponíveis ensaios de amplificação de ácidos nucleicos que foram aprovados pelo FDA (do inglês, *Food and Drug Administration*) para testes de diagnóstico nos Estados Unidos. Estes ensaios de amplificação de sinal consistem na captura material genético do HPV hibridizado com sondas quimicamente marcadas (*Hybrid Capture*[®] 2, *Digene Corp.*, EUA; *Cervista*[®] HPV, *Hologic, Inc.*, EUA) (ABREU et al., 2012; EIDE; DEBAQUE, 2012; VILLA; DENNY, 2006). Se o HPV estiver presente na amostra analisada, tem-se a hibridização do seu DNA com uma sonda marcada com fluoróforo, com sequência

específica de um ou vários tipos de HPV (EIDE; DEBAQUE, 2012). Apesar de serem de alta qualidade, estes testes possuem tecnologias patenteadas e muitos não foram projetados para genotipagem de um único tipo de HPV (ABREU et al., 2012).

Existem outros métodos moleculares de detecção de HPV que apresentam alta sensibilidade, necessitam de pequenas quantidades de DNA e são relativamente rápidos (EIDE; DEBAQUE, 2012). Os testes de genotipagem do HPV apresentam uma etapa de amplificação do material genético seguida de hibridização com uso de sondas para cada tipo viral (ABREU et al., 2012; MOLIJIN et al., 2005).

Todos os testes moleculares de detecção e genotipagem de HPV requerem uma etapa prévia de extração e purificação do material genético, que pode ser obtido de amostras frescas ou congeladas, e ainda de amostras fixadas em formol e incluídas em parafina (FFPE) (KLOPFLEISCH; WEISS; GRUBER, 2011; PIKOR et al., 2011).

Quando as amostras de tecidos colhidas a fresco não estão disponíveis, faz-se o uso de tecidos congelados (frescos) ou tecidos fixados em formol e embebidos em parafina (FFPE), após a avaliação histopatológica (KOCJAN; HOSNJAK; POLJAK, 2016). A fixação em formol permite a preservação de proteínas e ácidos nucleicos em tecidos, porém a qualidade do ácido nucleico extraído pode ser comprometida (PIKOR et al., 2011). Uma vez que o formaldeído forma ligações cruzadas entre segmentos de cadeia de DNA e entre DNA e proteínas, a extração de DNA por material fixado em formol pode resultar em fragmentação das cadeias de DNA, dificultando a posterior amplificação de grandes fragmentos de cadeia (SANTOS; SAITO; LINHA, 2008).

A extração dos ácidos nucleicos dos tecidos fixados em formol e embebidos em parafina comumente segue as etapas de: remoção de parafina, reidratação com etanol, digestão tecidual utilizando proteinase K, remoção de lipídeos e proteínas usando fenol, precipitação e purificação do DNA e por último a quantificação do DNA é feita utilizando um espectrofotômetro (NanoDrop) (KLOPFLEISCH; WEISS; GRUBER, 2011; PIKOR et al., 2011). Apesar de todos os cuidados na extração, a qualidade do material extraído somente é verificada pela amplificação por PCR de genes de controle endógeno. Para isso, faz-se o uso de primers (oligonucleotídeos iniciadores) que amplificam parte de genes constitutivos humanos como GAPDH (gliceraldeído 3-P desidrogenase), beta-globina humana, tubulina e HLA-DPB1, que comprovam a presença e a qualidade do DNA nas amostras (KOCJAN; HOSNJAK; POLJAK, 2016).

A reação em cadeia da polimerase (do inglês, *Polimerase Chain Reaction*; PCR) é uma técnica muito sensível utilizada na detecção do DNA viral (VILLA; DENNY, 2006). Depois do material extraído, prepara-se uma mistura que contém: desoxirribonucleotídeos (dATP, dCTP, dGTP e dTTP), primers, DNA polimerase (enzima que amplificará a região de escolha), magnésio, tampão e por último a amostra extraída. Esta mistura é colocada em um termo ciclador que fará a desnaturação, anelamento e extensão do DNA pesquisado (ABREU et al., 2012). O DNA do HPV pode ser detectado pela amplificação do material genético viral (DNA) por meio da utilização de primers de 65 a 700 pb (SHIBATA et al., 1988). Os testes que usam primers que amplificam fragmentos pequenos (aproximadamente 65 pares de bases) são mais sensíveis e mais específicos. Os primers mais utilizados nesta técnica são: MY09/MY11, GP05+/6+, SPF10 e PGMY09/11, comumente chamados de primers consenso pois amplificam a região do gene *L1* de diferentes genótipos de HPV (KLETER et al., 1999; KOCJAN et al., 2016; SHIBATA et al., 1988; VILLA; DENNY, 2006). Depois da amplificação do DNA viral pela PCR, o fragmento amplificado é visualizado por eletroforese em gel de agarose ou poliacrilamida, mediante a detecção de uma banda de tamanho específico corada por brometo de etídeo ou nitrato de prata (ABREU et al., 2012).

A RT-PCR (PCR em tempo real) é uma técnica sensível e específica para a detecção e genotipagem tanto do DNA como dos RNA mensageiros do HPV. Esta técnica tem a capacidade de detectar a carga viral, amplificar vários alvos de ácidos nucleicos, amplificar o DNA viral em baixas concentrações, apresenta alta reprodutibilidade e pode ser aplicada em amostras clínicas (ABREU et al., 2012; EIDE; DEBAQUE, 2012; VILLA; DENNY, 2006). O teste Cobas[®] 4800 HPV utiliza a técnica RT-PCR para a detecção do DNA viral e a identificação do genótipo do HPV (ABREU et al., 2012; KOCJAN; HOŠNJAK; POLJAK, 2016).

O teste INNO-LiPPA (Innogenetics NV, Ghent, Bélgica) é baseado na co-amplificação, por meio de PCR, da região de 270 pb do gene *HLA-DPI* humano e de um fragmento 65 pb do gene *L1* do HPV utilizando primers biotinizados SPF-10 (KLETER et al., 1999). Após a amplificação, os amplicons são hibridizados com sondas fixadas em fitas, resultando no aparecimento de bandas coloridas que podem ser lidas a olho nu e interpretadas de acordo com as instruções do kit com uma régua de referência para genótipos de HPV. O ensaio permite a detecção de genótipos conhecidos atualmente como HPV de alto risco ou de provável alto risco (16, 18, 26, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 53, 56, 58, 59, 62, 66, 67, 68,70, 73,

82, 83 e 89), bem como genótipos de HPV de baixo risco (6, 11, 40, 42, 43, 44, 54, 61 e 81) (ABREU et al., 2012; EIDE; DEBAQUE, 2012; KLETER et al., 1999).

Os genes *E6* e *E7* do HPVs de alto risco codificam oncoproteínas virais que modulam as atividades das proteínas celulares que regulam o ciclo celular. Sendo assim, a presença dos transcritos *E6* e *E7* também pode ser utilizada como marcadores de lesões pré-cancerígenas e cancerígenas associadas ao HPV. As principais técnicas que detectam mRNA (RNA mensageiro) para as proteínas *E6* e *E7* são PreTect[®]Proofer e APTIMA[®] HPV Assay. Esses testes baseiam-se na amplificação de um DNA complementar (cDNA) gerado por transcrição reversa a partir de mRNA de *E6* e *E7*. Os mRNAs são reflexo de uma infecção transcricionalmente ativa com expressão dos oncogenes (*E6* e *E7*) do HPV (ABREU et al., 2012; EIDE; DEBAQUE, 2012).

O DNA do HPV encontra-se geralmente na forma episomal, em baixo número de cópias, no início das lesões percussoras. Durante a integração do material viral ao material genômico da célula do hospedeiro, tem-se o rompimento da região do gene viral *E2*, enquanto as regiões *E6* e *E7* encontram-se intactas. O método de escolha para pesquisa da integração do genoma viral é a análise por RT-PCR, que permite verificar a razão entre os níveis de cópias de *E2* em relação a *E6* e *E7*, mostrando uma relação de 1:1 entre estes genes, quando o genoma do HPV não está integrado ao genoma da célula hospedeira (ABREU et al., 2012; EIDE; DEBAQUE, 2012; SHIBATA et al., 1988; VILLA; DENNY, 2006).

2.4 O CCR associado ao HPV

Aproximadamente 15% dos cânceres humanos estão relacionados a uma causa viral. Infecções virais podem contribuir para instabilidade cromossômica, acúmulo de mutações e alterações epigenéticas (MIRZAEI et al., 2017). O HPV já foi consistentemente associado ao câncer do colo uterino (WALBOOMERS et al., 1999; MUÑOZ et al., 2003) e gradativamente vem sendo demonstrado em outros tipos de cânceres, como câncer anal, de pênis, de vulva e vagina e câncer de orofaringe (SERRANO et al., 2018). A relação entre o CCR e o HPV ainda não é bem esclarecida. Suspeita-se que o HPV possa infectar a mucosa do intestino e/ou reto por meio de uma infecção perineal ascendente (CHEN et al., 2015).

Em 1990, Kirgan e colaboradores investigaram pela primeira vez a associação entre o HPV e o CCR. Nesse estudo foi usado a Imuno-histoquímica para detectar a presença de proteínas de HPV em tecidos FFPE. As proteínas do HPV foram detectadas em 97% dos carcinomas que infectaram a mucosa do cólon (KIRGAN et al., 1990). A associação do HPV

com a carcinogênese colorretal tem sido bastante discutida nos últimos tempos (BAANDRUP et al., 2014; DAMIN et al., 2013; IBRAGIMOVA; TSYGANOV; LITVIAKOV, 2018; LORENZON et al., 2011; OMRANI-NAVAI et al., 2017; PEDER et al., 2018; PELIZZER et al., 2016). Uma maior prevalência de HPV é descrita nos adenocarcinomas colorretais comparados a mucosa normal adjacente ao tumor (BAANDRUP et al., 2014; DAMIN et al., 2013; LORENZON et al., 2011; PICANÇO-JUNIOR et al., 2014). Entretanto, uma grande variação de prevalência do vírus, de zero a 85%, é verificada nos tumores estudados (BAANDRUP et al., 2014; BUCCHI et al., 2016; DAMIN et al., 2013; IBRAGIMOVA et al., 2018).

Esta variação na prevalência pode ser justificada por três fatores importantes que são: região geográfica, método de detecção do HPV e o tamanho da amostragem (BAANDRUP et al., 2014; DAMIN et al., 2013; LORENZON et al., 2011) As prevalências globais de HPV em CCRs nas regiões da América do Sul, Ásia e Oriente Médio (32% a 45%) foram maiores do que nas regiões da América do Norte, Europa e Austrália (3%) (BAANDRUP et al., 2014). A variação geográfica é acompanhada também pela diferença de distribuição dos genótipos virais (DAMIN et al., 2013).

Além disso, o método molecular utilizado para a detecção do HPV nos estudos publicados divergem consideravelmente, bem como seus resultados (BAANDRUP et al., 2014; DAMIN et al., 2013; LORENZON et al., 2011). E por último, há uma grande variação quanto ao tamanho da amostragem estudada, sendo que estudos conduzidos em grandes séries (incluindo mais de 100 pacientes) são poucos (LORENZON et al., 2011; YAVUZER et al., 2010). O Quadro 4 mostra de maneira resumida algumas informações sobre os estudos disponíveis que avaliaram a presença do HPV em carcinomas colorretais.

Quadro 4. Características dos estudos (revisão da literatura) associando o HPV ao CCR.

Referencial	Número de estudos avaliados	Número de casos envolvidos	Metodologia Aplicada	Prevalência global do HPV no estudo	Genótipos mais encontrados
Lorenzon et al., 2011	15	1351 casos	PCR (primers genéricos e específicos), hibridização <i>in situ</i> , southern blot e Imuno histoquímica	41,7%	HPV 16 e 18
Damin et al., 2013	16	1436 casos	PCR (primers genéricos, específicos e a combinação dos dois primers)	31,9%	HPV 16, 18 e 33
Baandrup et al., 2014	37	2630 casos	PCR (primers genéricos e específicos), southern blot, dot blot e hibridização <i>in situ</i>	11,2%	HPV 16, 18 e 33
Pelizzer et al., 2016	18	630 casos	PCR (primers genéricos e específicos), hibridização <i>in situ</i> , <i>souther blot</i> e <i>dot blot</i>	51,8%	HPV 16 e 18
Omrani-Navai et al., 2017	17	1337 casos	PCR (primers genéricos e específicos)	16,4%	HPV 16
Ibragimova; Tsyganov; Litviako, 2018	19	2049 casos	PCR ou RT-PCR	16,0%	HPV 16, 18 e 33
Peder et al., 2018	18	1552 casos	PCR	43,0%	HPV 16, 33, 6 e 18

Nos últimos anos, alguns estudos investigaram a prevalência do HPV no CCR e sugeriram que o HPV não esteja associado na carcinogênese colorretal. As frequências do DNA do HPV em carcinomas colorretais nestes estudos mostraram resultados divergentes, zero a 42,2% (AGHAKHANI et al., 2014; BERNABE-DONES et al., 2016; LORENZON et al., 2015; MAHMOUDVAND et al., 2015; MESHKAT et al., 2014; PICANÇO-JUNIOR et

al., 2014; VUITTON et al., 2016). As taxas de prevalência encontradas nestes recentes estudos variam muito por causa dos diferentes iniciadores (MY09/11; GP5+/6+ e SPF 10) de PCR usados para a detecção do vírus. Em muitos casos, a região *L1* do genoma viral é perdida durante a integração ao DNA viral no DNA genômico do hospedeiro, dessa forma esses resultados negativos podem refletir limitações técnicas do método de PCR utilizando primers de consenso para *L1* (MORRIS, 2005). Os genótipos de HPV mais prevalentes, nestes estudos, foram HPV16 e HPV 18 (AGHAKHANI et al., 2014; BERNABE-DONES et al., 2016; LORENZON et al., 2015; MAHMOUDVAND et al., 2015; MESHKAT et al., 2014; PICANÇO-JUNIOR et al., 2014; VUITTON et al., 2016).

No Brasil existem dois estudos publicados que investigam a prevalência do HPV no carcinoma colorretal. Um realizado na região do Sul do país com 60 pacientes que obteve uma prevalência de 63,9% dos casos com HPV e outro na região Norte do país com 41 pacientes e uma prevalência de 28,5% dos casos (DAMIN et al., 2007; PICANÇO-JUNIOR et al., 2014). Os resultados desses estudos são mostrados no Quadro 5. É necessário entender as bases moleculares e a atividade carcinogênica do HPV no CCR, já que o possível papel do vírus ainda é inconclusivo e sua presença no tumor pode ser considerada incidental (LORENZON et al., 2011).

Quadro 5. Estudos recentes associados ao HPV e CCR.

Referencial	Nº de casos envolvidos	Tipo de Amostra	Metodologia Aplicada	Prevalência global do HPV no estudo	Genótipos mais encontrados
Damin et al., 2007 (Brasil-região sul)	62	Congelada	PCR (primers MY09/11; GP5+/6+; região E6 e E7)	63,9%	HPV 16
Aghakhani et al., 2014 (Irã - Ásia)	70	Congelada e FFPE	Nested PCR (primers MY09/11 e GP5+/6-) e PCR (primers PGMY09/11)	0%	Nenhum
Meshkat et al., 2014 (Irã - Ásia)	100	FFPE	PCR (primers GP5+/6+)	1,0%	Não foi identificado o genótipo
Picanço-Junior et al., 2014 (Brasil - Região Norte)	144	FFPE	PCR (GP5+/6+), hibridização do tipo dot-blot; PCR específica HPV 16 e 18 (E6 e E7)	28,5%	HPV 16
Lorenzon et al., 2015 (Roma- Itália)	62	Congelada	Kit INNO-LiPPA HPV; depois RT-PCR com genes de HPV 16 (regiões E2, E4, E5, E6 e E7)	16,9%	HPV16
Mahmoudvand et al., 2015 (Irã - Ásia)	210	FFPE	PCR (primers MY09/11) e PCR com primers específicos para HPV16 e 18 (região E6)	2,9%	HPV 16 e 18
Bernabe-Dones et al., 2016 (Porto Rico - América do Norte)	45	Congelada	Nested PCR (primers PGMY09/11 e GP5+/6-) e PCR (primers específicos região E6 para HPV16)	42,2%	HPV 16
Vuitton et al., 2017 (França - Europa)	467	Congelada e FFPE	RT-PCR (primers da região E6 dos HPV16 e 18) e Kit INNO-LiPPA HPV	0,0%	Nenhum

3. JUSTIFICATIVA

A relação entre o HPV e o CCR ainda não é bem estabelecida. Suspeita-se que o HPV possa infectar a mucosa do cólon e/ou do reto por meio de uma infecção perineal ascendente, a partir dos sítios anogenitais como a linha pectínia do ânus. Alguns estudos consideram a presença do HPV nos CCR como incidental, questionando a real contribuição do vírus na carcinogênese colorretal. Os estudos conduzidos em grandes séries, incluindo mais de 100 pacientes, são poucos.

Além disso, os métodos moleculares de detecção do HPV, apresentados nos estudos publicados, divergem consideravelmente, bem como seus resultados. No Brasil, existem apenas dois trabalhos publicados que investigaram a prevalência do HPV no carcinoma colorretal, sendo um realizado do Sul do país com 62 pacientes, que obteve uma prevalência de 83,3% e o outro em Belém do Pará com 144 casos de carcinoma colorretal e uma prevalência de 28,5% para o HPV.

Esses achados sugerem a necessidade de se entender as bases moleculares e a atividade carcinogênica do HPV no CCR, já que o possível papel do vírus ainda é obscuro e sua presença no tumor considerada casual. A carcinogênese induzida pelo HPV no CCR pode ser investigada com base na detecção do genoma viral nas células do CCR, o que justifica o desenvolvimento deste estudo.

4. OBJETIVOS

4.1 Objetivo geral

Estimar a presença de DNA do HPV em carcinomas colorretais diagnosticados em uma instituição de referência no tratamento do câncer na região Centro-Oeste do Brasil e suas possíveis implicações.

4.2 Objetivo específico

- Descrever os principais aspectos sociodemográficos e clinicopatológico dos carcinomas colorretais diagnosticados na instituição.
- Estimar a prevalência de DNA do HPV em carcinomas colorretais.
- Investigar as associações entre os achados de detecção do HPV e os aspectos clinicopatológicos e sociodemográficos dos casos de CCR.

5. METODOLOGIA

5.1 Tipo de Estudo:

Trata-se de estudo retrospectivo em que foram incluídos dados de 92 pacientes com carcinomas colorretais diagnosticados em uma instituição de referência no tratamento do câncer na região Centro-Oeste do Brasil, no período de um ano. Análises moleculares de tumores colorretais, fixados em formol e incluídos em blocos de parafina foram realizadas para determinar a presença do HPV e de genótipos específicos do vírus. Inicialmente, uma lista com 227 pacientes diagnosticados com câncer colorretal no período de 2008 a 2009, foi consultada no setor de anatomia patológica. Com base nos critérios de inclusão, 92 casos de carcinomas colorretais foram considerados elegíveis. A descrição dos critérios de inclusão e exclusão dos casos é apresentada na Figura 8.

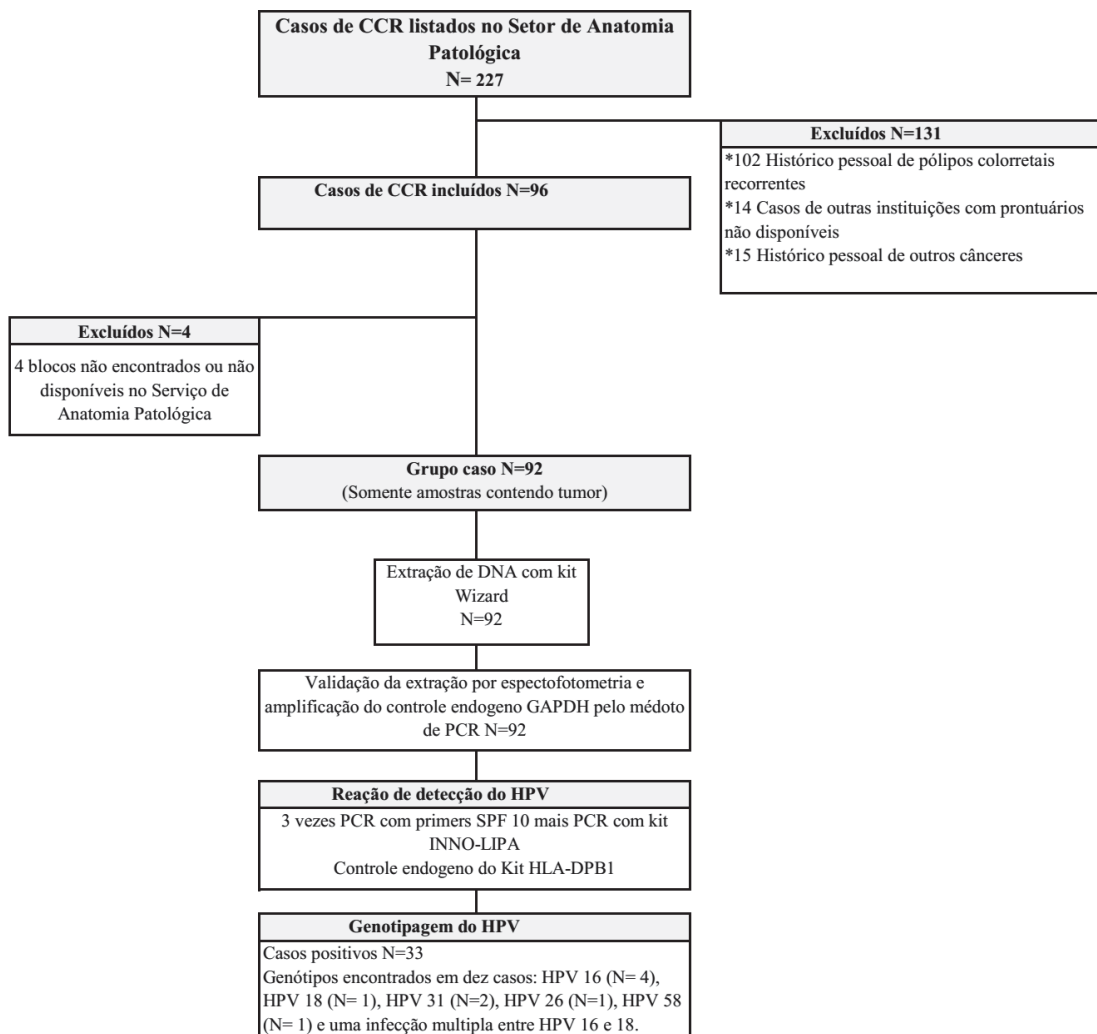


Figura 8. Fluxograma de busca e seleção dos casos de CCR.

Os casos selecionados foram aqueles que apresentaram diagnóstico histopatológico de câncer colorretal confirmado, dados clinicopatológicos nos prontuários e blocos de parafina disponíveis e suficientes para as análises moleculares. Os casos que não foram confirmados como câncer colorretal primário foram excluídos. A sobrevida em 60 meses foi avaliada com base no status do paciente na última consulta médica e o óbito registrado, independente da causa. Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Associação de Combate ao Câncer em Goiás (CEP/ACCG) sob número do parecer: 1.856.467 (Anexo A).

5.2 Preparação das amostras

Após a seleção dos blocos de parafina, contendo os espécimes tumorais, cada bloco foi cortado de forma seriada com o uso de um micrótomo e os cortes acondicionados em microtubos estéreis, de 2 ml, devidamente identificados. As navalhas do micrótomo foram trocadas a cada nova amostra e o equipamento higienizado com álcool etílico a cada novo bloco. A partir de cada bloco, foram preparadas lâminas, contendo fragmentos dos tumores, que foram coradas por hematoxilina-eosina e revisadas por patologista. O diagnóstico de carcinoma colorretal foi confirmado para cada caso, com base nos critérios de classificação dos tumores (HAMILTON; AALTONEN, 2000)

5.3 Extração de DNA

O material cortado foi processado no Laboratório de Diversidade Genética da PUC Goiás para a extração de DNA. Para a remoção da parafina dos blocos foi utilizado o protocolo já estabelecido pelo laboratório, com o Kit comercial Wizard distribuído pela Promega[®]. O protocolo de extração consiste em cinco etapas sendo elas: desparafinização da amostra; lise celular; precipitação de proteínas; precipitação de DNA e hidratação do DNA. O DNA extraído foi quantificado por meio do espectrofotômetro (nanodrop), para verificação da quantidade do material e testado para amplificação de um fragmento do gene humano *GAPDH*. Todo o procedimento laboratorial, desde a manipulação das amostras até a detecção e genotipagem do HPV seguiu as normas de padronização internacional para testes de HPV do Manual de Laboratório da Organização Mundial de Saúde (*Human Papillomavirus Laboratory Manual*) (WHO, 2009).

5.4 Detecção e genotipagem do HPV

A detecção do DNA do HPV foi inicialmente feita por PCR, usando primers SPF 10 que amplificou um fragmento de DNA viral de 65 pb e cada reação foi repetida até três vezes. As detecções e genotipagens do HPV também foram realizadas utilizando o Kit comercial INNO-LIPA HPV Genotyping Extra II[®] (FujirebioEurope, Ghent, Bélgica), de acordo com as instruções do fabricante. O ensaio utiliza oligonucleotídeos iniciadores SPF10, que amplificam uma região de 65 pares de bases da região L1 do genoma viral, seguido da genotipagem do HPV pela técnica de hibridização reversa. O ensaio utilizado permite a detecção de genótipos conhecidos atualmente como HPV de alto risco ou de provável alto risco (16, 18, 26, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 53, 56, 58, 59, 62, 66, 67, 68,70, 73, 82, 83 e 89), bem como genótipos de HPV de baixo risco (6, 11, 40, 42, 43, 44, 54, 61 e 81). Controles

positivos e negativos foram utilizados em todas as etapas da análise molecular. Na detecção de HPV foram considerados positivos os casos com pelo menos três resultados positivos.

Na genotipagem foram consideradas infecções simples, as amostras que apresentaram um único genótipo do HPV. Nos casos de infecções múltiplas por HPV, com pelo menos um genótipo de alto risco, o resultado foi considerado como HPV de alto risco. Nos casos que continham apenas genótipos de baixo risco, a amostra foi considerada como HPV de baixo risco.

5.5 Análise estatística

Os dados sociodemográficos e clinicopatológicos foram coletados em fichas apropriadas e transferidos para planilhas, do Microsoft Excel, versão 2013. O banco de dados foi digitado por duas pesquisadoras independentemente e comparados para verificação dos dados e limpeza do banco. Os dados foram transferidos para programa estatístico *Graph PadPrism* versão 4.0 e analisados por estatística descritiva, a fim de gerar estimativas de prevalência com os respectivos intervalos de confiança. Para a idade do grupo foi calculada a média e o desvio padrão. Para avaliar as possíveis associações entre as variáveis analisadas, foi usado o teste do exato de Fisher, considerando o nível de significância de 5% ($p < 0,05$). O programa OpenEpi, Versão 3, foi utilizado para avaliar o intervalo de confiança da prevalência total do HPV.

6. RESULTADOS

6.1 Aspectos sociodemográficos dos pacientes com CCR

A média de idade dos pacientes analisados foi de $60 \pm 15,6$ anos, variando de 19 a 92 anos. A maioria dos pacientes era do sexo feminino (53,3%) e apresentava idade maior de 50 anos (76,1%). Em relação à procedência do paciente 59,8% eram do interior do estado de Goiás. As características sociodemográficas dos pacientes estão apresentadas conforme Tabela 1.

Tabela 1. Características sociodemográficas de indivíduos com CCR (N 92)

Variáveis	n	%
Idade		
<50	22	23,9
≥50	70	76,1
Sexo		
Feminino	49	53,3
Masculino	43	46,7
Etnia		
Branco	51	55,4
Pardo	37	40,2
Negro	4	4,3
Estado Civil		
Solteiro	44	47,8
União estável	48	52,2
Procedência		
Capital	33	35,9
Região de Goiás	55	59,8
Outros Estados	4	4,3
Tabagismo		
Sim	18	19,6
Não	60	65,2
N.I.	14	15,2
Etilismo		
Sim	9	9,8
Não	69	75,0
N.I.	14	15,2
*N.I.: Não Informado		
Variação de idades	(19-92)	
Média	60	
Desvio Padrão	15,7	

6.2 Asp ctos clinicopatológicos dos pacientes com CCR

O local mais acometido pelo tumor foi o reto (52,2%). A maioria dos tumores apresentou classifica o histológica para adenocarcinoma usual padrão tubular (84,8%). Em rela o ao tamanho do tumor, a maioria foi classificada em T2 e T3 (34,7% e 40,2%). Na maioria dos tumores não houve comprometimento linfonodal N0 (48,9%). Cerca de 80% dos casos não apresentaram metástase   distância. E em rela o ao estadiamento clínico, 28,2% foram classificados como est dio I. As características clinicopatológicas dos pacientes estão apresentadas na Tabela 2.

Tabela 2. Características clinicopatológicas de indivíduos com CCR (N 92).

Variáveis	n	%
Local da Lesão		
Reto	48	52,2
Cólon	44	47,8
Classificação histológica para adenocarcinoma		
Usual padrão tubular	78	84,8
Usual padrao tubular-viloso	9	9,8
Mucinoso	5	5,4
Tratamento realizado		
Químioterapia	43	46,7
Radioterapia	13	14,1
Cirurgia	81	88,0
Tamanho do Tumor		
Tx	11	12,0
Tis	1	1,1
T1	8	8,7
T2	32	34,8
T3	37	40,2
T4	3	3,3
Comprometimento Linfonodal		
NX	11	12,0
N0	45	48,9
N1	17	18,5
N2	19	20,7
Metástase a distância		
M0	80	87,0
M1a	7	7,6
M1b	4	4,3
M1c	1	1,1
Estadiamento		
0	1	1,1
I	26	28,3
IIA	14	15,2
IIIA	6	6,5
IIIB	21	22,8
IIIC	1	1,1
IVA	7	7,6
IVB	4	4,3
IVC	1	1,1
Não avaliado	11	12,0
Óbito registrado		
Sim	44	47,8
Não	48	52,2

6.3 Detecção e genotipagem de HPV

Dentre os 92 casos avaliados, 33 foram positivos para a detecção de DNA do HPV, com uma prevalência de 35,8% (IC95%; 26,8-46,0). Dez desses casos foram genotipados, com detecção do HPV 16 em quatro casos, HPV 31 em dois casos, HPV 18 em um caso, HPV 26 em um caso e HPV 58 em um caso, sendo que houve uma infecção múltipla de HPV 16 e HPV 18.

6.4 Associação entre a presença do HPV e os aspectos sociodemográficos dos pacientes com CCR

As associações entre a presença do DNA do HPV e as características sociodemográficas dos indivíduos portadores de CCR encontram-se descritas na Tabela 3. Não foram observadas diferenças significativas entre as características sociodemográficas dos pacientes portadores de CCR em relação à presença do DNA do HPV nos tumores.

Tabela 3. Características sociodemográficas de indivíduos com e sem HPV.

Variáveis	HPV Positivo (N=33)		HPV Negativo (N=59)		Valor de p *(<i><0,05</i>)
	n	%	n	%	
Idade					
<50	8	24,2	14	23,7	1,000
≥50	25	75,8	45	76,3	
Sexo					
Feminino	18	54,5	31	52,5	1,000
Masculino	15	45,5	28	47,5	
Etnia					
Branco	19	57,6	32	54,2	0,820
Pardo	12	36,4	25	42,4	
Negro	2	6,1	2	3,4	
Estado Civil					
Solteiro	19	57,6	25	42,4	0,190
União estável	14	42,4	34	57,6	
Tabagismo					
Sim	6	18,2	12	20,3	1,000
Não	20	60,6	40	67,8	
Não informado	7	21,2	7	11,9	
Etilismo					
Sim	4	12,1	5	8,5	0,470
Não	22	66,7	47	79,7	
Não informado	7	21,2	7	11,9	

* P<0,05 estatisticamente significativo. Método Teste exato de Fisher

6.5 Associação entre a presença do HPV e os aspectos clinicopatológicos dos pacientes com CCR

As associações entre a presença do DNA do HPV e as características clinicopatológicas dos CCRs encontram-se descritas na Tabela 4. Não foram observadas diferenças significativas entre as características clínico-patológicas dos CCRs em relação à presença do DNA do HPV nos tumores.

Tabela 4. Características clinicopatológicas de indivíduos com e sem HPV.

Variáveis	HPV Positivo (N=33)		HPV Negativo (N=59)		Valor de p *(<i><0,05</i>)
	N	%	N	%	
Local da Lesão					
Reto	19	57,6	29	49,2	0,510
Cólon	14	42,4	30	50,8	
Classificação histológica para adenocarcinoma					
Usual padrão tubular	26	78,8	52	88,1	
Usual padrão tubular-viloso	5	15,2	4	6,8	0,240
Mucinoso	2	6,1	3	5,1	
Tamanho do tumor					
T1s a T2	18	54,5	34	57,6	0,820
T3 a T4	15	45,5	25	42,4	
Comprometimento Linfonodal					
NX a N0	22	66,7	34	57,6	0,500
N1 a N2	11	33,3	25	42,4	
Metástase a distância					
M0	30	90,9	50	84,7	0,520
M1	3	9,1	9	15,3	
Estadiamento (excluindo não avaliado)					
0 a II	14	42,4	27	45,8	1,000
III a IV	13	39,4	27	45,8	
Óbito registrado					
Sim	16	48,5	28	47,5	1,000
Não	17	51,5	31	52,5	

* P<0,05 estatisticamente significativo. Método Teste exato de Fisher

7. DISCUSSÃO

O papel do papilomavirus humano no câncer do colo uterino é bem estabelecido e uma parcela significativa de cânceres anogenitais e de orofaringe também já foi associada ao HPV (SERRANO et al., 2018). Nos últimos 20 anos, um número crescente de estudos investigou a possível associação do HPV aos carcinomas colorretais, entretanto grandes variações na metodologia de detecção do HPV e no tipo de amostras usadas tornam os resultados conflitantes. Este estudo investigou a presença do DNA do HPV em 92 amostras de adenocarcinomas colorretais esporádicos, fixados em formol e incluídos em parafina, usando a reação em cadeia da polimerase (PCR) e posterior genotipagem, usando o kit comercial INNO-LiPA HPV Genotyping Extra II[®] (FujirebioEurope, Ghent, Belgium).

Nossos resultados demonstraram a presença do DNA do HPV em 35,8% (IC 95%; 26,8-46,0) dos carcinomas colorretais analisados. A prevalência do DNA do HPV em CCR relatada em estudos de revisão sistemática e metanálise mostram uma grande variação (0 a 84%) (BAANDRUP et al., 2014; DAMIN et al., 2013; PELIZZER et al., 2016). Uma importante metanálise incluiu 2.630 casos de adenocarcinomas colorretais e demonstrou que a prevalência do HPV no CCR variou de 0% a 84%, com uma prevalência combinada de 11,2% (BAANDRUP et al., 2014). Entretanto, os métodos de detecção de HPV usados nos estudos individuais analisados eram bastante heterogêneos, incluindo métodos de hibridização, como *Southern blot* e *Dot blot*, além de métodos de PCR que empregam os mais diversos conjuntos de primers, o que torna difícil a comparação dos resultados. Uma outra metanálise avaliou somente estudos que empregaram o método de PCR para detecção do DNA do HPV (DAMIN et al., 2013) e mostrou uma prevalência global de 31,9% (IC 95%; 19,3-47,9), semelhante à encontrada em nosso estudo.

Somente dois estudos investigaram a prevalência do HPV nos carcinomas colorretais no Brasil, sendo o mais recente realizado em Bélem do Pará, utilizando primers de consenso GP5+/GP6+, com prevalência de 28,5% (PICANÇO-JUNIOR et al., 2014) e outro realizado na região Sul do país, utilizando primers de consenso MY09/11 e GP5+/GP6+ com *Nested PCR*, que resultou em uma prevalência de 63,9% (DAMIN et al., 2007). Os dois estudos utilizaram conjuntos de primers diferentes daqueles usados em nosso estudo. Os primers denominados SPF 10 amplificam um pequeno fragmento (65 pb) da região *L1* altamente conservada de vários tipos de HPV. Uma vez que nosso estudo avaliou amostras tumorais fixadas em formol e embebidas em parafina e que esse tipo de material costuma resultar em amostras de DNA pouco íntegras e fragmentadas, a amplificação de fragmentos pequenos do

DNA viral oferece maior sensibilidade e confiabilidade ao processo (KLETER et al., 1998). Outra razão que justifica a escolha desse conjunto de primers é que os mesmos iniciadores são empregados no kit comercial INNO-LiPA HPV Genotyping Extra II[®] (FujirebioEurope, Ghent, Belgium), que permite a identificação dos genótipos virais por meio de hibridização reversa (KLETER et al., 1999).

Com a utilização de métodos de detecção do HPV semelhantes ao empregado em nosso estudo, alguns autores relataram uma variação na prevalência de HPV em carcinomas colorretais, com frequência de zero a 33,3% (Quadro 6) (DESCHOOLMEESTER et al., 2010; GIULIANI et al., 2008; GORNICK et al., 2010; LORENZON et al., 2015; VUITON et al., 2016; YANTISS et al., 2009). Entretanto, deve-se ressaltar a heterogeneidade desses estudos com relação ao tamanho da amostra (número de pacientes analisados), o tipo de espécimes estudados (amostras fixadas em formol e incluídas em parafina e amostras congeladas a fresco), bem como as variações geográficas das populações estudadas que refletem nas variações de prevalência de HPV (BAANDRUP et al., 2014; DAMIN et al., 2013).

Principais estudos que utilizaram SPF e INNO LiPA na detecção de HPV					
Autores	Região	Tipo de amostra	Método de detecção	Amostragem	Prevalência de HPV
GIULIANI et al., 2008	Italia	FFPE	SPF10	66	33,3%
YANTISS et al., 2009	USA	FFPE	SPF10	24	0,0%
DESCHOOLMEESTER et al., 2010	Belgium	FFPE	SPF10	232	14,2%
GORNICK et al., 2010	Israel, Espanha e USA	Congelada e FFPE	SPF10	279	0,0%
LORENZON et al., 2015	Itália	Congelada	INNO LiPA	62	16,9%
VUITON et al., 2016	França	Congelada e FFPE	INNO LiPA	467	0,0%

Quadro 6. Estudos que utilizaram métodos de detecção SPF 10 e INNO-LiPA.

Em nosso estudo, quando as características clínicas e patológicas dos pacientes com CCR foram comparadas em relação à presença do HPV, nenhuma diferença significativa foi detectada. De forma similar, outros autores que investigaram esta associação não conseguiram demonstrar associações significativas entre o CCR e a presença do HPV (AGHAKHANI et al., 2014; BERNABE-DONES et al., 2016; LORENZON et al., 2015; MAHMOUDVAND et al., 2015; MESHKAT et al., 2014; PICANÇO-JUNIOR et al., 2014; VUITTON et al., 2016). O número limitado de casos avaliados em cada estudo pode justificar a falta de associação

entre os aspectos clinicopatológico e também a grande variação na prevalência do HPV nos CCRs avaliados (BAANDRUP et al., 2014; DAMIN et al., 2013; LORENZON et al., 2011; YAVUZER et al., 2010). Somente dois estudos descritos na literatura demonstraram associação significativa entre a presença do HPV e o estadiamento e grau de diferenciação dos CCRs (PEREZ et al., 2005; CHENG et al., 1995).

Algumas limitações devem ser reconhecidas no presente estudo, pois como se trata de uma análise retrospectiva, que utiliza informações colhidas de prontuários médicos e que muitas vezes não estão disponíveis, o estudo de associações entre variáveis clínicas foi limitado. Além disso, a utilização de espécimes tumorais fixados em formol e incluídos em parafina resultou em dificuldades na extração e análise do material genético extraído, retardando o tempo de análise e impedindo a obtenção de informações importantes, como a genotipagem de todos os casos positivos para detecção do HPV. Como os espécimes tumorais analisados pertencem aos respectivos pacientes e são guardados no arquivo do setor de anatomia patológica de um serviço de referência, algumas amostras foram excluídas por não apresentarem tecido suficiente (bloco desgastado) para a análise, comprometendo o número de casos avaliados.

A fim de estabelecer o papel do HPV em uma parcela dos carcinomas colorretais, as bases moleculares da carcinogênese induzida pelo HPV precisam ser elucidadas. Para isso, além da presença do DNA do HPV nos espécimes tumorais, é preciso demonstrar a funcionalidade do DNA viral, com presença de infecção transcricionalmente ativa, traduzida pela expressão dos genes virais na forma de RNA mensageiros e suas proteínas correlatas.

A história natural da infecção pelo HPV inclui a entrada do vírus na camada basal do epitélio por meio de micro-abrasões e posterior replicação do genoma viral na forma episossomal, com expressão das oncoproteínas virais (E1, E2, E4, E5, E6 e E7) e das proteínas estruturais (L1 e L2). As oncoproteínas virais (E5, E6 e E7) são reconhecidas por causar imortalização e transformação celular. A oncoproteína E5 já foi descrita por aumentar a reciclagem e a sinalização de EGFR, um fenômeno já descrito em um subgrupo de CCR (SIGISMUND et al., 2018), enquanto as oncoproteínas E6 e E7 são reconhecidas por inativar p53 e pRb, respectivamente. Além disso, a integração do genoma do HPV parece ser uma etapa crucial no processo de carcinogênese.

Com base nos resultados obtidos, é possível concluir que o HPV esteve presente em uma parcela significativa (35,8%) dos carcinomas colorretais, mas que a detecção e a genotipagem de HPV em amostras de CCR representam somente a primeira de uma série de

etapas necessárias para elucidar a associação entre o HPV e a carcinogênese colorretal. Assim, outros estudos incluindo a análise da expressão das oncoproteínas celulares alteradas pela presença do HPV e do padrão de integração do genoma viral são necessários a fim de explicar melhor essa associação.

8. CONCLUSÃO

- De acordo com os resultados obtidos, os carcinomas colorretais acometem homens e mulheres com maior prevalência naqueles indivíduos com idades acima de 50 anos.
- Uma parcela significativa (43,5%) dos carcinomas colorretais avaliados foi diagnosticada em estágios mais avançados (III e IV), justificando a alta taxa de mortalidade observada (47,8%).
- A prevalência do HPV no grupo estudado foi de 35,8% (IC95%;26,8-46,0).
- Não foram detectadas diferenças significativas quanto às características clínico patológicas para os carcinomas colorretais positivos e negativos para o HPV.

9. BIBLIOGRAFIA

- ABREU, A. L. P., SOUZA, R. P., GIMENES, F., & CONSOLARO, M. E. L. (2012). **A review of methods for detect human Papillomavirus infection.** *Virology Journal*, 9(1), 1–9. <https://doi.org/10.1186/1743-422X-9-262>
- AGHAKHANI, A., HAMKAR, R., RAMEZANI, A., BIDARI-ZEREHPPOOSH, F., SABETI, S., GHAVAMI, N., et al. (2014). **Lack of human papillomavirus DNA in colon adenocarcinoma and adenoma.** *Journal of Cancer Research an Therapeutics*, 10(3), 513–534. <https://doi.org/10.4103/0973-1482.137674>
- ALVES, R. R. F., TURCHI, M. D., SANTOS, L. E., GUIMARÃES, E. M. B., GARCIA, M. M. D., SEIXAS, M. S. C., et al. (2013). **Prevalence, genotype profile and risk factors for multiple human papillomavirus cervical infection in unimmunized female adolescents in Goiânia, Brazil: A community-based study.** *BMC Public Health*, 13(1). <https://doi.org/10.1186/1471-2458-13-1041>
- AYRES, A. R. G., TEIXEIRA, M. T. B., MACHADO, M. L. S. M., DUQUE, K. C. D., GAMARRA, C. J., SILVA, G. A., & LEVI, J. E. (2017). **Infecção por HPV em mulheres atendidas pela Estratégia Saúde da Família.** *Revista de Saúde Pública*, 51, 92. <https://doi.org/10.11606/s1518-8787.2017051000065>
- BAANDRUP, L., THOMSEN, L. T., OLESEN, T. B., ANDERSEN, K. K., NORRILD, B., & KJAER, S. K. (2014). **The prevalence of human papillomavirus in colorectal adenomas and adenocarcinomas: A systematic review and meta-analysis.** *European Journal of Cancer*, 50(8), 1446–1461. <https://doi.org/10.1016/j.ejca.2014.01.019>
- BERNABE-DONES, R. D., GONZALEZ-PONS, M., VILLAR-PRADOS, A., LACOURT-VENTURA, M., RODRÍGUEZ-ARROYO, H., FONSECA-WILLIAMS, S., et al. (2016). **High Prevalence of Human Papillomavirus in Colorectal Cancer in Hispanics: A Case-Control Study.** *Gastroenterology Research and Practice*, 2016. <https://doi.org/10.1155/2016/7896716>
- BERNARD, H. U., VILLIERS, E. M., & HAUSEN, H. Z. (2016). **Papillomaviridae DNAs Víruses.** ICTV 9th Report. Web page, Retrieved from https://talk.ictvonline.org/ictv-reports/ictv_9th_report/dsdna-viruses-2011/w/dsdna_viruses/121/papillomaviridae/1/26

- BERNARD, X., ROBINSON, P., NOMINÉ, Y., MASSON, M., CHARBONNIER, S., RAMIREZ-RAMOS, J. R., et al. (2011). **Proteasomal degradation of p53 by human papillomavirus E6 oncoprotein relies on the structural integrity of p53 core domain.** *PLoS ONE*, 6(10), 1–10. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0025981>
- BHATTACHARYYA, S., HOUQING, Y., MIM, C., & MATOUSCHEK, A. (2014). **Regulated protein turnover: Snapshots of the proteasome in action.** *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 15(2), 122–133. <https://doi.org/10.1038/nrm3741>
- BIRYUKOV, J., & MEYERS, C. (2015). **Papillomavirus Infectious Pathways: A Comparison of Systems.** *Viruses*, 7, 4303–4325. <https://doi.org/10.3390/v7082823>
- BOND, C. E., & WHITEHALL, V. L. J. (2018). **How the BRAF V600E Mutation Defines a Distinct Subgroup of Colorectal Cancer: Molecular and Clinical Implications.** *Gastroenterology Research and Practice*, 1–14. <https://doi.org/10.1155/2018/9250757>
- BOSMAN, F. T., CARNEIRO, F., HRUBAN, R. H., & THEISE, N. D. (2018). **WHO Classification of Tumours of the Digestive System.** *IARC* (4 th). IARC. Retrieved from <http://apps.who.int/bookorders/anglais/detart1.jsp?codlan=1&codcol=70&codcch=4003>
- BOTTERI, E., IODICE, S., RAIMONDI, S., MAISONNEUVE, T., & LOWENFELS, A. B. (2008). **Cigarette Smoking and Adenomatous Polyps: A Meta-analysis.** *Gastroenterology*, 134(2), 388–395. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2007.11.007>
- BOYLE, P., & LANGMAN, J. S. (2000). **ABC of colorretal cancer epidemiology.** *Clinical Review*, 321, 230–235. <https://doi.org/10.1016/B0-12-226694-3/00037-X>
- BRAVO, I. G., & FÉLEZ-SÁNCHEZ, M. (2015). **Papillomaviruses: Viral evolution, cancer and evolutionary medicine.** *Evolution, Medicine and Public Health*, 32–51. <https://doi.org/10.1093/emph/eov003>
- BREINER, B., PREUSS, L., ROOS, N., CONRADY, M., LILIE, H., IFTNER, T., & SIMON, C. (2018). **Refolding and in vitro characterization of human papillomavirus 16 minor capsid protein L2.** *Biological Chemistry*. <https://doi.org/10.1515/hsz-2018-0311>
- BUCCHI, D., STRACCI, F., BUONORA, N., & MASANOTTI, G. (2016). **Human papillomavirus and gastrointestinal cancer: A review.** *World Journal of Gastroenterology*, 22(33), 7415–7430. <https://doi.org/10.3748/wjg.v22.i33.7415>

- BUCK, C., DAY, P. M., & TRUS, B. L. (2008). **The papiloma Major Capsid Protein L1.** *Virology*, 23(1), 1–7. <https://doi.org/10.1038/jid.2014.371>
- BYRNE, R. M., & TSIKITIS, V. L. (2018). **Colorectal polyposis and inherited colorectal cancer syndromes.** *Annals of Gastroenterology*, 31, 24–34. <https://doi.org/10.20524/aog.2017.0218>
- CASTAÑO-MILLA, C., CHAPARRO, M., & GISBERT, J. P. (2014). **Systematic review with meta-Analysis: The declining risk of colorectal cancer in ulcerative colitis.** *Alimentary Pharmacology and Therapeutics*, 39(7), 645–659. <https://doi.org/10.1111/apt.12651>
- CHENG, J. Y., SHEU, L. F., MENG, C. L., et al. (1995). **Detection of human papillomavirus DNA in colorretal carcinomas by polymerase chain reaction.** *Gut*. (37), 87-90.
- CHEN, H., CHEN, X.-Z., WATERBOER, T., CASTRO, E. A., & BRENNER, H. (2015). **Viral infections and colorectal cancer: A systematic review of epidemiological studies.** *International Journal of Cancer*, 137(1), 12–24. <https://doi.org/10.1002/ijc.29180>
- CHEN, T.-H., HUANG, C.-C., YEH, K.-T., CHANG, S.-H., CHANG, S.-W., SUNG, W.-W., et al. (2012). **Human papilloma virus 16 E6 oncoprotein associated with p53 inactivation in colorectal cancer.** *World Journal of Gastroenterology*, 18(30), 4051–4058. <https://doi.org/10.3748/wjg.v18.i30.4051>
- COHEN, R., BUHARD, O., CERVERA, P., HAIN, E., DUMONT, S., BARDIER, A., et al. (2017). **Clinical and molecular characterisation of hereditary and sporadic metastatic colorectal cancers harbouring microsatellite instability/DNA mismatch repair deficiency.** *European Journal of Cancer*, 86, 266–274. <https://doi.org/10.1016/j.ejca.2017.09.022>
- DAMIN, D. C., CAETANO, M. B., ROSITO, M. A., SCHWARTSMANN, G., DAMIN, A. S., FRAZZON, A. P., et al. (2007). **Evidence for an association of human papillomavirus infection and colorectal cancer.** *European Journal of Surgical Oncology : The Journal of the European Society of Surgical Oncology and the British Association of Surgical Oncology*, 33(5), 569–574. <https://doi.org/10.1016/j.ejso.2007.01.014>

- DAMIN, D. C., ZIGELMANN, P. K., & DAMIN, A. P. (2013). **Human papillomavirus infection and colorectal cancer risk: A Meta-analysis.** *Colorectal Disease*, 15(8), 420–428. <https://doi.org/10.1111/codi.12257>
- DATASUS. (2013). **Sistema de Informações sobre Mortalidade - SIM Consolidação da base de dados de 2011.** *Coordenação Geral de Informações e Análise Epidemiológica - CGIAE*, 2-12. http://tabnet.datasus.gov.br/cgi/sim/Consolida_Sim_2011.pdf
- DAY, P. M., LOWY, D. R., & SCHILLER, J. T. (2003). **Papillomaviruses infect cells via a clathrin-dependent pathway.** *Virology*, 307(1), 1–11. [https://doi.org/10.1016/S0042-6822\(02\)00143-5](https://doi.org/10.1016/S0042-6822(02)00143-5)
- DESCHOOLMEESTER, V., VAN MARCK, V., BAAY, M., et al. (2010). **Detection of HPV and the role of p16INK4A overexpression as a surrogate marker for the presence of functional HPV oncoprotein E7 in colorectal cancer.** *BMC Cancer*, 117(10).
- DIENSTMANN, R., VERMEULEN, L., GUINNEY, J., KOPETZ, S., TEJPAR, S., & TABERNERO, J. (2017). **Consensus molecular subtypes and the evolution of precision medicine in colorectal cancer.** *Nature Reviews Cancer*, 17(2), 79–92. <https://doi.org/10.1038/nrc.2016.126>
- DOORBAR, J., EGAWA, N., GRIFFIN, H., KRANJEC, C., & MURAKAMI, I. (2015). **Human papillomavirus molecular biology and disease association.** *Reviews in Medical Virology*, 25, 2–23. <https://doi.org/10.1002/rmv>
- DUKES, C. E. (1932). **The classification of cancer of the rectum.** *Diseases of the Colon & Rectum*, 46(6), 605–611. <https://doi.org/10.1007/BF02989012>
- EIDE, M. L., & DEBAQUE, H. (2012). **HPV detection methods and genotyping techniques in screening for cervical cancer.** *Annales de Pathologie*, 32(6), e15–e23. <https://doi.org/10.1016/j.annpat.2012.09.231>
- EL-ALIANI, A., ABDELAZIZ, M., ALAOUI, E., CHAOUI, I., ENNAJI, M. M., & MZIBRI, M. E. (2017). **Open access Naturally occurring capsid protein variants L1 of human papillomavirus genotype 16 in Morocco.** *Bioinformation*, 13(8), 241–248.

ENGELMAN, D., MAYOLI-NÜSSLE, D., MAYRHOFER, C., FÜRST, K., ALLA, V., STOLL, A., et al. (2013). **E2F1 promotes angiogenesis through the VEGF-C/VEGFR-3 axis in a feedback loop for cooperative induction of PDGF-B.** *Journal of Molecular Cell Biology*, 5, 391–403. <https://doi.org/10.1093/jmcb/mjt035>

FEDIRKO, V., TRAMACERE, I., BAGNARDI, V., ROTA, M., SCOTTI, L., ISLAMI, F., et al. (2011). **Alcohol drinking and colorectal cancer risk: An overall and dose-Response meta-analysis of published studies.** *Annals of Oncology*, 22(9), 1958–1972. <https://doi.org/10.1093/annonc/mdq653>

FERLAY, J., SOERJOMATARAM, I., DIKSHIT, R., ESER, S., MATHERS, C., REBELO, M., et al. (2015). **Cancer incidence and mortality - Major patterns in GLOBOCAN 2012, worldwide and Georgia.** *Bulletin of the Georgian National Academy of Sciences*, 136, 359–386. <https://doi.org/10.1002/ijc.29210>

FREITAS, A. C., OLIVEIRA, T. H. A., BARROS-JÚNIOR, M. R., & VENUTI, A. (2017). **HrHPV E5 oncoprotein: Immune evasion and related immunotherapies.** *Journal of Experimental and Clinical Cancer Research*, 36(1), 1–15. <https://doi.org/10.1186/s13046-017-0541-1>

GIULIANI, L., RONCI, C., BONIFACIO, D., et al (2008). **Detection of oncogenic DNA viruses in colorectal cancer.** *Anticancer Res*, (28), 1405-1410.

GLOBOCAN. (2018). **Estimated number of new cases in 2018, Latin America and the Caribbean, prostate cancer, males, all ages.** *Cancer Today*, 413, 2018. Retrieved from <http://gco.iarc.fr/today>

GLOBOCAN, I. (2012). **GLOBOCAN 2012: Colorectal Cancer Estimated Cancer Incidence, Mortality and Prevalence Worldwide in 2012.** Web page, Retrieved from http://globocan.iarc.fr/Pages/fact_sheets_cancer.aspx?cancer=colorectal

GORNICK, M. C., CASTELLSAGUE, X., SANCHEZ, G., et al (2010). **Human papillomavirus is not associated with colorectal cancer in a large international study.** *Cancer Causes Control* (21), 737-743.

GRADY, W. M., & PRITCHARD, C. C. (2014). **Molecular alterations and biomarkers in colorectal cancer.** *Toxicologic Pathology*, 42(1), 124–139. <https://doi.org/10.1177/0192623313505155>

GUYTON, A. C., & HALL, J. E. (2011). **Tratado de medicina Interna** (12^a edição). Rio de Janeiro - RJ: Elsevier Ltd.

HAGGAR, F. A., & BOUSHEY, R. P. (2009). **Colorectal cancer epidemiology: Incidence, mortality, survival, and risk factors.** *Clinics in Colon and Rectal Surgery*, 22(4), 191–197. <https://doi.org/10.1055/s-0029-1242458>

HAMILTON, S. R., & AALTONEN, L. A. (2000). **World Health Organization Classification of Tumours. Pathology and Genetics of Tumours of the Digestive System.** Lyon: IARC Press.

HANAHAN, D., & WEINBERG, R. A. (2000). **The Hallmarks of Cancer.** *Cell*, 100, 57–70. <https://doi.org/10.1007/BF03091804>

HANAHAN, D., & WEINBERG, R. A. (2011). **Hallmarks of Cancer: The Next Generation.** *Cell*, 144, 646–674. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2011.02.013>

HANDISURYA, A., DAY, P. M., THOMPSON, C. D., BUCK, C. B., KWAK, K., RODEN, R. B. S., et al. (2013). **Murine skin and vaginal mucosa are similarly susceptible to infection by pseudovirions of different papillomavirus classifications and species.** *Virology*, 433(2), 385–394. <https://doi.org/10.1016/j.virol.2012.08.035>. Murine

HILL, M. J., MORSON, B. C., & BUSSEY, H. J. R. (1978). **The Etiology of adenoma-carcinoma sequence in large bowel.** *Lancet*, 1, 245–247. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(78\)90487-7](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0140-6736(78)90487-7)

IBRAGIMOVA, M. K., TSYGANOV, M. M., & LITVIAKOV, N. V. (2018). **Human papillomavirus and colorectal cancer.** *Medical Oncology*, 35(11), 0. <https://doi.org/10.1007/s12032-018-1201-9>

INCA. (2016). **Estimativa 2016: Incidência de câncer no Brasil** (159^o edição). Rio de Janeiro - RJ: Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva.

INCA. (2017). **Estimativa 2018. Incidência de câncer no Brasil.** Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva. <https://doi.org/978-85-7318-283-5>

JESS, T., SIMONSEN, J., JORGENSEN, K. T., PEDERSEN, B. V., NIELSEN, N. M., & FRISCH, M. (2012). **Decreasing risk of colorectal cancer in patients with inflammatory bowel disease over 30 years.** *Gastroenterology*, 143(2), 375–381.

<https://doi.org/10.1053/j.gastro.2012.04.016>

JESSUP, J. M., GOLDBERG, R. M., ASARE, E. A., BENSON, A. B., BRIERLEY, J. D., CHANG, G. J., et al. (2017). **AJCC Colon and Rectum. AJCC Cancer Staging Manual.** (8a ed.). Cham: Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-319-40618-3_20

JUNQUEIRA, L. C., & CARNEIRO, J. (2008). **Histologia básica**(11°). Rio de Janeiro - RJ: Guanabara Koogan.

KABSCH, K., MOSSADEGH, N., KOHL, A., KOMPOSH, G., SCHENKEL, J., ALONSO, A., & TOMAKIDI, P. (2004). **The HPV-16 E5 protein inhibits TRAIL- and FasL-mediated apoptosis in human keratinocyte raft cultures.** *Intervirolgy*, 47(1), 48–56. <https://doi.org/10.1159/000076642>

KANTH, P., GRIMMETT, J., CHAMPINE, M., BURT, R., & SAMADDER, J. (2017). **Hereditary Colorectal Polyposis and Cancer Syndromes: A Primer on Diagnosis and Management.** *American Journal of Gastroenterology*, 112(10), 1509–1525. <https://doi.org/10.1038/ajg.2017.212>

KIRGAN, D., MANALO, P., HALL, M., & MCGREGOR, B. (1990). **Association of human papillomavirus and colon neoplasms.** *Archives of Surgery (Chicago, Ill. : 1960)*, 125(7), 862–865. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2164371>

KLETER, B., DOORN, L. J. V., SCHEGGET, J., SCHRAUWEN, L., KRIMPEN, K. V., BURGER, M., HARMSEL, B., QUINT, W. (1998). **Novel short-fragment PCR assay for highly sensitive broad-spectrum detection of anogenital human papillomaviruses.** *Am J. Pathol*, (153), 1731-1739.

KLETER, B., DOORN, L. J. V., SCHRAUWEN, L., MOLIJN, A., SASTROWIJOTO, S., SCHEGGET, J. T., et al. (1999). **Development and clinical evaluation of a highly sensitive PCR-reverse hybridization line probe assay for detection and identification of anogenital human papillomavirus.** *Journal of Clinical Microbiology*, 37(8), 2508–2517.

KLOPFLEISCH, R., WEISS, A. T., & GRUBER, A. D. (2011). **Excavation of a buried treasure--DNA, mRNA, miRNA and protein analysis in formalin fixed, paraffin embedded tissues.** *Histology and Histopathology*, 26(6), 797–810. <https://doi.org/10.14670/HH-26.797>

KOCJAN, B. J., HOSNJAK, L., & POLJAK, M. (2016). **Detection of alpha human papillomaviruses in archival formalin-fixed, paraffin-embedded (FFPE) tissue specimens.** *Journal of Clinical Virology*, 76, S88–S97. <https://doi.org/10.1016/j.jcv.2015.10.007>

KOCJAN, B. J., HOŠNJAK, L., & POLJAK, M. (2016). **Detection of alpha human papillomaviruses in archival formalin-fixed, paraffin-embedded (FFPE) tissue specimens.** *Journal of Clinical Virology*, 76, S88–S97. <https://doi.org/10.1016/j.jcv.2015.10.007>

KUIPERS, E. J., GRADY, W. M., LIEBERMAN, D., SEUFFERLEIN, T., SUNG, J. J., BOELENS, P. G., et al. (2016). **Colorectal cancer.** *Nature Reviews*, 1–51. <https://doi.org/10.1038/nrdp.2015.65.COLORECTAL>

LAUDADIO, J. (2013). **Human papillomavirus detection: Testing methodologies and their clinical utility in cervical cancer screening.** *Advances in Anatomic Pathology*, 20(3), 158–167. <https://doi.org/10.1097/PAP.0b013e31828d1893>

LECHER, S. H., GOLDBERG, A. L., & MITCH, W. E. (2006). **Protein degradation by the ubiquitin-proteasome pathway in normal and disease states.** *Journal of the American Society of Nephrology : JASN*, 17(7), 1807–1819. <https://doi.org/10.1681/ASN.2006010083>

LEON, M. P., BENATTI, P., BORGHI, F., PEDRONI, M., SCARSELLI, A., GREGORIO, C., et al. (2004). **Aetiology of colorectal cancer and relevance of monogenic inheritance.** *Gut*, 53(1), 115–122. <https://doi.org/10.1136/gut.53.1.115>

LIANG, P. S., CHEN, T.-Y., & GIOVANNUCCI, E. (2009). **Cigarette smoking and colorectal cancer incidence and mortality: systematic review and meta-analysis.** *International Journal of Cancer*, 124(10), 2406–2415. <https://doi.org/10.1002/ijc.24191>

LORENZON, L., FERRI, M., PILOZZI, E., TORRISI, M. R., ZIPARO, V., & FRENCH, D. (2011). **Human papillomavirus and colorectal cancer: Evidences and pitfalls of published literature.** *International Journal of Colorectal Disease*, 26(2), 135–142. <https://doi.org/10.1007/s00384-010-1049-8>

LORENZON, L., MAZZETTA, F., PILOZZI, E., UGGERI, G., TORRISI, M. R., FERRI, M., et al. (2015). **Human papillomavirus does not have a causal role in colorectal carcinogenesis.** *World Journal of Gastroenterology*, 21(1), 342–350.

<https://doi.org/10.3748/wjg.v21.i1.342>

LUO, Y., WONG, C.-J., KAZ, A. M., DZIECIATKOWSKI, S., CARTER, K. T., MORRIS, S. M., et al. (2014). **Differences in DNA Methylation Signatures Reveal Multiple Pathways of Progression from Adenoma to Colorectal Cancer Yanxin.** *Gastroenterology*, *147*(2), 418–429. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2014.04.039>.

MAHMOUDVAND, S., SAFAEI, A., ERFANI, N., & SARVARI, J. (2015). **Presence of human papillomavirus DNA in colorectal cancer tissues in Shiraz, Southwest Iran.** *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, *16*(17), 7883–7887. <https://doi.org/10.7314/APJCP.2015.16.17.7883>

MARTEL, C., PLUMMER, M., VIGNAT, J., & FRANCESCHI, S. (2017). **Worldwide burden of cancer attributable to HPV by site, country and HPV type.** *International Journal of Cancer*, *141*(4), 664–670. <https://doi.org/10.1002/ijc.30716>

MCBRIDE, A. A. (2017). **Mechanisms and strategies of papillomavirus replication.** *Biological Chemistry*, *398*(8), 919–927. <https://doi.org/10.1515/hsz-2017-0113>

MESHKAT, M., MEIBODI, N. T., SEPAHI, S., FADAEE, N., SALEHPOUR, M., & MESHKAT, Z. (2014). **The frequency of human papillomaviruses in colorectal cancer samples in Mashhad northeastern Iran.** *Turkish Journal of Medical Sciences*, *44*(3), 501–503. <https://doi.org/10.3906/sag-1303-81>

MIRZAEI, H., SAHEBKAR, A., JAAFARI, M. R., GOODARZI, M., & MIRZAEI, H. R. (2017). **Diagnostic and therapeutic potential of exosomes in cancer: The beginning of a new tale?** *Journal of Cellular Physiology*, *232*(12), 3251–3260. <https://doi.org/10.1002/jcp.25739>.

MOLIJIN, A., KLETER, B., QUINT, W., & DOORN, L. J. V. (2005). **Molecular diagnosis of human papillomavirus (HPV) infections.** *Journal of Clinical Virology*, *32*, 43–51. <https://doi.org/10.1016/j.jcv.2004.12.004>

MORRIS, B. J. (2005). **Cervical human papillomavirus screening by PCR: advantages of targeting the E6/E7 region.** *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*, *43*(11), 1171–1177. <https://doi.org/10.1515/CCLM.2005.203>

MÜNGER, K., & HOWLEY, P. M. (2002). **Human papillomavirus immortalization and transformation functions.** *Virus Research*, 89(2), 213–228. [https://doi.org/10.1016/S0168-1702\(02\)00190-9](https://doi.org/10.1016/S0168-1702(02)00190-9)

MUÑOZ, N., BOSCH, F. X., SANJOSÉ S., HERRERO R., CASTELLSAGUÉ X., SHAH K. V., SNIJDERS P. J., MEIJER C. J. (2003). **Epidemiologic classification of human papillomavirus types associated with cervical cancer.** *The New England Journal of Medicine*, 348(6), 518-527. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa021641>

MUÑOZ, N., CASTELLSAGUÉ, X., GONZÁLEZ, A. B., & GISSMANN, L. (2006). **Chapter 1: HPV in the etiology of human cancer.** *Vaccine*, 24(SUPPL. 3), 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2006.05.115>

MUNTEANU, I., & MASTALIER, B. (2014). **Genetics of Colorectal Cancer.** *Journal of Medicine and Life*, 7(4), 507–511.

NAHAS, S., NAHAS, C., BUSTAMANTE, L., PROLLA, G., & FERLA, M. S. (2013). **Prevenção primária e secundária Diagnóstico e estadiamento.** São Paulo: Permanyer Brasil Publicações. Retrieved from www.permanyer.com

OLMEDO-NIEVA, L., MUÑOZ-BELLO, J. O., CONTRERAS-PAREDES, A., & LIZANO, M. (2018). **The role of E6 spliced isoforms (E6*) in Human Papillomavirus-induced carcinogenesis.** *Viruses*, 10(1), 1–20. <https://doi.org/10.3390/v10010045>

OMRANI-NAVAI, V., ALIZADEH-NAVAEI, R., YAHYAPOUR, Y., HEDAYATIZEDEH-OMRAN, A., ABEDIANKENARI, S., JANBABAIEI, G., & TOGHANI, F. (2017). **Human papillomavirus and gastrointestinal cancer in Iranian population: A systematic review and meta-analysis.** *Caspian Journal of Internal Medicine*, 8(2), 67–75. <https://doi.org/10.22088/acadpub.BUMS.8.2.67>

ORTON, R. J., STURM, O. E., VYSHEMIRSKY, V., CALDER, M., GILBERT, D. R., & KOLCH, W. (2005). **Computational modelling of the receptor-tyrosine-kinase-activated MAPK pathway.** *Biochemical Journal*, 392(2), 249–261. <https://doi.org/10.1042/bj20050908>

PEDER, L. D., SILVA, C. M., BOEIRA, V. L., PLEWKA, J., TURKIEWICZ, M., CONSOLARO, M. E. L., et al. (2018). **Association between Human Papillomavirus and non-cervical genital cancers in Brazil: a systematic review and meta-analysis.** *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention : APJCP*, 19(9), 2359–2371.

<https://doi.org/10.22034/APJCP.2018.19.9.2359>

PELIZZER, T., DIAS, C. P., POETA, J., TORRIANI, T., & RONCADA, C. (2016). **Prevalência de câncer colorretal associado ao papilomavírus humano: uma revisão sistemática com metanálise.** *Revista Brasileira de Epidemiologia*, 19(4), 791–802. <https://doi.org/10.1590/1980-5497201600040009>

PENG, Q., LI, S., QIN, X., LAO, X., CHEN, Z., ZHANG, X., & CHEN, J. (2014). **EGF +61A/G polymorphism contributes to increased gastric cancer risk: Evidence from a meta-analysis.** *Cancer Cell International*, 14, 1–10. <https://doi.org/10.1186/s12935-014-0134-4>

PEREZ, L. O., ABBA, M. C., DULOT, F. N., & GOLIJOW, C. D. (2005). **Evaluation of p53 codon 72 polymorphism in adenocarcinomas of the colon and rectum in La Plata, Argentina.** *World Journal of Gastroenterology*, 12(9), 1426–1429. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16552814>

PICANÇO-JUNIOR, O. M., OLIVEIRA, A. L. T., FREIRE, L. T. M., BRITO, R. B., VILLA, L. L., & MATOS, D. (2014). **Association between human Papillomavirus and colorectal adenocarcinoma and its influence on tumor staging and degree of cell differentiation.** *Arquivos Brasileiros de Cirurgia Digestiva: ABCD = Brazilian Archives of Digestive Surgery*, 27(3), 172–176. <https://doi.org/10.1590/S0102-67202014000300003>

PIKOR, L. A., ENFIELD, K. S. S., CAMERON, H., & LAM, W. L. (2011). **DNA extraction from paraffin embedded material for genetic and epigenetic analyses.** *Journal of Visualized Experiments : JoVE*, (49). <https://doi.org/10.3791/2763>

POL, S. B. V., & KLINGELHUTZ, A. J. (2013). **Papillomavirus E6 oncoproteins.** *Virology*, 445, 115–137. <https://doi.org/10.1016/j.virol.2013.04.026>.Papillomavirus

PÖSCHL, G., & SEITZ, H. K. (2004). **Alcohol and cancer.** *Alcohol and Alcoholism (Oxford, Oxfordshire)*, 39(3), 155–165. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15082451>

RABELO-SANTOS, S. H., ZEFERINO, L., VILLA, L. L., SOBRINHO, J. P., AMARAL, R. G., & MAGALHÃES, A. V. (2003). **Human Papillomavirus Prevalence among Women with Cervical Intraepithelial Neoplasia III and Invasive Cervical Cancer from Goiânia, Brazil.** *Memorias Do Instituto Oswaldo Cruz*, 98(2), 181–184. <https://doi.org/10.1590/S0074->

02762003000200003

REUSCHENBACH, M., WATERBOER, T., WALLIN, K. L., EINENKEL, J., DILLNER, J., HANSIKOVA, E., et al. (2008). **Characterization of humoral immune responses against p16, p53, HPV16 E6 and HPV16 E7 in patients with HPV-associated cancers.** *International Journal of Cancer*, 123(11), 2626–2631. <https://doi.org/10.1002/ijc.23837>

ROSSI, B. M., NAKAGAWA, W. T., FERREIRA, F. O., JUNIOR, S. A., & LOPES, A. (2005). **Câncer de cólon, reto e ânus.** Tecmedd. São Paulo. Retrieved from www.tecmedd.com.br

SANJOSÉ, S., BROTONS, M., & PAVÓN, M. A. (2018). **The natural history of human papillomavirus infection.** *Best Practice and Research: Clinical Obstetrics and Gynaecology*, 47, 2–13. <https://doi.org/10.1016/j.bpobgyn.2017.08.015>

SANTARELLI, R. L., PIERRE, F., & CORPET, D. E. (2008). **Processed meat and colorectal cancer: A review of epidemiologic and experimental evidence.** *Nutrition and Cancer*, 60(2), 131–144. <https://doi.org/10.1080/01635580701684872>

SANTOS, M. C., SAITO, C. P., & LINHA, S. R. (2008). **Extraction of genomic DNA from paraffin-embedded tissue sections of human fetuses fixed and stored in formalin for long periods.** *Pathology, Research and Practice*, 204(9), 633–636. <https://doi.org/10.1016/j.prp.2008.04.005>

SAÚDE, MINISTÉRIO DA (2010). **Caderno de atenção primária. rastramento.** Brasília. Biblioteca Virtual em Saúde do Ministério da Saúde. http://bvsm.sau.gov.br/bvs/publicacoes/caderno_atencao_primaria_29_rastreamento.pdf

SCHIFFMAN, M., DOORBAR, J., WENTZENSEN, N., SANJOSÉ, S., FAKHRY, C., MONK, B. J., et al. (2016). **Carcinogenic human papillomavirus infection.** *Nature Reviews Disease Primers*, 2, 1–20. <https://doi.org/10.1038/nrdp.2016.86>

SENF, D., QI, J., & RONAI, Z. A. (2018). **Ubiquitin ligases in oncogenic transformation and cancer therapy.** *Nature Reviews Cancer*, 18(2), 69–88. <https://doi.org/10.1038/nrc.2017.105>

SERRANO, B., BROTONS, M., BOSCH, F. X., & BRUNI, L. (2018). **Epidemiology and burden of HPV-related disease.** *Best Practice & Research. Clinical Obstetrics &*

Gynaecology, 47, 14–26. <https://doi.org/10.1016/j.bpobgyn.2017.08.006>

SHAW, E., FARRIS, M. S., STONE, C. R., DERKSEN, J. W. G., JOHNSON, R., HILSDEN, R. J., et al. (2018). **Effects of physical activity on colorectal cancer risk among family history and body mass index subgroups: A systematic review and meta-analysis.** *BMC Cancer*, 18(1), 1–15. <https://doi.org/10.1186/s12885-017-3970-5>

SHIBATA, D., FU, Y. S., GUPTA, J. W., SHAH, K. V., ARNHEIM, N., & MARTIN, W. J. (1988). **Detection of human papillomavirus in normal and dysplastic tissue by the polymerase chain reaction.** *Laboratory Investigation; a Journal of Technical Methods and Pathology*, 59(4), 555–559. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2845193>

SHUKLA, S., BHARTI, A. C., MAHATA, S., HUSSAIN, S., KUMAR, R., HEDAU, S., & DAS, B. C. (2009). **Infection of human papillomaviruses in cancers of different human organ sites.** *The Indian Journal of Medical Research*, 130(3), 222–233. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19901431>

SIGISMUND, S., AVANZATO, D., LANZETTI, L. (2018). **Emerging functions of the EGFR in cancer.** *Mol Oncol*, 12(1), 3-20. <http://doi.org/10.1002/1878-0261.12155>

SONG, M., GARRETT, W. S., & CHAN, A. T. (2015). **Nutrients, foods, and colorectal cancer prevention.** *Gastroenterology*, 148(6), 1244–1260. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2014.12.035>. Nutrients

SYRJÄNEN, S. (2003). **Human papillomavirus infections and oral tumors.** *Medical Microbiology and Immunology*, 192(3), 123–128. <https://doi.org/10.1007/s00430-002-0173-7>

TAHERIAN, H., TAFVIZI, F., FARD, Z. T., & ABDIRAD, A. (2014). **Lack of association between human papillomavirus infection and colorectal cancer.** *Przegląd Gastroenterologiczny*, 9(5), 280–284. <https://doi.org/10.5114/pg.2014.46163>

VILLA, L. L., & DENNY, L. (2006). **CHAPTER 7 Methods for detection of HPV infection and its clinical utility.** *International Journal of Gynecology and Obstetrics*, 94(SUPPL. 1). [https://doi.org/10.1016/S0020-7292\(07\)60013-7](https://doi.org/10.1016/S0020-7292(07)60013-7)

VILLIERS, E.-M., FAUQUET, C., BROKER, T. R., BERNARD, H.-U., & ZUR HAUSEN, H. (2004). **Classification of papillomaviruses.** *Virology*, 324(1), 17–27. <https://doi.org/10.1016/j.virol.2004.03.033>

VOGELSTEIN, B., FEARON, E. ., HAMILTON, S. R., KERN, S. E., PREISINGER, A. C., LEPPERT, M., et al. (1988). **Genetic alterations during colorectal-tumor development.** *The New England Journal of Medicine*, 319(9), 525–532. <https://doi.org/10.1056 / NEJM198809013190901>

VUITTON, L., JAILLET, C., JACQUIN, E., MONNIEN, F., HEBERLE, M., MIHAI, M. I., et al. (2016). **Human papillomaviruses in colorectal cancers: A case-control study in western patients.** *Digestive and Liver Disease*, 49(4), 446–450. <https://doi.org/10.1016/j.dld.2016.11.003>

WCRF, & IARC. (2011). **Continuous Update Project Report. Food, Nutrition, Physical Activity, and the Prevention of Colorectal Cancer.** <https://doi.org/10.11263/jsotp1982.14.141>

WALBOOMERS, J. M., JACOBS, M. V., MANOS, M. M., BOSCH, F. X., KUMMER, J. A., SHAH, K. V., SNIJDERS, P. J., PETO, J., MEIJER, C. J., MUÑOZ, N. (1999). **Human papillomavirus is a necessary cause of invasive cervical cancer worldwide.** *The Journal of Pathology*, 189(1), 9-12. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/%28SICI%291096-9896%28199909%29189%3A1%3C12%3A%3AAID-PATH431%3E3.0.CO%3B2-F>

WEINBERG, B. A., MARSHALL, J. L., & SALEM, M. E. (2017). **The Growing Challenge of Young Adults With Colorectal Cancer.** *Oncology (Williston Park, N.Y.)*, 31(5), 381–389. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28516436>

WENDLAND, E. M., CAIERÃO, J., DOMINGUES, C., MARANHÃO, A. G. K., SOUZA, F. M. A., HAMMES, L. S., et al. (2018). **POP-Brazil study protocol: A nationwide cross-sectional evaluation of the prevalence and genotype distribution of human papillomavirus (HPV) in Brazil.** *BMJ Open*, 8(6), 1–6. <https://doi.org/10.1136/bmjopen-2017-021170>

WHO. (2018). **Estimated number of deaths from 2018 to 2040, all cancers, both sexes, all ages.** Retrieved from https://gco.iarc.fr/tomorrow/graphic-bar?type=1&population=900&mode=population&sex=0&cancer=39&age_group=value&apc_male=0&apc_female=0

XIRASAGAR, S., LI, Y.-J., HURLEY, T. G., TSAI, M. H., HARDIN, J. W., HURLEY, D. M., ... GROEN, P. C. DE. (2015). **Colorectal cancer prevention by an optimized**

colonoscopy protocol in routine practice, *136*(6), 731–742.
<https://doi.org/10.1002/ijc.29228>. COLORECTAL

YAJID, A. I., ZAKARIAH, M. A., ZIN, A. A. M., & OTHMAN, N. H. (2017). **Potential Role of E4 Protein in Human Papillomavirus Screening: a Review**. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, *18*(2), 315–319. <https://doi.org/10.22034/APJCP.2017.18.2.315>

YANTISS, R. K., GOODARZI, M., ZHOU, X. K., et al. (2009). **Clinical pathologic and molecular features of early-onset colorectal carcinoma**. *Am J. Surg Pathol*, (33), 572-82.

YAVUSER, D., KARADAYI, N., SALEPCI, T., BALOGLU, H., DABAK, R., & BAYRAMICLI, O. U. (2011). **Investigation of human papillomavirus DNA in colorectal carcinomas and adenomas**. *Medical Oncology*, *28*(1), 127–132.
<https://doi.org/10.1007/s12032-010-9416-4>

YAVUZER, D., KARADAYI, N., SALEPCI, T., BALOGLU, H., DABAK, R., & BAYRAMICLI, O. U. (2010). **Investigation of human papillomavirus DNA in colorectal carcinomas and adenomas**. *Medical Oncology*, *28*(1), 127–132.
<https://doi.org/10.1007/s12032-010-9416-4>

YIM, E.-K., & PARK, J.-S. (2005). **Role of E6,E7 in Carcinogenesis in cervical cancer**. *Cancer Research and Treatment*, *37*(6), 319–324. <https://doi.org/10.4143/crt.2005.37.6.319>

YOTHERS, G., O'CONNELL, M. J., ALLEGRA, C. J., KUEBLER, J. P., COLANGELO, L. H., PETRELLI, N. J., & WOLMARK, N. (2011). **Oxaliplatin As Adjuvant Therapy for Colon Cancer: Updated Results of NSABP C-07 Trial, Including Survival and Subset Analyses**. *Journal of Clinical Oncology*, *29*(28), 3768–3774.
<https://doi.org/10.1200/JCO.2011.36.4539>

ZAMPINO, M. G., LABIANCA, R., BERETTA, G. D., MAGNI, E., GATTA, G., LEONARDI, M. C., et al. (2009). **Rectal cancer**. *Critical Reviews in Oncology/Hematology* *70*, *70*(3), 162–182. <https://doi.org/10.1007/978-3-642-13832-4>

ZEKI, S. S., GRAHAM, T. A., & WRIGHT, N. A. (2011). **Stem cells and their implications for colorectal cancer**. *Nature Reviews Gastroenterology and Hepatology*, *8*, 90–100.
<https://doi.org/10.1038/nrgastro.2010.211>

ZHU, Y., CHEN, Z. H., JIANG, H. G., & LU, B. H. (2018). **The genetic association between EGF A61G polymorphism (rs4444903) and risk of colorectal cancer.** *Medicine*, 98, 1–8. <https://doi.org/10.1097/MD.00000000000014007>.

10. ANEXOS

ASSOCIAÇÃO DE COMBATE
AO CÂNCER DE GOIÁS - ACCG



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: PAPEL DO PAPILOMAVÍRUS HUMANO (HPV) NA CARCINOGENESE COLORRETAL - DETECÇÃO E INTEGRAÇÃO DO GENOMA VIRAL E EXPRESSÃO DE PROTEÍNAS ASSOCIADAS À CARCINOGENESE VIRAL

Pesquisador: VERA APARECIDA SADDI

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 62214616.7.0000.0031

Instituição Proponente: ASSOCIAÇÃO DE COMBATE AO CANCER EM GOIAS

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 1.856.467

Apresentação do Projeto:

O Câncer Colorretal (CCR) é a quarta causa de morte por câncer em todo o mundo e esse número vem crescendo continuamente. A autora do projeto afirma baseada na literatura que o CCR é considerado uma doença multifatorial e acredita-se que os fatores ambientais desempenham um papel mais importante do que a hereditariedade, uma vez que o CCR esporádico corresponde anualmente a cerca de 90% dos casos. É apresentado neste projeto alguns estudos nos quais o HPV é detectado com maior frequência no local do tumor do que na mucosa cólica normal ou no tecido tumoral-adjacente, sugerindo que a infecção pelo HPV apresenta um papel na carcinogênese colorretal, mas essa relação ainda não é bem estabelecida.

O estudo proposto é do tipo caso controle. Será composto de um grupo caso com amostras de carcinomas colorretais e de dois grupos controle (GC), sendo o primeiro grupo controle (GC1) constituído por tecido adjacente ao tumor, mas livre de células neoplásicas dos próprios pacientes incluídos no grupo caso. O segundo grupo controle (GC2) será composto por lesões benignas ou pré-malignas colorretais de outros pacientes, sem carcinoma colorretal.

O grupo a ser analisado deverá incluir 100 casos de carcinomas colorretais e 100 espécimes colorretais sem diagnóstico de carcinoma colorretal. Os blocos contendo os espécimes tumorais e as lesões benignas e pré-neoplásicas serão selecionados a partir dos arquivos do Setor de

Endereço: Rua 239

Bairro: SETOR LESTE UNIVERSITARIO

CEP: 74.605-070

UF: GO

Município: GOIANIA

Telefone: (62)3243-7050

Fax: (62)3243-7050

E-mail: cepaccg@accg.org.br

ASSOCIAÇÃO DE COMBATE AO CÂNCER DE GOIÁS - ACCG



Continuação do Parecer: 1.856.467

Anatomia Patológica do Hospital Araújo Jorge (SAP-HAJ). Os dados clínicos e histopatológicos serão colhidos dos respectivos prontuários, incluindo a idade do paciente, localização do tumor, tipo histopatológico do tumor, grau histológico, tamanho do tumor, comprometimento de linfonodos regionais, presença de metástase à distância e status do paciente na última consulta. Tratando-se de um estudo retrospectivo via prontuário, o presente estudo propõe dispensa de aplicação do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

Os resultados esperados visam uma maior compreensão do papel do HPV na oncogênese colorretal, e as possíveis vias de infecção (contaminação perineal, hematogênica e ou linfática), contribuindo desta forma, para a prevenção e manejo clínico do câncer colorretal, bem como auxiliando no desenvolvimento de novas terapêuticas baseadas no entendimento da biologia molecular desta doença.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo primário: Investigar o possível papel do HPV na carcinogênese colorretal através da detecção do HPV, integração do genoma viral e avaliação da expressão das oncoproteínas virais (E2, E6 e E7) e das proteínas celulares associadas à carcinogênese viral (p16, p53 e pRb) em carcinomas colorretais.

Objetivo secundário: Descrever os principais aspectos clínicos e histopatológicos de CCR diagnosticados nas amostras;

Identificar a presença do HPV e seus genótipos no grupo casos e nos grupos controles e determinar sua prevalência;

Avaliar a integração do genoma viral no grupo com CCR e nos grupos controles;

Avaliar as possíveis associações entre os achados de detecção e genotipagem do HPV e os fatores clínico-patológicos e sócio-demográficos dos grupos analisados;

Avaliar as possíveis associações entre a presença do HPV, a integração do genoma viral e a expressão das oncoproteínas virais E2, E6 e E7 e das proteínas celulares p53, p16 e pRb em amostras de carcinomas colorretais e nos grupos controles;

Avaliar as possíveis associações entre estes achados com os fatores clínico-patológicos dos grupos com e sem carcinomas.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Os benefícios se sobrepõe aos riscos, já que a responsável pelo projeto afirma que os princípios da ética em pesquisa serão cumpridos e que os riscos previstos ou

Endereço: Rua 239

Bairro: SETOR LESTE UNIVERSITARIO

CEP: 74.605-070

UF: GO

Município: GOIANIA

Telefone: (62)3243-7050

Fax: (62)3243-7050

E-mail: cepaccg@accg.org.br

ASSOCIAÇÃO DE COMBATE
AO CÂNCER DE GOIÁS - ACCG



Continuação do Parecer: 1.856.467

transtornos evidentes aos pacientes do estudo são mínimos, uma vez que não haverá contato direto com o paciente e que os achados não influenciarão no tratamento proposto. Além disso, espera-se que o desenvolvimento deste projeto leve à melhor compreensão das bases biológicas do carcinoma colorretal, com a elucidação de mecanismos moleculares envolvidos na carcinogênese induzida pelo HPV, o que poderia proporcionar a identificação de grupos de risco, bem como auxiliar no desenvolvimento de novas terapêuticas baseadas no entendimento da biologia desta doença.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Trata-se de um estudo bem desenhado, com metodologia bem descrita. A pesquisa não apresenta conflitos éticos e demonstra relevância para o cenário da Oncologia.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Todos os termos foram apresentados.

Recomendações:

Não há recomendações

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Não há pendências

Considerações Finais a critério do CEP:

Parecer aprovado

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_820290.pdf	21/11/2016 15:18:01		Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_detalhado.pdf	21/11/2016 15:16:57	VERA APARECIDA SADDI	Aceito
Outros	Lattes_VeraAparecidaSaddi.pdf	21/11/2016 14:10:04	VERA APARECIDA SADDI	Aceito
Outros	Lattes_SilviaHelenaRabelodosSantos.pdf	21/11/2016 14:09:02	VERA APARECIDA SADDI	Aceito
Outros	Lattes_ThalitudeSiqueira.pdf	21/11/2016 14:07:37	VERA APARECIDA SADDI	Aceito
Outros	Lattes_MegmarAparecidadosSantosCarneiro.pdf	21/11/2016 14:07:05	VERA APARECIDA SADDI	Aceito
Outros	Lattes_LarisseSilvaDallaLibera.pdf	21/11/2016	VERA APARECIDA SADDI	Aceito

Endereço: Rua 239

Bairro: SETOR LESTE UNIVERSITARIO **CEP:** 74.605-070

UF: GO **Município:** GOIANIA

Telefone: (62)3243-7050 **Fax:** (62)3243-7050

E-mail: cepaccg@accg.org.br

ASSOCIAÇÃO DE COMBATE
AO CÂNCER DE GOIÁS - ACCG



Continuação do Parecer: 1.856.467

Outros	Lattes_LarisseSilvaDallaLibera.pdf	14:06:31	SADDI	Aceito
Outros	Lattes_JulianaFracalossiPaes.pdf	21/11/2016 14:06:08	VERA APARECIDA SADDI	Aceito
Outros	Lattes_CesarAugustoSamTiagoVilanova Costa.pdf	21/11/2016 14:05:29	VERA APARECIDA SADDI	Aceito
Outros	cartas_e_declaracoes.pdf	21/11/2016 14:04:29	VERA APARECIDA SADDI	Aceito
Folha de Rosto	Folha_de_rosto.pdf	21/11/2016 13:48:25	VERA APARECIDA SADDI	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

GOIANIA, 08 de Dezembro de 2016

Assinado por:
Elismauro Francisco de Mendonça
(Coordenador)

Endereço: Rua 239

Bairro: SETOR LESTE UNIVERSITARIO **CEP:** 74.605-070

UF: GO **Município:** GOIANIA

Telefone: (62)3243-7050

Fax: (62)3243-7050

E-mail: cepaccg@accg.org.br