Mário Penna Journal - molecular and clinical cancer research, Belo Horizonte, v. 3, n.1, p. 72-75, jan./dez. 2025. DOI: 10.61229/mpj.v3i1.76

4ª edição do Simpósio de Iniciação Científica e ao 2º Encontro de Pós-Graduandos do Instituto Mário Penna. 2º Encontro da Rede Mineira de Pesquisa Translacional em Oncologia. 4ª edição do Simpósio Mário Penna de Atualizações em Oncologia

DESAFIOS ANALÍTICOS NA PESQUISA DO HPV EM AMOSTRAS HISTOLÓGICAS FIXADAS EM FORMALINA E EMBEBIDO EM PARAFINA (FFPE) DE CÂNCER DE COLO DE ÚTERO

ANALYTICAL CHALLENGES IN HPV DETECTION IN FORMALIN-FIXED, PARAFFIN-EMBEDDED (FFPE) HISTOLOGICAL SAMPLES OF CERVICAL CANCER

Frederico Augusto Almeida de Castro (a)* (b)* (c)*
NEPI – Núcleo de Ensino Pesquisa e Inovação (Instituto Mário Penna) / PUC-MG - Pontifícia Universidade Católica do Estado de Minas Gerais. ORCID: 0009-0000-4102-3151
E-mail: decxtro@gmail.com

João Pedro Costa Lazzarini Silveira (b)* (c)*
NEPI – Núcleo de Ensino Pesquisa e Inovação (Instituto Mário Penna) / UFMG – Universidade Federal do Estado de Minas Gerais. ORCID: 0009-0007-3189-232X
e-mail: joaopedro.lazzarini9@gmail.com

Kayk Fernando Baldeis de Paula (b)* (c)*
NEPI – Núcleo de Ensino Pesquisa e Inovação (Instituto Mário Penna) / UFMG – Universidade Federal do Estado de Minas Gerais. ORCID: 0009-0004-6611-8957
E-mail: baldeiskayk@gmail.com

Sophia Laís Araújo Fortes (b)* (c)*
NEPI – Núcleo de Ensino Pesquisa e Inovação (Instituto Mário Penna) / UFMG – Universidade Federal do Estado de Minas Gerais. ORCID: 0000-0003-1964-7210
E-mail: sophialais1@gmail.com

Maria Gabrielle de Lima Rocha (a)* (b)* (c)* (d)*
NEPI – Núcleo de Ensino Pesquisa e Inovação (Instituto Mário Penna) / UFMG – Universidade Federal do Estado de Minas Gerais
ORCID: 0000-0002-8033-593X
E-mail: mariagabilr@gmail.com

Palavras-chave: Neoplasias do Colo do Útero, Pesquisa Translacional Biomédica, Biópsia, HPV, DNA Viral

Data de submissão:17/11/2025.
Data de aprovação:13/07/2026.

RESUMO

1. INTRODUÇÃO

O câncer de colo do útero é o terceiro tipo de câncer mais comum em mulheres em todo o mundo, inclusive no Brasil. Foram registrados em 2024, 7.388 óbitos, dele decorrente[1]. Dentre diversos fatores de risco, a infecção persistente pelo Papilomavírus Humano (HPV) de alto risco é o principal fator no desenvolvimento do câncer do colo do útero (CCU)[2]. Até o momento, restam identificados cerca 200 genótipos do HPV, classificados em 50 tipos pelo Comitê Internacional

de Taxonomia de Vírus (ICTV)[3]. Segundo a Agência Internacional de Pesquisa sobre o Câncer (IARC), 40 desses genótipos estão associados a infecções que podem levar ao desenvolvimento de câncer, notadamente o HPV-16 bem como 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58 e 59, sendo os 16 e 18 responsáveis por 70% dos casos[1]. O diagnóstico das lesões neoplásicas do colo do útero é realizado por métodos cito e histopatológicos, sendo os tecidos deste último fixados em formol e embebidos em parafina (FFPE). A utilização destes tecidos armazenados nos laboratórios de anatomia patológica é uma estratégia interessante para a pesquisa, devido ao fácil acesso, entretanto, na literatura científica, existem vários relatos de dificuldades na realização de métodos moleculares utilizando tais amostras. Dentre as dificuldades, pode-se citar a degradação do DNA devido à fragmentação e modificações químicas da molécula, o surgimento de complexos de proteínas e DNA com ligações cruzadas, além de resíduos que inibem a reação de amplificação ou a ação da proteinase K[4]. Tais fatores implicam enormes desafios analíticos na pesquisa molecular do HPV.

2. OBJETIVOS

O objetivo do presente trabalho é avaliar a utilização do kit HPV alto risco Multiplex PCR (Bioclin – Quibasa) na detecção e genotipagem de DNA-HPV alto risco extraído de amostras FFPE.

3. MÉTODOS

Foram analisadas 45 amostras FFPE de diferentes graus de lesões, obtidas entre 2006 e 2011. O período de arquivamento das amostras até o momento da realização das análises moleculares em 2025 variou de 14 a 19 anos. Todas tiveram seu DNA extraído pelo método automatizado (equipamento EZ2®) utilizando-se o kit de extração de purificação em sílica magnética (beads magnéticas) da Qiagen®. A detecção do HPV e sua genotipagem parcial se deu pela amplificação em cadeia de polimerase em tempo real (qPCR – equipamento 7500 da Applied Biosystems™) utilizando o kit de amplificação HPV alto risco Multiplex PCR Bio gene (Bioclin-Quibasa). Os resultados foram comparados com os resultados obtidos por PCR convencional utilizando o kit SPF. Foram analisadas 10 mostras de Neoplasia Intraepitelial Cervical Grau II (NIC II), 07 amostras de Neoplasia Intraepitelial Cervical Grau III (NIC III) e 28 amostras de Carcinoma de Células Escamosas (CCE).

4. RESULTADOS

O HPV foi encontrado em apenas 60% (27/45) das amostras, sendo 78% (18/23) HPV16 positivas, 4% (1/23) HPV18 positivas e 39% (9/23) outros HPVs de alto risco. A concordância dos resultados obtidos na qPCR e na PCR convencional foi de apenas 60% (27/45). O método de qPCR conseguiu identificar o HPV em duas amostras que foram negativas no método de PCR convencional, por sua vez o método de PCR convencional conseguiu encontrar o HPV em 16 amostras, todas negativas na qPCR, 9% (4/45) mostraram-se negativas para a infecção por HPV em ambos os métodos.

5. CONCLUSÃO

O método de qPCR testado (kit Bioclin), desenvolvido para amostras frescas (swab ou raspado), mostrou-se pouco eficaz na detecção do HPV em amostras parafinadas ao contrário do método de PCR convencional utilizando a estratégia SPF. Apesar da qPCR ser considerado um método mais sensível que a PCR convencional, a utilização de um conjunto de primes que amplificam fragmento curtos (SPF), de cerca de 65 pares de base (pB) foi importante para a detecção do HPV em uma amostra cujo DNA encontra-se fragmentado devido à parafinização. Cerca de 9% das amostras testadas foram realmente negativas para o HPV o que está de acordo com a literatura que descreve que 5 a 11% dos CCU são HPV independentes[5]. Estratégias para melhorar a qualidade do DNA extraído de amostras parafinas, como protocolos de reparo enzimático pós-extração podem se mostrar necessárias e serão futuramente testadas[6].

REFERÊNCIAS

1. M. d. S. BRASIL, “Mortalidade por câncer de mama e colo do útero na população feminina segundo raça/cor da pele,” Boletim Epidemiológico, 2025 out; 56(15).

2. OMS, “Cervical cancer,” 2024.

3. Bzhalava, D., Eklund, C., Dillner, J., “International standardization and classification of human papillomavirus types.,” Virology., 2015.

4. Guyard et al., “DNA degrades during storage in formalin-fixed and paraffin-embedded tissue blocks,” 2017.

5. Hurjui. et al., "HPV-Independent Cervical Cancer-A New Challenge of Modern Oncology," Int J Mol Sci.2025; 26(20):10051.

6. Liu, et al., "Comparison of different methods for repairing damaged DNA," Int J Legal Med, 2018.

NOTAS

CONFLITOS DE INTERESSE

Sem conflito de interesse.

CONTRIBUIÇÃO DOS AUTORES

Indicar a autoria com baseado em contribuições substanciais: (a) Concepção e elaboração do manuscrito, (b) Coleta e Análise de dados, (c) Discussão dos resultados, (d) Revisão e aprovação final do artigo. Este trabalho é oriundo da tese de doutorado da autora Sophia Laís Araújo Fortes.
Frederico Augusto Almeida de Castro: A-B-C.
João Pedro Costa Lazzarini Silveira: B-C.
Kayk Fernando Baldeis de Paula: B-C.
Sophia Laís Araújo Fortes: B-C.
Maria Gabrielle de Lima Rocha: A-B-C-D.

FINANCIAMENTO

Este trabalho é financiado pela Rede Mineira de Pesquisa Transacional em Oncologia – ReMPTO e pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais – FAPEMIG.

APROVAÇÃO ÉTICA

CAAE 79261617.6.00005150.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à Rede Mineira de Pesquisa Translacional em Oncologia - ReMPTO, à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais – FAPEMIG, ao Instituto Mário Penna e às instituições de ensino universitário envolvidas. Agradecemos também o apoio científico das professoras Dra. Annamaria Ravaro Vago, Dra. Nayara Nascimento Toledo Silva e Dra. Letícia da Conceição Braga.