



Universidade Federal de Pernambuco
Centro de Biociências

GABRIEL RÔMULO PARENTE DA SILVA

**EXPRESSÃO DE IL-6 EM PACIENTES COM TUMORES DE
MAMA HPV- POSITIVOS E HPV- NEGATIVOS**

Recife
2025

GABRIEL RÔMULO PARENTE DA SILVA

**EXPRESSÃO DE IL-6 EM PACIENTES COM TUMORES DE
MAMA HPV- POSITIVOS E HPV- NEGATIVOS**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Graduação em Biomedicina da Universidade Federal de Pernambuco, como pré-requisito à obtenção do título de Bacharel em Biomedicina.

Orientador: Dr. Antonio Carlos De Freitas
Coorientadora: Dra. Vanessa Emanuelle Pereira Santos

Recife
2025

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do programa de geração automática do SIB/UFPE

Romulo Parente Da Silva , Gabriel .
EXPRESSÃO DE IL-6 EM PACIENTES COM TUMORES DE MAMA
HPV- POSITIVOS E HPV- NEGATIVOS / Gabriel Romulo Parente Da Silva
. - Recife, 2025.
62 : il., tab.

Orientador(a): Antonio Carlos De Freitas
Cooorientador(a): Vanessa Emanuelle Pereira Santos
(Graduação) - Universidade Federal de Pernambuco, Centro de Biotecnologias,
Biomedicina, 2025.
Inclui referências.

1. Carcinoma mamário. 2. . Papilomavírus humano. 3. Interleucina. 4.
Microambiente tumoral. 5. Resposta imunológica. I. Carlos De Freitas , Antonio
. (Orientação). II. Emanuelle Pereira Santos , Vanessa . (Coorientação). IV. Título.

570 CDD (22.ed.)

GABRIEL RÔMULO PARENTE DA SILVA

**EXPRESSÃO DE IL-6 EM PACIENTES COM TUMORES DE MAMA
HPV- POSITIVOS E HPV- NEGATIVOS**

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao Curso de Graduação
em Biomedicina da Universidade
Federal de Pernambuco, como pré-
requisito à obtenção do título de
Bacharel em Biomedicina.

Aprovada em: ___/___/___

BANCA EXAMINADORA

Orientador: Prof. Dr. Antonio Carlos De Freitas
Universidade Federal de Pernambuco (UFPE) / Departamento de Genética – Laboratório de
Estudos Moleculares e Terapia Experimental (LEMTE).

Msc. Maria da Conceição Viana Invenção
Universidade Federal de Pernambuco (UFPE) / Departamento de Genética – Laboratório de
Estudos Moleculares e Terapia Experimental (LEMTE).

Dr. Joelson Germano Crispim
Universidade Federal de Pernambuco (UFPE) / Departamento de Fisiologia e
Farmacologia - Núcleo de Pesquisa e Inovação Terapêutica Suely Galdino (NUPIT)

Dedico este trabalho aos meus pais, que, mesmo debaixo de tanto sol, me fizeram chegar até aqui, na sombra. Dedico-o também a todas as mulheres que enfrentam o câncer de mama com tanta garra e coragem. Que este trabalho possa contribuir para um futuro mais promissor no enfrentamento desta doença.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente ao meu orientador, Dr. Antonio Carlos De Freitas, que abriu as portas do seu laboratório para mim, me acolheu e me fez acreditar que a ciência pode transformar vidas.

À minha coorientadora, e mãe científica Dra. Vanessa Emanuelle Pereira Santos, que acreditou em mim e no meu potencial quando nem eu mesmo acreditava. Por me fazer evoluir todos os dias com sua sabedoria, e seu cuidado tão especial. A ela, minha eterna gratidão e carinho. O Brasil tem sorte de ter uma pesquisadora como você.

Às minhas tias científicas, Anna, Lígia, e Bianca que me auxiliaram e me deram todo o suporte necessário. Vocês têm, para sempre a minha gratidão.

Aos meus irmãos científicos, Pedro, Beatriz, Stephanie e David que se tornaram minha família nessa caminhada, e que tanto me inspiram. Em especial, queria agradecer a Bia. A ciência brasileira tem sorte de ter você, e seu futuro será brilhante.

A todos que fazem parte do LEMTE, vocês tornaram minha caminhada na graduação mais tranquila e alegre. Serei sempre grato a todos pelo companheirismo e pelos momentos tão especiais que passamos juntos.

Aos meus pais e a minha família, que são minha principal fonte de inspiração, que me levaram no caminho certo e me fizeram chegar até aqui. Principalmente a minha mãe, que lutou com toda a sua garra para que eu concluísse a graduação. Todo seu esforço valeu a pena.

As minhas primas Graci e Jéssica, que me acompanharam desde o início e sempre me apoiaram. Sou muito grato por todo o suporte que vocês me deram.

Ao meu companheiro e amor, David Lucas, sem você eu não conseguiria chegar até aqui. Obrigado por lutar por mim e me apoiar tanto.

Às minhas amigas Lívia, Francyllen, Letícia, Cecilia, Gabrielly e Debora que acompanharam nesse caminho desde o início e sempre me apoiaram. A força e o amor de vocês me inspiram todos os dias.

“A liberdade se dança, se canta, se vive – e
nunca se pede permissão para brilhar”
(Inspirado em Beyoncé, *Renaissance*)

RÔMULO PARENTE DA SILVA, Gabriel. **Expressão de IL-6 em pacientes com tumores de mama HPV- positivos e HPV- negativos**. 2025. 62 folhas. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Biomedicina) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2025.

RESUMO

Os carcinomas mamários são, atualmente, uma das neoplasias que mais levam mulheres a óbito e um dos tipos de cânceres com maior prevalência global. As infecções virais passaram a ser investigadas como possíveis fatores de risco para o câncer de mama, com isso o papilomavírus humano (HPV) se tornou um dos agentes virais investigados após ter sido detectado em tecidos neoplásicos mamários. A Interleucina 6 se mostra como um fator imunológico importante quando visamos entender a interação entre o HPV, o câncer de mama e o microambiente tumoral. A IL-6 é uma citocina que pode alterar o perfil imunológico desse microambiente, deixando-o mais inflamatório na sua maior expressão, ou menos inflamatório quando sua expressão está reduzida. Diante disso, este trabalho investigou a expressão da interleucina-6 (IL-6) em tumores de mama positivos e negativos para o HPV. Para isso, amostras de biópsias parafinadas foram coletadas de pacientes atendidas no Hospital das Clínicas da UFPE. Delas, foram extraídos o RNA que, em seguida, foi convertido em amostras de cDNA utilizadas para análise de expressão gênica, realizada via PCR quantitativa em tempo real. As amostras foram divididas em grupos positivos e negativos para HPV com base na expressão dos oncogenes virais. Dos 92 tecidos disponíveis, 50 foram utilizados no estudo, e 66% desses foram positivos para oncogenes do HPV com maior expressão do oncogene E5 em relação aos oncogenes E6 e E7. A expressão de IL-6 apresentou tendência de redução em amostras positivas para HPV, sugerindo possível regulação negativa pelo vírus. A análise por subtipos moleculares do câncer de mama revelou uma menor expressão de IL-6 em tumores HER2 positivos para HPV. Esses resultados indicam a influência do HPV na modulação do microambiente tumoral e sugere que o vírus pode induzir um perfil anti-inflamatório ajudando as células cancerígenas no escape imunológico. Com isso, se faz necessário que estudos futuros avaliem como esse vírus pode modular a expressão de outros genes envolvidos com o microambiente tumoral, auxiliando na elucidação do papel do HPV na resposta imunológica de pacientes com câncer de mama e HPV-positivos.

Palavras-chave: Carcinoma mamário. Papilomavírus humano. Interleucina. Microambiente tumoral. Resposta imunológica.

RÔMULO PARENTE DA SILVA, Gabriel. **Expression of IL-6 in Patients with HPV-Positive and HPV-Negative Breast Tumors**. 2025. 62 pages. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Biomedicina) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2025.

ABSTRACT

Mammary carcinomas are, actually, one of the types of neoplasms that leads to female mortality and one of the most prevalent cancers worldwide. Viral infections has been investigated as potential contributors to breast cancer development, as so human papillomavirus (HPV) became one of the studied viral agents after its genetic material was detected in mammary neoplastic tissues. Interleukin-6 emerges as a critical immunological factor when aiming to understand the interaction between HPV, breast cancer, and the tumor microenvironment. IL-6 is a cytokine that can alter the immune profile of this microenvironment, making it more inflammatory when highly expressed, or less inflammatory when its expression is reduced. In this context, this study investigated the expression of interleukin-6 (IL-6) in HPV-positive and HPV-negative breast tumors. To achieve this, paraffin-embedded biopsy samples were collected from patients treated at the Hospital das Clínicas of UFPE. From them, RNA was extracted, followed by its conversion in samples of cDNA, which was used for gene expression analysis via quantitative real time PCR. The samples were categorized into HPV-positive and HPV-negative groups based on the expression of the viral oncogenes. Among the 92 available tissue samples, 50 had RNA of adequate quality, and 66% of these were positive for HPV oncogenes. A higher expression of the E5 oncogene was observed compared to E6 and E7. IL-6 expression showed a trend toward reduction in HPV-positive samples, suggesting possible negative regulation by the virus. Analysis by breast cancer molecular subtypes revealed higher IL-6 expression in luminal A tumors positive for HPV. These findings highlight the relevance of HPV in modulating the tumor microenvironment and suggest that this virus could induce an anti-inflammatory profile helping the cancer cells' immunology escape. Therefore, it is necessary that further studies rates how this virus can modulate the other tumoral microenvironment involved genes, helping to elucidate the HPV role in immunology response of breast cancer and HPV-positive patients.

Key words: Mammary carcinoma. *Human papillomavirus*. Interleukin. Tumor microenvironment. Immune response.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- FIGURA 1:** Subtipos moleculares do câncer de mama. fonte: autor (2025) 17
- FIGURA 2:** Genoma do HPV16. as proteínas não estruturais da região inicial do genoma, incluindo E1, E2, E4, E5, E6, E7. as proteínas do capsídeo viral localizadas nas regiões L1 E L2. fonte: autor (2025) 20
- FIGURA 3:** ciclo de replicação do HPV. Ciclo replicativo do HPV desde o momento da sua penetração no epitélio até o momento de montagem viral e liberação dos vírions pelas células epiteliais. fonte: fontes, phb (2024) 21
- FIGURA 4:** Fatores que compõem o microambiente tumoral: os linfócitos estão representados em tons de azul, em roxo claro estão macrófagos, as células dendríticas em roxo escuro, os fibroblastos em vermelho escuro, já as células cancerígenas em tons de rosa. fonte: autor (2025) 23
- FIGURA 5:** Representação das células que podem secretar a IL-6. Fonte: autor (2025) 26
- FIGURA 6:** representação da via clássica IL-6/JAK2/STAT3. Fonte adaptada: hersh et al., 2022 29
- FIGURA 7:** Processo de extração do RNA dos tecidos parafinados. Fonte: autor (2025) 34
- FIGURA 8:** Expressão relativa das oncoproteínas do HPV E5, E6 E E7 nas amostras das pacientes com câncer de mama hpvs positivo. * P-value < 0,01, *** P- value < 0,0001. 37
- FIGURA 9:** Expressão relativa em amostras de paciente com câncer de mama positivos e negativos para o HPV. 38
- FIGURA 10:** análise da expressão relativa de il-6 nos subtipos moleculares de câncer de mama positivos para o HPV. 39

LISTA DE TABELAS

TABELA 1: Tabela com os primers usados na RT- qPCR. fonte: autor 2025

35

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CDI	Carcinoma ductal invasivo
cDNA	DNA complementar ao mRNA
CGAS	Sintase de GMP-AMP cíclico
CLI	Carcinoma Lobular invasivo
CNTF	Fator inibitório ciliar
EEF4A1	Fator de Elongação da tradução eucariótico 1
EGFR	Receptor do Fator de Crescimento Epidérmico
GAPDH	Desidrogenase de gliceraldeído-3-fosfato
HPV	Papilomavírus humano
IL- 6	Interleucina 6
IL-18	Interleucina 18
IST	Infecção sexualmente transmissível
KD	Quilos Dalton
LIF	Fator inibitório de leucemia
MEC	Matriz extracelular
MRNA	RNA mensageiro
NF-KB	Fator Nuclear kappa B
NNT-1	Estimulante da neurotrofina-1/células B
NPN	Neuropoietina
OMS	Organização mundial da saúde
PCR	Reação em cadeia polimerase
PI3K	Fosfatidilinositol 3-quinase
RB	Proteína do retinoblastoma
REGIÃO E	Região Early/precoce
REGIÃO L	Região Late/tardia
REGIÃO LCR	Região de controle longa
RT-qPCR	PCR quantitativa em tempo real
STING	Estimulador de Genes de Interferon
TME	Microambiente Tumoral/Tumor Microenvironment
TREGS	Linfócitos T reguladores
VTMC	Vírus do tumor mamário do camundongo

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	14
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	16
2.1	Câncer de mama	16
2.1.1	Fatores de risco relacionados ao câncer de mama	18
2.2	Papilomavírus Humano	19
2.2.1	Estrutura e Genoma viral	19
2.2.2	Processos de transmissão e replicação do HPV	20
2.2.3	HPV e o câncer de mama	22
2.3	Microambiente tumoral	23
2.3.1	Microambiente tumoral e a Infecção pelo HPV	25
2.4	Interleucina 6	25
2.4.1	Via de sinalização clássica da IL-6	28
2.4.2	Via de sinalização trans da IL-6	29
2.4.3	Interleucina 6 e o câncer de mama	29
2.4.4	Interleucina 6 e o HPV	30
3	OBJETIVOS	32
4	METODOLOGIA	33
4.1	Amostras biológicas	33
4.2	Extração de RNA	33
4.3	Síntese de cDNA	34
4.4	Análise da expressão dos oncogenes virais e da IL-6 via RT-qPCR	34
4.5	Análise estatística	35
5	RESULTADOS	37
5.1	Expressão dos oncogenes do HPV	37
5.2	Expressão de IL-6 em pacientes positivos e negativos para o HPV	38
6	DISCUSSÃO	40

7	CONCLUSÃO	45
	REFERÊNCIAS	46

1 INTRODUÇÃO

O câncer de mama é uma das principais causas de morte em mulheres, representando um significativo problema de saúde pública global (Gathani, 2021). Este câncer é caracterizado por sua alta incidência e mortalidade, sendo esta última com maior destaque em países subdesenvolvidos (Vieira et al., 2017). No Brasil, o Instituto Nacional do Câncer (INCA) prevê que até o ano de 2025, o país poderá acumular cerca de 705 mil casos desta doença, que, no ano de 2024 registrou 74 mil novos casos (INCA, 2025).

As infecções virais têm ganhado destaque em pesquisas sobre os fatores de risco associados ao desenvolvimento do câncer de mama (Kudela, E. et al., 2022). Entre os diversos agentes virais estudados, o papilomavírus humano (HPV) vem se tornando um dos principais alvos de investigação (AfzaL et al., 2022). Isso se deve à sua associação já estabelecida com outros tipos de câncer, como o câncer cervical, e à detecção do vírus em tecidos neoplásicos mamários (Wang et al., 2017). A partir disso, portanto, levantou-se a hipótese de que o HPV possa desempenhar um papel relevante na carcinogênese mamária, seja como fator direto ou indireto, ou ainda como modulador do microambiente tumoral (Islam, Chakraborty, Panda, 2020).

O HPV é, atualmente, uma das infecções sexualmente transmissíveis (ISTs) mais comuns do mundo (Wasson, C. W. et al 2018). Esse vírus pertence à família Papillomaviridae, e seu material genético é composto por um DNA de fita simples, dupla e circular, contendo aproximadamente 8 mil pares de base (Cosper, P. F. et al. 2021). O potencial carcinogênico do HPV é mediado por suas oncoproteínas E5, E6 e E7 (Nelson; Mirabello. et al. 2023; Wang et al., 2017). Essas proteínas virais interagem com proteínas supressoras tumorais ligados ao ciclo celular, como p53 e pRb, ocasionando a sua degradação e levando a célula infectada a entrar colapso, o que culmina na carcinogênese (Aydin et al., 2014.; Raffa et al., 2013). Além disso, as oncoproteína virais podem levar a alteração transcricionais de citocinas, essas alterações podem favorecer o escape imunológico e a resistência a terapia (Liu *et al.*, 2022).

A interleucina 6 (IL-6) é uma citocina pró-inflamatória pleiotrópica, envolvida no processo pro-inflamatório (Scheller, J. et al. 2011). A desregulação da IL-6 já foi relata em vários tipos de câncer, e no câncer de mama, sua maior expressão está associada a um pior prognóstico (Tanaka; Narazaki; Kishimoto, 2014). A IL-6 também participa

da regulação do microambiente tumoral, promovendo a proliferação celular, angiogênese e evasão imunológica, conferindo características mais agressivas e metastáticas aos carcinomas mamários (Johnson, D. E et. al. 2018).

A interação entre IL-6 e a infecção pelo HPV no contexto do câncer de mama permanece pouco compreendida, especialmente no que tange às suas implicações na progressão tumoral e na resposta terapêutica (Wolf, Rose-John et. al. 2014). Diante disso, o presente trabalho busca investigar a expressão de IL-6 em pacientes com câncer de mama positivo e negativo para HPV, correlacionando os dados obtidos com os subtipos moleculares da doença. A análise visa ampliar o entendimento sobre os possíveis mecanismos de interação entre o HPV e o microambiente tumoral nos carcinomas mamários.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Câncer de mama

O câncer é, na atualidade, um dos maiores problemas de saúde pública global e uma das principais causas de mortes em todo o mundo (Bray *et al.*, 2024). O câncer de mama destaca-se entre os tipos de câncer, por sua alta taxa de prevalência e incidência global (Afzal *et al.*, 2022). Estima-se que aproximadamente 2,3 milhões de novos diagnósticos surjam a cada ano em todo o mundo e, embora os países desenvolvidos apresentem maior incidência deste câncer, nos países em desenvolvimento, como o Brasil, as taxas de mortalidade são mais elevadas devido ao difícil acesso ao diagnóstico em estágios iniciais da doença, sobretudo, por parte do sistema de saúde, o qual, nesses países, é caracterizado pela precariedade de investimentos (Vieira *et al.*, 2017; Wilkinson; Gathani, 2021; Kudela, E. *et al.*, 2022;). O Instituto Nacional de Câncer (INCA) prevê que, até 2025, o Brasil poderá acumular cerca de 705 mil casos de câncer de mama, o que evidencia o impacto que a doença traz para a sociedade, a economia e o bem-estar psicológico das mulheres brasileiras (Inca, 2022).

O câncer de mama pode ser classificado de diferentes formas, e essas classificações são fundamentais tanto para a escolha do tratamento mais adequado, quanto para a definição do prognóstico e sobrevida dos pacientes (Zhang, 2022). A classificação por imagem ainda é bastante utilizada e serve de suporte na clínica como também no tratamento de pacientes com câncer de mama (Sulaiman Vesal *et al.*, 2018). Essa classificação é feita principalmente por meio imagens radiológicas, servindo como guias para identificar onde as anormalidades estão localizadas anatomicamente (Bardou; Zhang; Ahmad, 2018).

A classificação molecular, que começou a ser desenvolvida por Perou *et al.* (2000) no início deste século, é atualmente, uma das técnicas de classificação mais utilizadas. Essa classificação define os tumores com base na expressão de diferentes tipos de receptores, permitindo a tipificação tumoral em: luminal A, luminal B, HER2 e triplo-negativo (Cheang; Van de Rijn; Nielsen, 2008). O subtipo luminal A é caracterizado por apresentar positividade para os receptores de estrógeno e progesterona, porém é negativo para superexpressão do receptor HER2, já o subtipo luminal B apresenta positividade para os receptores de estrógeno e progesterona, e pode ser positivo ou negativo para superexpressão do receptor HER2 (Tsang *et al.*, 2020). O subtipo HER2 apresenta positividade apenas para a superexpressão do

receptor HER2, e o subtipo triplo negativo se caracteriza pela negatividade para os receptores de estrógeno, progesterona e para superexpressão de HER2. (Roy *et al.*, 2023) (Figura 1). A classificação molecular é crucial para personalizar a terapia do câncer mama, pois permite direcionar o tratamento de forma específica para cada paciente, conforme as características moleculares de seu tumor e, conseqüentemente, a possibilidade de resposta ao tratamento (Tsang; Tse, 2019).

O subtipo luminal A é o mais prevalente globalmente e é caracterizado por apresentar melhores características prognósticas e terapêuticas, enquanto luminal B embora pertença ao grupo luminal, é associado a um prognóstico menos favorável devido a uma maior taxa de proliferação celular e menor resposta a terapias hormonais isoladas (Tsang *et. al.*, 2020). O subtipo HER2 frequentemente está relacionado a um comportamento clínico mais agressivo, e o subtipo triplo-negativo, pela ausência de receptores hormonais, possui pior prognóstico, devido a limitação das opções de tratamento (Cirqueira *et. al.*, 2011; Wysocka *et. al.*, 2020)

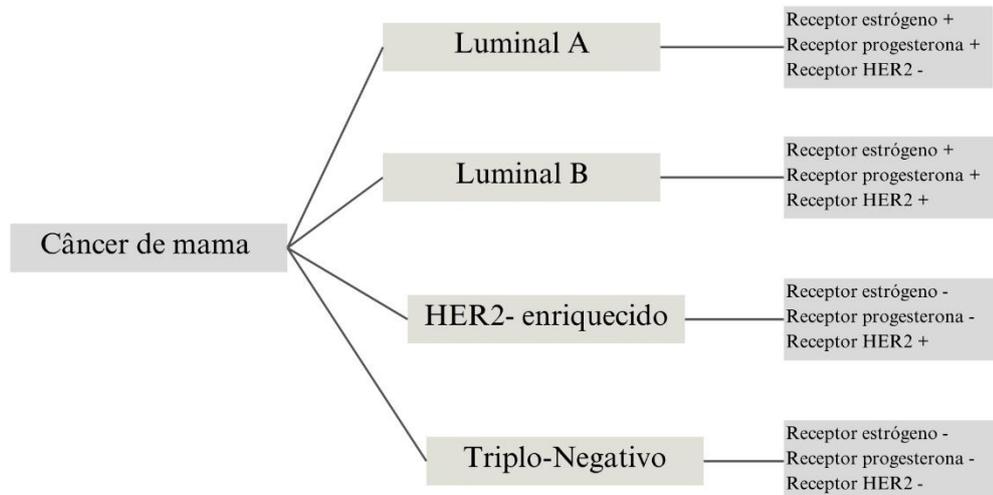


Figura 1: Subtipos moleculares do câncer de mama. Fonte: autor (2025)

A classificação histológica exerce um papel importante na definição das abordagens terapêuticas, baseada nas características microscópicas das células tumorais (He *et al.*, 2012). Entre os tipos histológicos mais frequentes do câncer de mama, encontram-se o carcinoma ductal invasivo (CDI) e o carcinoma lobular invasivo (CLI) (Dalenc *et al.*, 2022). O CDI, responsável pela maioria dos diagnósticos, origina-se nos ductos mamários e possui maior tendência a se espalhar para tecidos adjacentes (Weigelt; Geyer; Reis-Filho, 2010). O CLI, embora menos frequente, é

caracterizado por um padrão de crescimento mais difuso, tornando seu diagnóstico mais desafiador. Em adicional, existem tipos histopatológicos menos agressivos, como o carcinoma tubular, carcinoma mucinoso e o carcinoma papilífero, esses subtipos geralmente estão associados a um comportamento clínico mais favorável devido a menor taxa de proliferação celular e menor risco de metástase (Shea; Koh; Tan, 2020)

2.1.1 Fatores de risco relacionados ao câncer de mama

Diferentes grupos de estudos investigaram a relação de comportamentos sociais e condições hormonais e/ou genéticas com o risco do desenvolvimento ou progressão do câncer de mama (Kashyap *et al.*, 2022). Esses fatores de risco podem ser classificados em fatores modificáveis e fatores não modificáveis (Kudela *et al.*, 2022). Os fatores modificáveis, se enquadram em hábitos ou condições de vida sobre os quais podemos intervir para reduzir o risco do desenvolvimento da doença, nessa categoria incluem-se: obesidade, dieta inadequada e consumo excessivo de álcool (Xu; Xu, 2023). Já os fatores não modificáveis estão relacionados a condições genéticas e predisposições hormonais que contribuem para o desenvolvimento do câncer de mama de diferentes maneiras (Tsang; Tse, 2019).

A idade avançada é um dos principais fatores de risco no câncer de mama, pois, com o envelhecimento, as células passam por mais processos de divisão celular, aumentando a chance de acumular alterações genéticas ao longo do tempo (Michaels; Worthington; Rusiecki, 2023). O histórico familiar de câncer de mama, especialmente em parentes de primeiro grau, indica uma predisposição hereditária, frequentemente associada a mutações nos genes BRCA1 e BRCA2, que estão diretamente relacionados ao reparo do DNA e, quando alterados, elevam significativamente o risco de desenvolvimento do câncer (Souza *et al.*, 2019). Além disso, eventos hormonais como menarca precoce e menopausa tardia prolongam a exposição das células mamárias aos hormônios como estrogênio e progesterona, que podem estimular o crescimento celular e favorecer o surgimento de mutações, aumentando o risco de carcinogênese (Wilkinson; Gathani, 2021).

Após a descoberta do papel do vírus do tumor mamário do camundongo (VTMC) no desenvolvimento da carcinogênese mamária em modelos experimentais, surgiu um alerta sobre a possível relação entre as infecções virais e o desenvolvimento do câncer de mama em humanos (AfzaL *et al.*, 2022). Um dos vírus

que vem sendo investigado nesse contexto é o Papilomavírus Humano (HPV), uma das infecções virais mais comuns no mundo, sendo a infecção sexualmente transmissível (IST) com maior prevalência global (Chen *et al.* 2016).

2.2 *Papilomavírus humano* (HPV)

2.2.1 Estrutura e genoma viral

Os HPVs são vírus cujo seu material genético é constituído por um DNA circular de fita dupla, contendo aproximadamente 8 mil pares de bases (Conageski, 2023). Esses vírus pertencem à família Papillomaviridae, e atualmente mais de 200 tipos de HPVs estão descritos, os quais são divididos nos grupos: alfa, beta, gama, mu e nu HPVs (Mcbride 2021). Essa classificação é feita a partir de características específicas presentes na região L1 do genoma viral, que é a mais conservada do vírus e por isso é a utilizada para detecção de diferentes tipos de HPV (Williamson, 2023).

O genoma do HPV é dividido em três regiões, uma região de expressão tardia chamada de *late* (L), uma região de expressão precoce chamada *early* (E) e uma região reguladora, ou região de controle longa (LCR) (Gamboa-Hoil, 2023). A região LCR não é responsável pela produção de nenhuma proteína viral, porém, é nesse local do genoma viral que se encontra a origem de replicação do vírus (Mcbride, 2021) (Figura 2).

A região E, é responsável pela síntese de proteínas relacionadas ao processo de replicação e transcrição viral (Zur Hausen, 2002). A proteína E1 funciona como uma helicase abrindo a fita de DNA durante o processo de replicação, já a proteína E2 é uma proteína acessória da proteína E1 que pode atuar como repressora ou ativadora da transcrição viral (Zhou *et al.*, 1994). As proteínas E5, E6 e E7 são proteínas virais relacionadas com a desregulação do ciclo celular e com a instabilidade genômica, além de atuar na evasão imunológica (Münger; Howley, 2002). As proteínas virais E6 e E7 levam a degradação de proteínas supressoras tumorais, como p53 e a proteína do retinoblastoma (pRb), respectivamente (Wasson, C. W. *et al* 2018). A proteína E8 apresenta uma ação no silenciamento do processo de replicação do vírus e a proteína E4 está ligada com a saída do vírus da célula do hospedeiro sendo a última proteína dessa região a ser expressa (Mcbrid, 2021) (Figura 2).

A região tardia, conhecida como L, é responsável pela síntese das proteínas do capsídeo viral, L1 e L2, essas proteínas desempenham um papel essencial na formação da cápsula que protege o material genético do vírus (Williamson, 2023).

Durante o processo de integração do genoma viral ao genoma da célula hospedeira, é comum que parte dessa região, especialmente o segmento relacionado à proteína L1, seja perdida, por não haver necessidade de montagem e encapsulamento viral (Wang et al., 2017).

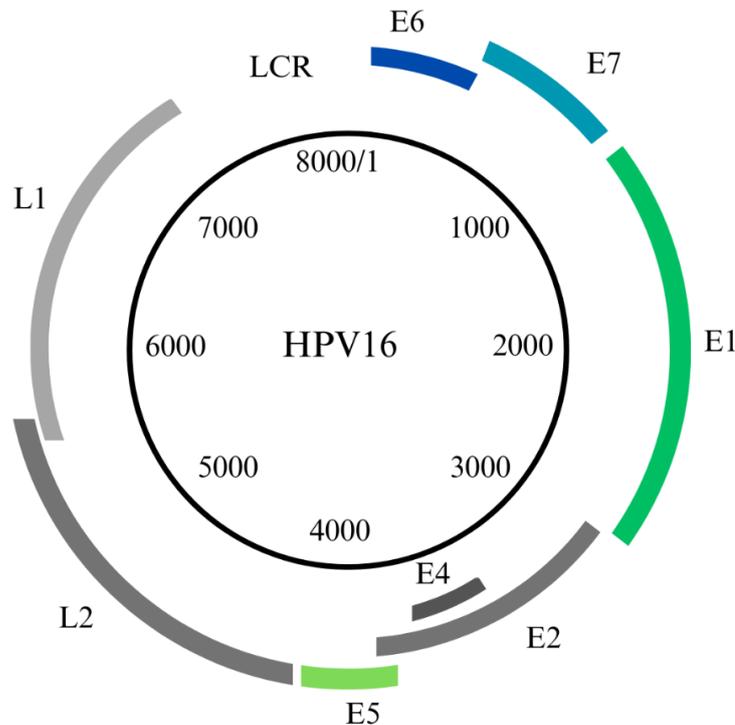


Figura 2: Genoma do HPV16. As proteínas não estruturais da região inicial do genoma, incluindo E1, E2, E4, E5, E6, E7. As proteínas do capsídeo viral localizadas nas regiões L1 e L2. Fonte: autor (2025)

2.2.2 Processo de transmissão e replicação do HPV

O processo de transmissão do HPV acontece predominantemente através do contato sexual desprotegido, afetando homens e mulheres, sendo estas últimas as mais afetadas pelas consequências da infecção (Nelson; Mirabello. *et al.* 2023). O processo de infecção pelo HPV inicia-se quando o vírus consegue penetrar o epitélio do hospedeiro, através de microlesões que ocorrem durante a atividade sexual que facilitam a chegada do vírus às camadas mais basais do epitélio, onde se encontram as células mitoticamente ativas que são as células-alvo do tropismo viral (COSPER, P. F. et al. 2021) (Figura 3).

Ao entrar em contato com as células alvo, a proteína L1 que está presente no capsídeo viral se liga ao receptor de sulfato de heparina que está localizada na superfície dessas células (Raffa *et al.*, 2013). Após a ligação, inicia-se o processo de inserção do genoma do vírus dentro das células hospedeiras (Harden, M. E *et al.*

2017). O genoma viral que está na sua forma circular, ou também chamada de epissomal, será transportado até o núcleo por meio de tubulinas presentes no citoesqueleto celular (Pyeon et al., 2009) (Figura 3). Existem duas principais formas de inserção do genoma viral nas células hospedeiras, a primeira acontece quando o vírus se aproveita de poros presentes na membrana nuclear, que tem como função a comunicação entre o núcleo e o citoplasma (Wasson, C. W. et al 2018). A segunda forma acontece quando o vírus chega ao núcleo por meio da quebra do envoltório nuclear, que ocorre durante o processo de mitose que está mais ativa nas células que são o alvo do vírus (Aydin et al., 2014)

O HPV presente nas camadas mais basais do epitélio pode depositar o seu material genético para o início da fabricação de novas partículas virais (OYOUNI, 2023). Entretanto, o vírus pode permanecer em um estado latente por longos anos antes de, eventualmente, contribuir de maneira efetiva para o desenvolvimento do câncer (Kusakabe et al., 2023). Os cânceres associados ao HPV correspondem cerca de 4,5% de todos os cânceres no mundo (Ribeiro, 2018; De Martel et al., 2017).

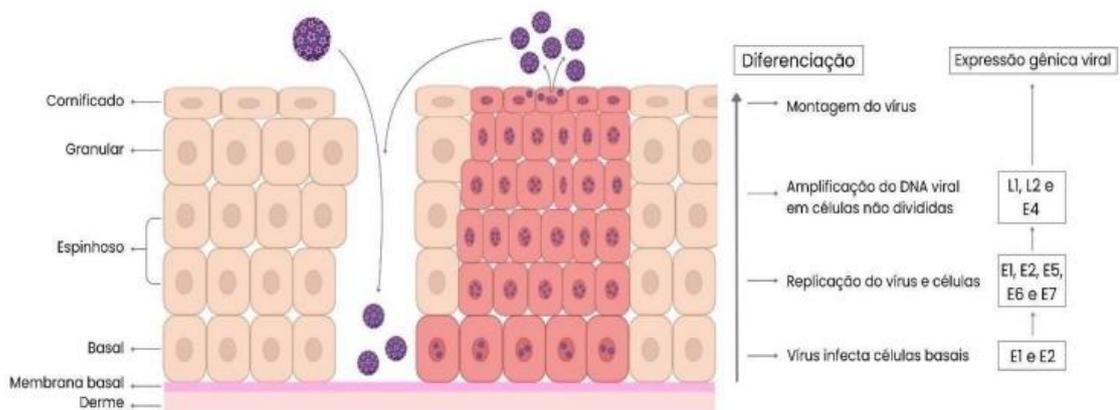


Figura 3: Ciclo de replicação do HPV. Ciclo replicativo do HPV desde o momento da sua penetração no epitélio até o momento de montagem viral e liberação dos vírions pelas células epiteliais. Fonte: Fontes, PHB (2024)

O HPV pode desenvolver processos benignos ou malignos dependendo do tipo viral pela qual a infecção ocorreu (Rosalik; Tarney; Han, 2021). Os alfas HPVs, vírus mais relacionados às infecções sexuais, são subdivididos de acordo com a capacidade de promover a carcinogênese, sendo categorizados em dois grupos: HPVs de baixo risco, que estão ligados ao desenvolvimento de verrugas anogenitais, com destaque para o HPV-6 e o HPV-11 e; os HPVs considerados de alto risco como os HPV-16, HPV-18 e HPV-31, os quais estão ligados ao desenvolvimento da carcinogênese (Harden, M. E et. al. 2017).

Os genótipos de alto risco 16, 18, 31, 39, 51, 56, e 58, são os mais frequentes no mundo, sendo os HPVs 16 e 18 os mais relacionados ao desenvolvimento de malignidades cervicais (Richter et al., 2013; Husain; Ramakrishnan, 2016; Wentzensen et al., 2017) Já no continente americano, a prevalência do HPV está em torno de 12,3% em países pertencentes da América do Sul, já nos países da América central, é estimado que a prevalência do HPV esteja em torno de 20,4%, e tendo o genótipo de alto risco 31 como uma cepa comum nessas regiões (De SanJosé et al., 2007; Richter et al., 2013). No Brasil, a infecção cervical pela cepa 16 é a mais presente, com uma prevalência que pode variar de 13,7% a 54,3% (Ayres; Silva, 2010). No estado de Pernambuco, os HPVs de alto risco com a maior incidência são os HPVs 16, 18 e 31, que são os vírus mais encontrados em tumores cervicais (Miranda et al. 2020; Dom-China et al. 2021).

2.2.3 HPV e o câncer de mama

O estudo de Di Leonardo et al. (1992) foi pioneiro na detecção do genoma do HPV em tecidos carcinogênicos mamários, conseguindo detectar o genoma do HPV-16 em 29,4% nos cortes histológicos parafinados que foram analisados. Após essa descoberta, outros grupos de estudos se debruçaram na detecção do DNA do HPV em tecidos mamários cancerígenos, porém, até os dias atuais não existe um padrão para a porcentagem de detecção do genoma viral, variando de totalmente ausente até 84% nos tecidos de câncer de mama analisados (Salman et al., 2017). A variação na detecção ocorre em diferentes continentes como relatado no trabalho de Simões et al. (2012) no qual foi encontrada uma taxa de detecção de 13,4% na Europa, 42,9% na América do Norte e na Austrália (Simões et al., 2012). No estado Pernambuco foi identificado a presença do HPV em subtipos diferentes de tumores mamários, em especial, no subtipo triplo negativo, uma subclassificação molecular dos carcinomas mamários que apresenta uma maior dificuldade terapêutica (Nascimento et al., 2024).

As variações nas porcentagens de detecção do HPV em tecidos mamários podem acontecer devido ao baixo número de cópias do vírus encontrado nesse tecido, além de uma possível integração do genoma viral nas células mamárias dificultando a sua detecção pela região de L1 (Islam et al., 2017) Outra questão a ser considerada, é a diferença de amostras que são utilizadas para essas análises, que pode ser desde tecidos frescos até tecidos parafinados (Lawson; Glenn; Whitaker, 2016). Em adicional, a detecção realizada por diferentes técnicas como: Reação em Cadeia

Polimerase (PCR), hibridização *in situ*, e citometria de fluxo, podem, também, interferir nas diferentes porcentagens (Islam; Chakraborty; Panda, 2020).

A relação entre HPV e o desenvolvimento do câncer de mama continua sendo controversa, devido às variabilidades nas taxas de detecção do vírus (Cavalcante *et al.*, 2018). Além disso, estudos direcionados a avaliação da atividade viral e não apenas a presença do vírus ainda são escassos e a análise do perfil transcricional, principalmente dos oncogenes virais é fundamental para determinar se o vírus está ativo e desempenhando um papel direta ou indiretamente no desenvolvimento da carcinogênese (Ji *et al.* 2024; Mitchell *et al.* 2024).

2.3 Microambiente tumoral

O microambiente tumoral ou *Tumor Microenvironment* (TME), é um sistema complexo que compreende componentes celulares e não celulares que envolvem o tumor (Merlo *et al.*, 2006). Essa estrutura é composta por células cancerígenas, células imunológicas, neurônios, adipócito, células endoteliais, células estromais, matriz extracelular, citocinas, fatores de crescimento e vesículas extracelulares, todos esses elementos trabalham em conjunto para progressão do câncer (Pardoll, 2012). Algumas características do tumor como a resistência a terapia; a capacidade de formar metástase; escape imunológico e criação de novos vasos sanguíneos, só são possíveis devido a sinalizações que ocorrem entre as células cancerígenas e os elementos presentes no ambiente que a envolve (Orimo *et al.*, 2005) (Figura 4).

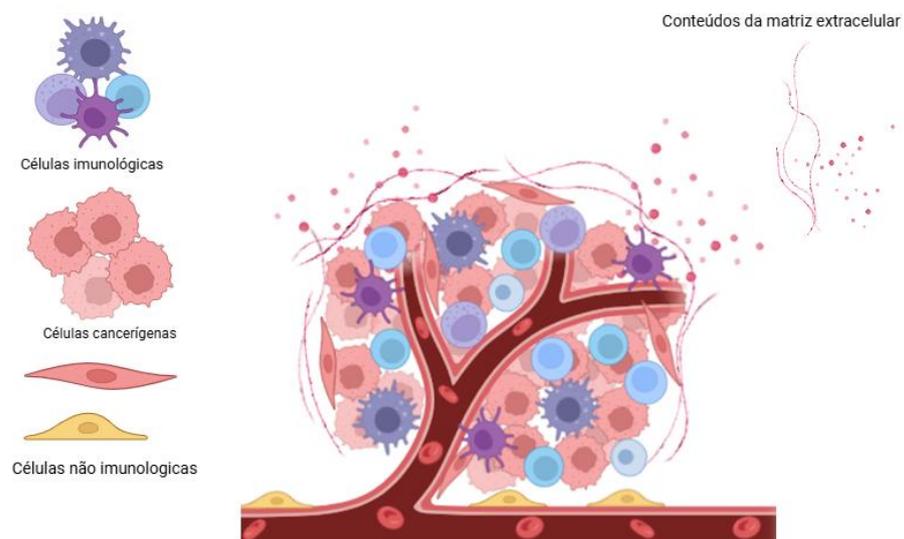


Figura 4: Fatores que compõem o microambiente tumoral: os linfócitos estão representados em tons de azul, em roxo claro estão macrófagos, as células dendríticas em roxo escuro, os fibroblastos em vermelho escuro, já as células cancerígenas em tons de rosa. Fonte: autor (2025)

Um dos pontos cruciais para que o microambiente tumoral se desenvolva é a angiogênese, que envolve a formação de novos vasos sanguíneos a partir de vasos preexistentes (Xiao; Yu, 2020). Esse processo é importante para que elementos básicos para a sobrevivência celular, como oxigênio e nutrientes, cheguem até as células tumorais (Robbins *et al.*, 2013). Os vasos sanguíneos formados, são importantes para que os resíduos metabólicos celulares possam sair do TME deixando o ambiente menos ácido e hipóxico (Anderson; Simon, 2020). Assim, permitindo o desenvolvimento das células cancerígenas, além de ser uma via para que clones mais metastáticos ganhem a corrente sanguínea e migrem do sítio primário até o sítio pré-metastático (Bussard *et al.*, 2016).

As células imunológicas presentes no microambiente tumoral são um aspecto importante para esse sistema pois, elas são responsáveis por processos importantes como o escape imunológico e a resistência a terapia (Xia *et al.*, 2021). Os linfócitos T são células relevantes quando visamos o TME pois possuem um papel de ambiguidade, os linfócitos T CD8+, por exemplo, conseguem detectar os antígenos presentes nas células tumorais e, por possuir um papel citotóxico, conseguem destruir as células cancerígenas (Robbins *et al.*, 2013). Em contrapartida, as células T CD4+ Th1 atuam como células que promovem o aumento do perfil pró-inflamatório do microambiente tumoral, ajudando as células T CD8+ a destruírem as células tumorais (Gajewski; Schreiber; Fu, 2013). Além das células supracitadas, os linfócitos T reguladores (Tregs) possuem um papel de modulação da resposta imunológica (Proietto *et al.*, 2023), essas células conseguem ser reprogramadas pelas células cancerígenas e passam a trabalhar a favor do câncer, promovendo a progressão tumoral por meio da supressão da resposta imunológica e da secreção de fatores que estimulam o crescimento tumoral (Pagès *et al.*, 2005).

A matriz extracelular (MEC) desempenha um papel fundamental no microambiente tumoral, pois não apenas fornece suporte estrutural para o tumor, como também, participa de processos que regulam a sinalização celular por meio da interação com receptores celulares (Yuan *et al.*, 2023). A remodelação da MEC dentro do TME tem início após o processo de hipóxia, que leva a ativação de genes relacionados à quebra da matriz, como as metaloproteinases que contribuem para a invasão tumoral e o processo de formação de metástases (Hee Ja Kim *et al.*, 2022).

2.3.1 Microambiente tumoral e a infecção pelo HPV

A relação do microambiente tumoral e o HPV ocorre a partir da interação das oncoproteínas do vírus com elementos do TME, levando a desregulação de vias metabólicas e vias imunológicas que acarreta na alteração do perfil do microambiente, gerando um favorecimento do crescimento das células tumorais e evasão imunológica (Liu *et al.*, 2022). A expressão das oncoproteínas do HPV em células tumorais infectadas está associada à regulação de citocinas que promovem a infiltração e a modulação de células imunológicas presentes no microambiente tumoral (São Marcos *et al.*, 2024). A exemplo disso a modulação da via cGAS-STING, que é suprimida pela oncoproteína E5, leva a uma menor ativação do fator de transcrição NF-κB, fator que pode ativar a transcrição de genes relacionados com o processo pró-inflamatório (Miyachi *et al.*, 2023). Ainda existe uma correlação entre a expressão da oncoproteína E7 com a maior expressão da proteína de ligação a IL-18 (IL-18 BP), citocina essa associada a um perfil anti-inflamatório (Richards *et al.*, 2014).

2.4 Interleucina 6

A interleucina 6 (IL-6) é uma proteína pleiotrópica, cujo seu tamanho varia de 21 a 28 kD, com extensão dependente de uma glicosilação e estrutura formada por um sistema de quatro alfa-hélices (Scheller, J. *et al.* 2011). Essa interleucina faz parte de uma família constituída de dez ligantes e nove receptores, cujo a ligação em comum entre eles é a proteína gp130, uma proteína de membrana que tem função ser transdutora de sinal (Kang *et al.*, 2019). A família da IL-6 é constituída por IL-11, IL-27, IL-31, oncostatina M, citocina semelhante à cardiotrofina e estimulante do fator 3, estimulante da neurotrofina-1/células B (NNT-1), fator inibitório de leucemia (LIF), neuropoietina (NPN), fator inibitório ciliar (CNTF) e cardiotrofina-1 (Johnson, D. E *et al.* 2018).

Descoberta inicialmente na década de 1970 pelo grupo Kishimoto, como uma proteína solúvel que era secretada pelas células T e induzia as células B a se tornarem células produtoras de anticorpos, a IL-6 foi chamada, inicialmente, de fator estimulador de células B2 (BSF-2) (Scheller, J. *et al.* 2011). Em 1988 a interleucina 6 recebeu esse nome propriamente dito após a conferência “*Regulation of the Acute Phase and Immune Responses: A New Cytokine*” que destacou os diferentes papéis biológicos apresentados por essa citocina (Rose-John, S *et al.* 2017).

Atualmente, a IL-6 tem um papel importante durante a fase aguda da inflamação, podendo ser secretada em homeostasia por células imunológicas, como macrófagos, células dendríticas, linfócitos, e por células não imunológicas, como células epiteliais, osteoclasto e hepatócito (Kang, S. et al 2020) (Figura 5). No câncer, essa citocina pode ser secretada tanto pelas células imunológicas recrutadas para o microambiente tumoral, como pelas células cancerosas, fibroblastos associados ao tumor e, também, por adipócitos (Manore *et al.*, 2022).

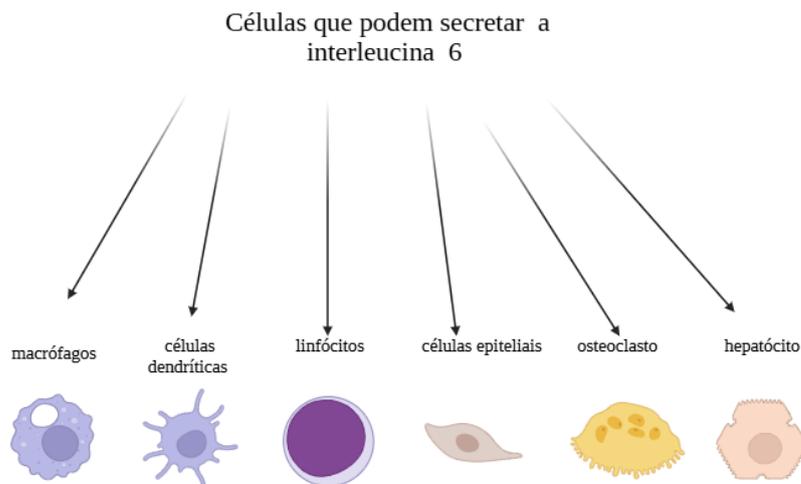


Figura 5: Representação das células que podem secretar a IL-6. Fonte: autor 2025

A principal função da IL-6 é atuar como mediadora de processos inflamatórios e resposta imunológica, promovendo a síntese de proteínas de fase aguda no fígado, como a proteína C-reativa, que auxilia na neutralização de patógenos e na reparação tecidual (Tanaka; Narazaki; Kishimoto, 2014). Além disso, essa citocina regula a diferenciação de linfócitos T auxiliares, especialmente no direcionamento das respostas Th17, importantes no combate a infecções bacterianas e fúngicas (Rose-John, 2020).

A IL-6 também exerce papéis fora do contexto inflamatório como, por exemplo, funções metabólicas e regenerativas (Kistner; Pedersen; Lieberman, 2022). Em condições fisiológicas, a interleucina 6 pode participar na homeostase do metabolismo energético, modulando a sensibilidade à insulina e a lipólise em resposta ao exercício físico, em adicional, ela também está envolvida na regeneração tecidual, estimulando a proliferação e a diferenciação de células-tronco hematopoiéticas e mesenquimais (Cressman *et al.*, 1996; Wallenius *et al.*, 2002). No entanto, quando produzida de forma desregulada, a IL-6 pode contribuir para doenças crônicas, como artrite reumatóide, doenças cardiovasculares e o câncer, devido ao seu papel no

favorecimento de ambientes pró-inflamatórios e na promoção de sobrevivência celular anormal (Rose-John, 2020).

O receptor de IL-6 (IL6-R) é uma proteína de membrana composta por várias subunidades que pertence à família de receptores de citocinas, conhecida como receptores de superfície celular (Müllberg *et al.*, 1993). Esse receptor é expresso em algumas células imunológicas, como macrófagos, neutrófilos, alguns tipos de células T, porém, também já foi identificado em células não imunes como os hepatócitos (Johnson *et al.* 2018). O IL-6R é expresso de forma dimerizada na membrana das células, esse receptor é responsável por mediar as atividades biológicas da IL-6 com suas células alvo (Trovato, M. *et al* 2021).

A ligação da IL-6 ao seu receptor, ocorre por meio de três epítomos conservados da interleucina 6, chamados de locais I, II e III, essa ligação ocorre em um local do receptor da IL-6 chamado de módulo de ligação de citocinas, neste local a IL-6 se liga aos domínios 2 e 3 (D2 e D3) e forma um complexo heterodimérico de interleucina 6 ligada ao seu receptor (Scheller, J. *et al.* 2011). O complexo binário IL-6/IL-6R α recruta a proteína gp130, resultando na formação do complexo de sinalização hexamérico final que pode levar à ativação das vias de transdução de sinal, como a via Quinase Janus/Transdutor de Sinal e Ativador da Transcrição (JAK/STAT) e o Fosfoinosítideo 3-Quinase (PI3K) (Chen, Q. 2006).

Além do local de ligação ao seu receptor, a IL-6 tem outros dois domínios de ligação com a proteína gp130, como o local dois que está localizado entre as hélices A e C e é o lugar de contato com gp130 entre o domínio dois e o domínio três (Wiesinger, M. Y. *et al* 2009). Em adicional, há um outro local de ligação, chamado de local três, que se encontra em dois resíduos diferentes: o primeiro local, que é chamado de local 3a, está presente na parte N-terminal da alça AB, e; o segundo local de ligação, chamado de local 3b está localizado nos resíduos C-terminais da hélice D. Os dois locais de ligação da IL-6 são necessários para o recrutamento das duas moléculas gp130 (Kang, S. *et al.* 2020)

A proteína gp130 se encontra na forma dimerizada em basicamente todas as membranas das células do corpo humano, essa proteína transmembrana glicosilada tem peso que varia entre 130 a 150 kD e apresenta oito domínios de ligação espalhados por toda sua estrutura proteica (Horsten *et al.*, 1995; Jostock *et al.*, 2001). Os domínios que se localizam mais próximo da membrana celular da proteína gp130, chamados de domínios quatro e domínio seis, são necessários para transmitir o sinal

ao domínio citoplasmático e assim levar a transdução do sinal (Rose-John *et al.*, 2023). A IL-6 tem sua função biológica mediada principalmente por duas vias de sinalização que diferem na forma que o seu receptor se encontra, a via clássica com o receptor completo e a via trans com o seu receptor na sua forma solúvel (Trovato, M. *et al* 2021)

2.4.1 Via de sinalização clássica da IL-6

A via de sinalização clássica se inicia com a IL-6 sendo secretada previamente e, em seguida, se ligando ao seu receptor na sua porção extramembranar, formando um complexo ligante-receptor (Müllberg *et al.*, 1993). Após essa ligação, ocorre o recrutamento da proteína sinalizadora gp130 que leva a formação de um complexo heterohexamérico formado por duas moléculas de IL-6, duas moléculas do seu receptor e duas moléculas da proteína gp130 (Wolf, Rose-John *et. al.* 2014).

Após a formação desse complexo as proteínas intracelulares JAKs são recrutadas para a região BOX 1 e BOX 2 da proteína gp130 e isso leva a fosforilação da proteína. A fosforilação mediada por JAK ocorre em diversos resíduos de tirosina, e também em resíduos C-terminais presentes nesta proteína que servem de local de ancoragem para o fator de transcrição STAT3 (Sikiniotis G. *et. al.* 2005). STAT3 após ser ancorado, é fosforilado na sua tirosina 705, levando a sua dimerização e translocação para o núcleo que culmina na transcrição de genes alvos mediados por esse fator de transcrição (Haan C. *et al.* 2006) (figura 6).

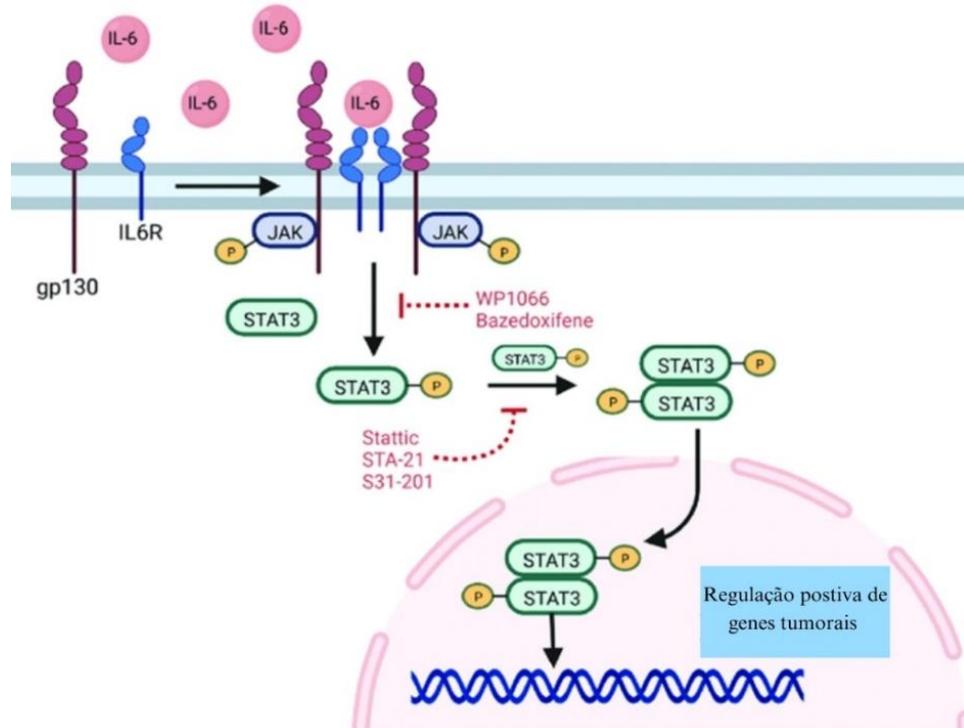


Figura 6 : Representação da via clássica IL-6/JAK2/STAT3. Fonte adaptada: HERSH et al., 2022

2.4.2 Vias de sinalização *trans*

A via de sinalização *trans* da IL-6 ocorre mediada por seu receptor em sua forma solúvel, a formação desse receptor pode acontecer por meio de um processo pós-transcricional chamado de *splicing* alternativo (Rose-John et al., 2023). Essa alteração pode ocorrer no RNA mensageiro (mRNA) do receptor da interleucina 6, que culmina na codificação apenas da sua porção beta desse receptor, porção essa que é responsável por se ligar a IL-6 (Baran P. et al. 2013). Esse receptor solúvel também pode ser gerado devido à sua clivagem por meio de desintegrinas ou proteínas contendo domínios de metaloproteinases (Novick D. et. al 1989).

Quando a IL-6 se liga ao seu receptor solúvel, ocorre a formação de um complexo que pode levar a ativação da proteína gp130 que está presente em diversas células do corpo, levando a fosforilação de resíduos C-terminais que servem como locais de ancoragem para STAT3, que vai ser fosforilada na sua tirosina 705 culminando na dimerização de STAT3, no qual, agora dimerizado pode migrar para o núcleo e induzir a transcrição de seus genes alvo (Jones SA. et. al. 2001)

2.4.3 Interleucina 6 e o câncer de mama

No contexto do câncer de mama, a IL-6 atua principalmente através da via de sinalização IL-6/JAK2/STAT3, que leva a estimulação da proliferação celular,

angiogênese e invasão tumoral (Rose-John *et al.*, 2023). Esses processos podem ser desencadeados por meio do aumento da fosforilação de STAT3 que está ligada ao aumento da expressão da IL-6 nas células tumorais ou também nas células presentes no microambiente tumoral (Manore *et al.*, 2022). A correlação entre o aumento de STAT3 fosforilada e a interleucina 6 no câncer de mama, foi primeiro relatada por Berishaj *et al.* (2007) que também demonstraram que o bloqueio da proteína gp130 e da IL-6 levam a diminuição do estado fosforilado desse fator de transcrição em células tumorais e que o aumento da fosforilação de STAT3 acarreta a ativação genes importantes para a progressão tumoral.

A relação entre a IL-6 e o câncer de mama vem sendo estudada desde a década de 90, com relatos de que níveis elevados de IL-6 estão associados a um pior quadro em pacientes com câncer de mama (Kozłowski *et al.*, 2003). Essa correlação ocorre, pois, a IL-6 contribui para o desenvolvimento de características mais agressivas nas células tumorais, podendo contribuir para a resistência a terapia, aumento da capacidade de formação de clones mais metastáticos, além de estar relacionada ao fenótipo mesenquimal das células tumorais (Xian Peng Jiang *et al.*, 2000; Sansone *et al.*, 2007).

Em relação ao prognóstico, pacientes que apresentam altos níveis séricos de IL-6 estão mais relacionados com maior carga tumoral, maior grau histológico e podem desenvolver metástases em estágios mais avançados (Salgado *et al.*, 2002). Além disso, altos níveis de IL-6 podem contribuir para a resistência a terapias, como quimioterapia e hormonioterapia, especialmente em tumores triplo-negativos, onde opções terapêuticas são limitadas (Demichele *et al.*, 2009).

2.4.4 Interleucina 6 e HPV

A infecção pelo HPV é capaz de alterar a expressão de diversas moléculas reguladoras, como quimiocinas e interleucinas nas células infectadas (Gardella *et al.*, 2021). Essa mudança de expressão pode variar dependendo do tipo de tecido infectado e do tipo de câncer investigado, constituindo uma estratégia viral para favorecer sua sobrevivência e multiplicação (Charostad *et al.*, 2021). A IL-6 é uma citocina, reconhecida por seu papel pró-inflamatório, e é frequentemente modulada nas infecções pelo HPV, desempenhando um papel importante tanto na progressão da infecção quanto na resposta imune do hospedeiro (Barros *et al.*, 2018).

Em pacientes com câncer de colo uterino positivo para HPV relatam que a expressão de IL-6 pode estar aumentada ou diminuída, dependendo das condições do microambiente tumoral e das interações com as oncoproteínas virais (Cai; Peng; Zhang, 2022). A diminuição da expressão de IL-6, por exemplo, pode estar associada a um processo de escape imunológico promovido pelo vírus, resultando na criação de um ambiente anti-inflamatório (Song *et al.*, 2016). Essa estratégia favorece a replicação viral, ao mesmo tempo que dificulta a ativação do sistema imunológico contra as células infectadas, como consequência, células cancerígenas podem escapar do reconhecimento imunológico, o que facilita o crescimento tumoral e o processo de invasão tecidual (Gardella *et al.*, 2021).

No câncer cervical, a oncoproteína E6 do HPV desempenha um papel importante na regulação positiva da via IL-6/JAK2/STAT3 (Song *et al.*, 2016). Essa proteína é capaz de aumentar a fosforilação de STAT3, um fator de transcrição essencial para a ativação de diversos genes associados à sobrevivência e proliferação celular (Morgan e Macdonald, 2019). Uma vez fosforilado, STAT3 transloca-se para o núcleo, onde pode induzir a expressão de IL-6 em células tumorais, a IL-6 secretada por essas células, por sua vez, reativa a via, estabelecendo um ciclo de retroalimentação positiva que contribui para a progressão tumoral (Morgan; Macdonald, 2019). Esse ciclo de retroalimentação também está relacionado ao desenvolvimento de resistência terapêutica em cânceres associados ao HPV (Gardella *et al.*, 2021). Essa ativação persistente promove a proliferação de células tumorais, angiogênese e o recrutamento de células imunológicas para o microambiente tumoral, muitas das quais são reprogramadas para atuar em favor do tumor (Shukla *et al.*, 2019).

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Identificar o perfil de expressão de IL-6 em tumores de mama positivos e negativos para o HPV.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Quantificar a expressão da interleucina-6 em tumores de mama positivos e negativos para o HPV.
- Correlacionar o perfil de expressão de IL-6 com as classificações moleculares das pacientes com câncer de mama infectadas pelo HPV.
- Correlacionar o perfil de expressão de IL-6 com a expressão dos oncogenes do HPV.

4 METODOLOGIA

4.1 AMOSTRAS BIOLÓGICAS

As amostras biológicas foram coletadas no período de junho de 2019 a dezembro de 2023 a partir de *core* biópsias de pacientes com câncer de mama que estão sendo tratados no Hospital das Clínicas (HC-UFPE), Recife, Pernambuco. Após a coleta, as amostras foram submetidas a um processo de parafinização, submetidas a um diagnóstico histológico e imunohistoquímico e encaminhadas para o Laboratório de Estudos Moleculares e Terapia Experimental (LEMTE) para serem utilizadas no projeto. Para a realização do estudo, os pacientes foram submetidos em dois grupos: grupo 1 e grupo 2. O grupo 1 é composto por pacientes com câncer de mama e HPV e o grupo 2 é composto por pacientes com câncer de mama e sem HPV. Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Pernambuco, Brasil, sob o número CAAE 40062720.0.0000.5208.

4.2 EXTRAÇÃO DE RNA

A extração das amostras de bloco parafinados de tecidos de mama das pacientes com câncer de mama foram extraídas utilizando o método de Trizol. As amostras foram cortadas em uma espessura que varia de 10 a 15 microns. Após estes cortes, as amostras foram pesadas de 100 a 150 mg de tecido. Logo após, foi adicionado 1 mL de Trizol e homogeneizado utilizando o vórtex. As amostras foram incubadas no Trizol por cerca de 5 a 10 minutos em temperatura ambiente para permitir a lise da membrana celular. Após essa primeira etapa foi adicionado 0,2 mL de Clorofórmio e, em seguida, misturado vigorosamente utilizando o vórtex. As amostras foram incubadas por cerca de 2 a 3 minutos na temperatura ambiente e depois centrifugadas a alta velocidade por cerca de 20 minutos para a separação de duas fases, uma fase aquosa que contém o material genético e uma outra fase orgânica que contém os restos celulares (figura 7). Todas as centrifugações do processo de extração foram realizadas a 4°C a fim de impedir a degradação do RNA. A fase aquosa foi transferida para um outro tubo e foi adicionado 1 mL de álcool isopropílico gelado. Após isso, as amostras foram incubadas a uma temperatura de -80°C por 20 minutos para que ocorresse a precipitação total do ácido nucleico. Passados os 20 minutos, as amostras foram centrifugadas em alta velocidade para precipitação do RNA e formação de um pellet, já o sobrenadante foi descartado. O *pellet* formado foi purificado utilizando álcool etílico a 70% e centrifugado por 10

minutos. Após essa centrifugação, o álcool foi removido e o pellet passou pelo processo de secagem a temperatura ambiente durante 30 minutos. Após isso, o *pellet* foi ressuspensionado em 30 μL de água *Nuclease-free* e foi adicionado 1,0 μL de DNase para garantir que apenas RNA estaria presente e, logo em seguida, as amostras foram incubadas a 37°C para atividade da DNase. O RNA extraído foi quantificado utilizando o Nanodrop e foram consideradas apenas amostras que apresentaram valores de quantificação maiores do que 125 ng/ μL e razões 260/280 entre 1,8 e 2,2 (figura 7).

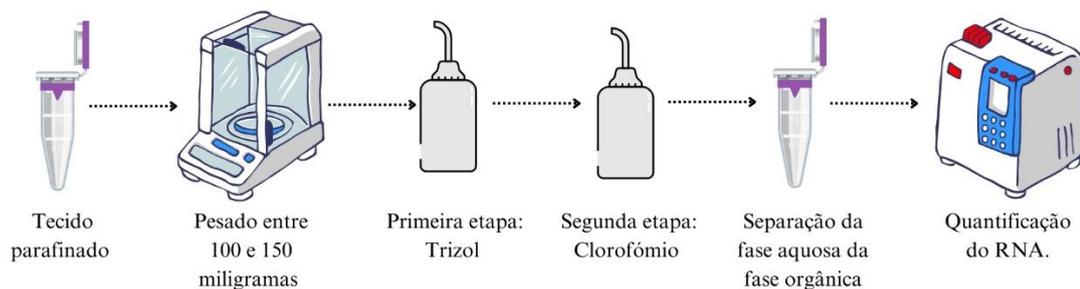


Figura 7: Processo de extração do RNA dos tecidos parafinados.

4.3 SÍNTESE DE CDNA

A síntese de cDNA foi realizada seguindo o manual do kit Maxima First Strand cDNA Synthesis Kit with dsDNase (Thermo Scientific), após a verificação da quantidade e qualidade do RNA isolado através do uso do Nanodrop (Thermo Scientific) considerando as razões 260/280 (1,8 – 2,2), e da visualização das bandas de RNA ribossômico em eletroforese em gel de agarose, respectivamente.

4.4 ANÁLISE DA EXPRESSÃO DOS ONCOGENES VIRAIS E DA IL-6 VIA RT-QPCR

A amplificação dos oncogenes E5, E6 e E7 do HPV, bem como do gene codificador da IL-6 foi realizada em placas de 96 poços, no termociclador LineGene9660 (Bioer), por meio do método de detecção com SYBR Green. As reações foram conduzidas conforme as recomendações do MIQE (BUSTIN et al., 2009), utilizando duas réplicas técnicas para cada condição experimental com uma amplificação prévia de 20 ciclos, para todas as amostras. Essa técnica foi utilizada para garantir a amplificação correta do material estudado (Vlasta korenková et al., 2015). Em seguida, foi realizada uma RT-qPCR com os seguintes parâmetros: 95°C por 2 minutos; 95°C por 25 segundos; 60°C por 1 minuto; 65°C por 20 segundos e 40

ciclos. A expressão relativa do gene foi analisada usando o método comparativo $2^{-\Delta\Delta C_t}$. Como controle endógeno das reações, as amostras foram amplificadas utilizando os genes de referência: Desidrogenase de Gliceraldeído-3-Fosfato (GAPDH) e Fator de Elongação da Tradução Eucariótico 1 Alfa 1 (EEF1A1). Os *primers* referentes aos genes alvos foram selecionados de acordo com a literatura (tabela 1).

Tabela 1: tabela com os primers usados na RT-qPCR. Fonte: autor 2025

ID	Sentido	Sequência	Tamanho do primer	Tamanho do amplicon	Referência
E5_HP16	F	ACAACATTACTGGCGTGCT	19	140	Ren et al., 2020
E5_HP16	R	GAGGCTGCTGTTATCCACAAT A	22	140	Ren et al., 2020
E6_HP16	F	TCAGGACCCACAGGAGCG	18	109	Ren et al., 2020
E6_HP16	R	CCTCACGTCGCAGTAACTGTTG	22	109	Ren et al., 2020
E7_HP16	F	CCGGACAGAGCCCATTACAA	20	92	Ren et al., 2020
E7_HP16	R	CGAATGTCTACGTGTGTGCTTT G	22	92	Ren et al., 2020
IL-6	F	ACTCACCTCTTCAGAACGAATTG	23	149	Li et al., 2016
IL-6	R	CCATCTTTGGAAGGTTGAGGTTG	23	149	Li et al. 2016
EEF1A1	F	GTTGCGGTGGGTGTCATCA	19	123	Leitao MdCG et al., 2014
EEF1A1	R	GAGTGGGGTGGCAGGTATT	19	123	Leitao MdCG et al., 2014
GAPDH	F	GAGTGGGGTGGCAGGTATT	19	91	Leitao MdCG et al., 2014
GAPDH	R	TAAGCAGTTGGTGGTGCAGG	20	91	Leitao MdCG et al., 2014

4.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

A distribuição dos dados foi realizada por meio do teste de Kolmogorov-Sminorv. As amostras que se apresentaram em distribuição normal foram submetidas ao teste Ordinary One-Way ANOVA. Resultados com valores de $p < 0,05$ foram considerados estatisticamente significativos. As análises foram realizadas no software

GraphPad Prism versão 9.0.0 (GraphPad Software, Inc. San Diego, CA, EUA).

5 RESULTADOS

5.1 Expressão dos oncogenes do HPV

Das 92 amostras de tecido parafinado disponíveis para o estudo, 50 tiveram RNA extraído em condições adequadas (concentração maior que 125 ng/ μ L e razão 260/280 entre 1,8 e 2,2). Dentre essas 50 amostras, 33 delas apresentaram expressão dos três oncogenes E5, E6 e E7 do HPV-16, enquanto 17 não apresentaram. Assim, 66% das amostras de biópsias de carcinoma mamário foram positivas para a presença e atividade do HPV.

A análise de expressão relativa dos oncogenes viriais demonstrou um aumento significativo dos níveis do oncogene E5 quando comparado com oncogenes E6 e E7 do HPV-16. A expressão de E5 apresenta diferença significativa considerando $p < 0,01$ e $p < 0,0001$ em relação a E6 e E7, respectivamente. Os oncogenes E6 e E7 não apresentam diferenças significativas entre si, apesar de ser possível observar uma tendência de maior expressão de E6 em comparação a E7 (figura 8).

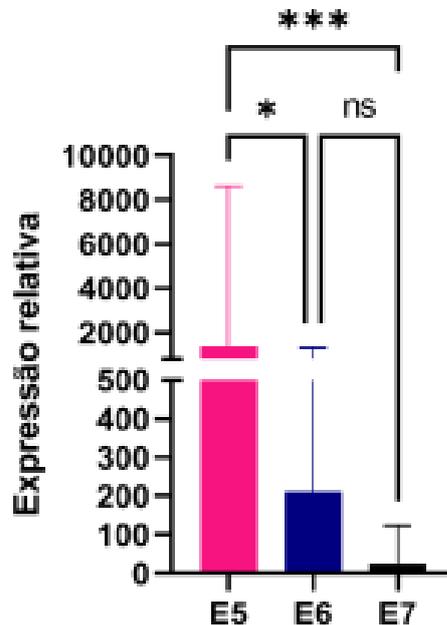


Figura 8: Expressão relativa das oncoproteínas do HPV E5, E6 e E7 nas amostras das pacientes com câncer de mama HPV positivo. * P -value $< 0,01$, *** P -value $< 0,0001$.

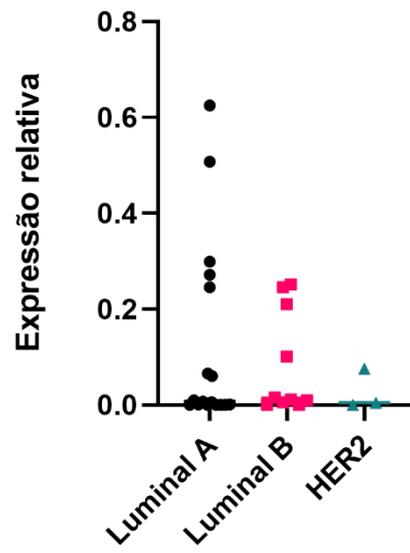


Figura 10: Análise da expressão relativa de IL-6 nos subtipos moleculares de câncer de mama positivos para o HPV.

6 DISCUSSÃO

Em nosso estudo foi investigado a expressão dos oncogenes do HPV em amostras de biópsia de câncer de mama de pacientes do estado de Pernambuco, Brasil. Inicialmente, o quantitativo amostral era de 92, porém, 50 dessas amostras apresentaram RNA de qualidade para seguimento do estudo. Essa redução do grupo amostral pode estar associada com o tipo de material utilizado que, por passar pela parafinização, acaba por vezes, perdendo material genético durante esse processo. A técnica de parafinização utilizando o formol a 10%, que é a forma mais utilizada em território nacional, é uma das formas mais práticas e com melhor custo-benefício de se conservar os tecidos para estudos, porém, essa técnica leva a junção de proteínas celulares com os ácidos nucleicos gerando a fragmentação desse material e dificultando a sua extração (Luciana Estevam Simonato et al., 2007; Ribeiro-Silva; Garcia, 2008).

Existe uma variabilidade na detecção do genoma viral em tecidos neoplásicos mamários, com números que vão desde ausência completa a 86% de detecção do material gênico do vírus nas amostras estudadas (Salman et al., 2017; Usman Ayub Awan et al., 2023). No nosso trabalho foi detectado 66% de amostras positivas para o HPV, essa variação na detecção do vírus acontece tanto ao tipo de amostra que foram utilizadas em cada trabalho como também por causa tipo de metodologia que foi empregada para a detecção do vírus.

O papilomavírus humano é um dos agentes que vem sendo investigados como possível influenciador na carcinogênese mamária, porém, os estudos que avaliam essa relação estão focados, principalmente, na detecção do material genético do vírus nesse tecido. A análise do perfil transcricional é de extrema importância para entender se o vírus está ativo e desempenhando algum papel no desenvolvimento da carcinogênese mamária (Ji et al. 2024; Mitchell et al. 2024). Desse modo, destaca-se a importância do presente estudo, que busca avaliar a expressão dos oncogenes e realizar uma análise comparativa da IL-6 em pacientes com tumores de mama HPV-positivos e HPV-negativos, contribuindo para uma melhor compreensão dos mecanismos moleculares envolvidos na infecção pelo HPV em carcinomas mamários.

Referente a expressão relativa das oncoproteínas, os resultados do estudo destacam uma maior expressão da oncoproteína E5 apresentando níveis mais elevados em comparação às oncoproteínas E6 e E7. Esse resultado sugere um papel potencialmente distinto e mais ativo dessa proteína viral no tecido carcinogênico

mamário. O estudo realizado por Nascimento *et al.* (2024) também investigou a presença do HPV em amostras de tecido neoplásico mamário e a expressão da oncoproteína E5, no qual foi visto um percentual de 37,1% de amostras positivas para o HPV e que também expressavam a oncoproteína E5. A maior expressão dessa proteína viral em tecidos mamários pode estar associada a um processo adaptativo do vírus, essencial para assegurar a replicação eficiente de seu material genético.

Estudos anteriores indicam que a oncoproteína E5 pode modular vias de sinalização que estão relacionados com a proliferação e crescimento celular, como também vias imunológicas ligadas a regulação do complexo de histocompatibilidade humano de classe 1 (MHC 1), regulando negativamente essa sinalização e ajudando assim no escape imunológico das células que estão infectados pelo HPV (Bhattacharjee *et al.*, 2022; Skelin; Sabol; Tomaić, 2022). A maior expressão de E5 nos tecidos mamários aqui avaliados pode acontecer como uma estratégia do vírus de induzir a célula a entrar no seu estado replicação e com isso produzir mais cópias do genoma viral.

A oncoproteína E5 diferentemente das oncoproteínas E6 e E7, que estão mais amplamente associadas à degradação de proteínas supressoras tumorais como p53 e Rb respectivamente, tem sido relacionada com mecanismos de interação com receptores de fator de crescimento e à modulação da resposta imune (Ren *et al.*, 2020). A expressão elevada de E5 pode intensificar a ativação de receptores como o receptor do fator de crescimento epidérmico, promovendo uma cascata de sinalizações que favorecem o crescimento tumoral (Ilahi; Bhatti, 2020).

No trabalho de São Marcos *et al.* (2024) foi investigado a presença das oncoproteínas do HPV em amostras de pacientes com câncer de pulmão, no qual foi visto uma maior expressão da oncoproteína E5, mostrando que essa proteína viral pode ser mais expressa em cânceres não anogenitais. No contexto aqui avaliado, a expressão elevada de E5 observada em pacientes com câncer de mama positivos para o HPV pode indicar um mecanismo adaptativo do vírus de sobreviver em cânceres não anogenitais, levando como consequência a progressão tumoral.

A interleucina 6 é uma citocina que desempenha um papel crucial na regulação do sistema imunológico principalmente em processos pró-inflamatórios, porém ela pode participar de diversos processos não imunológicos (Kang *et al.*, 2019; Scheller, J. *et al.* 2011). Essa citocina pode ser produzida por várias células imunológicas como macrófagos, neutrófilos, células dendríticas, e também por outras células não

imunológicas, como por exemplo fibroblastos e adipócitos (Manore, S. G. *et al.* 2022; Rose-john, S *et. al.* 2017). A IL-6 participa na diferenciação de células T *naive* em células Th17 ou T reguladoras (Tregs), essa transformação depende do microambiente no qual o linfócito está inserido, influenciando assim o equilíbrio entre inflamação e tolerância imunológica (DE Simone *et al.*, 2014). Em nosso trabalho foi encontrado uma menor expressão de IL-6 em tecidos de câncer de mama infectados pelo HPV, o que pode gerar um ambiente anti-inflamatório, podendo assim, contribuir para a progressão tumoral evitando o recrutamento de células imunes e a resposta imunológica.

Quando avaliamos o câncer de mama, a IL-6 pode ser uma peça importante para entendermos a interação entre o microambiente tumoral e as células cancerígenas. Essa citocina pode contribuir para a progressão tumoral ao promover a sobrevivência celular, a proliferação e a invasão, além disso, pode ativar uma ampla gama de vias de sinalização sendo a principal delas a via IL-6/JAK2/STAT3, essa via é um dos principais mecanismos moleculares implicados na carcinogênese (Berishaj *et al.*, 2007; Manore, S. G. *et al.* 2022). Em nosso estudo, a comparação entre a expressão de IL-6 em pacientes HPV- positivos e HPV- negativos revelou uma tendência de maior expressão nas amostras negativas para o HPV, embora essa diferença não tenha sido estatisticamente significativa ($p > 0,05$). Esse resultado sugere uma possível regulação negativa da expressão gênica dessa citocina mediada pelo HPV.

O resultado da expressão de IL-6 aqui encontrado é contrário ao que foi achado por estudos anteriores como o de Charostad *et al.* (2022) no qual foi encontrada uma super expressão da IL-6 em amostras de câncer de mama que eram HPV- positivos. O estudo supracitado não investigou o tipo de HPV que estava presente no tecido mamário, partindo disso, é possível que o genótipo viral do estudo não tenha sido o HPV-16, genótipo avaliado no presente estudo. O genótipo 16 do HPV faz parte do grupo de HPVs de alto risco oncogênico, possuindo as proteínas virais E5, E6 e E7 que levam às transformações celulares e desencadeiam o processo carcinogênico (Chua *et al.*, 2022; De martel *et al.*, 2017). Esse genótipo de HPV é encontrado em diversos tipos de cânceres, como o câncer de colo uterino, de pênis, vulva, cabeça e pescoço, além de cânceres de pulmão e mama (Mcinnis *et al.*, 2023).

A tendência observada nas amostras negativas para o HPV pode sugerir que outros fatores podem estar contribuindo para a regulação negativa da IL-6 nesses

casos, como alterações genéticas ou epigenéticas específicas do tumor que podem interagir com o HPV. No estudo realizado por Santos et al. (2024) foi observado um aumento na expressão de IL-6 em células de câncer de mama e em linfócitos transfectados com as oncoproteínas E6 e E7, associando essas proteínas virais à maior expressão de IL-6 tanto em células cancerígenas quanto nas células imunes presentes no microambiente tumoral. Essa diferença de expressão pode ser explicada pelo fato de que no trabalho citado foi utilizado células de câncer de mama triplo-negativas, enquanto, no presente estudo, o maior grupo amostral corresponde ao subtipo luminal A, que apresenta características biológicas distintas.

A via cGAS-STING apresenta um importante papel na detecção de material genético no citoplasma celular, seja por danos causados ao DNA ou por infecções de vírus de DNA (Samson; Ablasser, 2022). Essa via leva a ativação de fatores de transcrição, como o NF-κB, que pode levar a expressão de alguns genes envolvidos na regulação da resposta inflamatória, como a IL-6 (SHAO et al., 2024). Estudos que investigam a relação do HPV com a via cGAS-STING mostram que as oncoproteínas do HPV podem levar ao silenciamento dessa via, ocasionando uma menor expressão de IL-6 em células infectadas pelo HPV justamente pela menor ativação de NF-κB que ativa o gene da IL-6 (Lau et al., 2015; Tolbert et al., 2024). Os resultados apresentados neste estudo podem sugerir que a oncoproteína E5 do HPV pode desempenhar um papel importante ao antagonizar a ativação da via cGAS-STING. Esse antagonismo pode resultar em uma menor expressão de determinadas citocinas como a IL-6, o que foi observado em pacientes com câncer de mama associados ao HPV. No entanto, para compreender plenamente o impacto dessa interação, é fundamental realizar análises mais detalhadas, não apenas desta via, mas também de outros mecanismos moleculares relacionados.

A expressão relativa da IL-6 também foi avaliada apenas nas amostras positivas para o HPV considerando os subtipos moleculares do câncer de mama. Com isso, foi observada uma menor expressão de IL-6 no subtipo molecular HER2. Esse subgrupo é caracterizado por sua alta taxa de proliferação celular e comportamento agressivo, frequentemente associado a um microambiente tumoral altamente inflamado (Oh; Bang, 2019). No entanto, conforme demonstrado em nosso resultado, a presença do HPV pode modular a expressão de IL-6, ocasionando a sua menor expressão. Essa redução de IL-6 mediada pelo HPV pode criar um microambiente

menos inflamatório, favorecendo assim, a sobrevivência e o crescimento do tumor (Fisher; Appenheimer; Evans, 2014).

A capacidade do HPV de alterar vias de sinalização imune, em conjunto com a menor expressão de IL-6, pode ser um mecanismo adaptativo do vírus em células mamárias, contribuindo assim, para o escape imunológico, sendo esse mecanismo mais expressivo no subtipo HER2. Ao modular a inflamação através da redução de IL-6, o HPV pode contribuir para um ambiente mais permissivo ao crescimento tumoral, reforçando a necessidade de investigações futuras sobre a interação entre fatores virais e moleculares no câncer de mama.

7 CONCLUSÃO

Nosso estudo identificou a presença do HPV em 66% das amostras analisadas, evidenciando uma proporção significativa da presença do vírus em amostras de câncer de mama provenientes de pacientes do estado de Pernambuco, Brasil. Observou-se também uma maior expressão do oncogene viral E5 em comparação aos oncogenes E6 e E7, sugerindo um papel distinto dessa proteína viral neste câncer. Além disso, foi identificada uma tendência de menor expressão de IL-6 em pacientes com tumores positivos para HPV. Essa condição pode favorecer o escape imunológico, permitindo que as células neoplásicas infectadas possam evadir a resposta imune, contribuindo para a progressão do câncer. Nos subtipos moleculares do câncer de mama avaliados, destacou-se uma tendência de menor expressão de IL-6 em tumores do tipo HER2 positivos para HPV, mostrando que esse possível mecanismo adaptativo do vírus em tecidos mamários, pode reforçar a complexidade da interação entre o microambiente tumoral e as células neoplásicas. Assim, os dados obtidos no presente estudos indicam que o HPV pode influenciar o comportamento tumoral em cânceres de mama por meio de mecanismos que envolvem tanto a regulação do microambiente tumoral quanto a expressão de genes associados aos oncogenes virais, especialmente E5.

REFERÊNCIAS

AFZAL, S. et al. Interrelated Oncogenic Viruses and Breast Cancer. *Frontiers in Molecular Biosciences*, v. 9, 28 mar. 2022.

ANDERSON, N. M.; SIMON, M. C. The Tumor Microenvironment. *Current Biology*, v. 30, n. 16, p. R921–R925, ago. 2020.

ARTAZA-IRIGARAY, C. et al. E6/E7 and E6* From HPV16 and HPV18 Upregulate IL-6 Expression Independently of p53 in Keratinocytes. *Frontiers in Immunology*, v. 10, 23 jul. 2019.

AYDIN, I. et al. Large scale RNAi reveals the requirement of nuclear envelope breakdown for nuclear import of human papillomaviruses. *PLoS Pathogens*, v. 10, p. e1004162, 2014.

AYRES, A. R. G.; SILVA, G. A. E. Prevalência de infecção do colo do útero pelo HPV no Brasil: revisão sistemática. *Revista de saúde pública*, v. 44, n. 5, p. 963–974, 2010.

BARAN P, Nitz R, Grötzinger J, Scheller J, Garbers C. Minimal interleukin 6 (IL-6) receptor stalk composition for IL-6 receptor shedding and IL-6 classic signaling. *J Biol Chem*. 2013.

BARDOU, D.; ZHANG, K.; AHMAD, S. M. Classification of Breast Cancer Based on Histology Images Using Convolutional Neural Networks. *IEEE Access*, v. 6, p. 24680–24693, 2018.

BARROS, M. R. et al. Viral Modulation of TLRs and Cytokines and the Related Immunotherapies for HPV-Associated Cancers. *Journal of Immunology Research*, v. 2018, p. 1–17, 2018.

BERISHAJ, M. et al. Stat3 is tyrosine-phosphorylated through the interleukin-6/glycoprotein 130/Janus kinase pathway in breast cancer. **Breast Cancer Research**, v. 9, n. 3, 25 maio 2007.

BHATTACHARJEE, R. et al. Mechanistic role of HPV-associated early proteins in cervical cancer: Molecular pathways and targeted therapeutic strategies. **Critical Reviews in Oncology/Hematology**, v. 174, p. 103675, jun. 2022.

BRAY, F. et al. Global Cancer Statistics 2022: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. **CA: A**.

BUSSARD, K. M. et al. Tumor-associated stromal cells as key contributors to the tumor microenvironment. **Breast Cancer Research**, v. 18, n. 1, 11 ago. 2016.

CAI, C.; PENG, X.; ZHANG, Y. Serum IL-6 Level Predicts the Prognosis and Diagnosis in Cervical Cancer Patients. **International Journal of Women's Health**, v. Volume 14, p. 655–663, maio 2022.

CAVALCANTE, J. et al. Association of breast cancer with human papillomavirus (HPV) infection in Northeast Brazil: molecular evidence. **Clinics**, v. 73, 10 out. 2018.

CHAROSTAD, J. et al. Upregulation of Interleukin-6 in HPV-Positive Breast Cancer Patients. **Iran J Immunol**, v. 18, n. 4, p. 315–330, 2021.

CHEN, Q. et al. Fever-range thermal stress promotes lymphocyte trafficking across high endothelial venules via an interleukin 6 trans-signaling mechanism. **Nature Immunology**, v. 7, n. 12, p. 1299–1308, 5 nov. 2006.

CHEN, Y. et al. Viral Etiology Relationship between Human Papillomavirus and Human Breast Cancer and Target of Gene Therapy. **PubMed**, v. 29, n. 5, p. 331–9, 1 maio 2016.

CHUA, B. W. B. et al. Is It Time to Genotype Beyond HPV16 and HPV18 for Cervical Cancer Screening? **International Journal of Public Health**, v. 67, 12 maio 2022.

CIRIELLO, G. et al. The molecular diversity of Luminal A breast tumors. **Breast Cancer Research and Treatment**, v. 141, n. 3, p. 409–420, out. 2013.

CIRQUEIRA, M.B.; Moreira, M.A.R.M.; Soares, L.R.; Freitas-Júnior, R. Subtipos Moleculares Do Câncer de Mama. **Femina** 2011, 39, 499–503.

CONAGESKI, C. Human Papillomavirus Vaccines. **Clinical Obstetrics and Gynecology**, v. 66, n. 3, p. 433–447, 25 jul. 2023.

COSPER, P. F. et al. Biology of HPV Mediated Carcinogenesis and Tumor Progression. **Seminars in Radiation Oncology**, v. 31, n. 4, p. 265–273, 1 out. 2021.

CRESSMAN, D. E. et al. Liver Failure and Defective Hepatocyte Regeneration in Interleukin-6-Deficient Mice. **Science**, v. 274, n. 5291, p. 1379–1383, 22 nov. 1996.

DALENC, F. et al. Impact of lobular versus ductal histology on overall survival in metastatic breast cancer: a French retrospective multicentre cohort study. **European Journal of Cancer**, v. 164, p. 70–79, mar. 2022.

DE MARTEL, C. et al. Worldwide burden of cancer attributable to HPV by site, country and HPV type. **International Journal of Cancer**, v. 141, n. 4, p. 664–670, 8 jun. 2017.

DE MICHELE, A. et al. Host Genetic Variants in the Interleukin-6 Promoter Predict Poor Outcome in Patients with Estrogen Receptor-Positive, Node-Positive Breast Cancer. **Cancer Research**, v. 69, n. 10, p. 4184–4191, 12 maio 2009.

DE SANJOSÉ, S. et al. Worldwide prevalence and genotype distribution of cervical human papillomavirus DNA in women with normal cytology: a meta-analysis. **The Lancet infectious diseases**, v. 7, n. 7, p. 453–459, 2007.

DE SIMONE, V. et al. Th17-type cytokines, IL-6 and TNF- α synergistically activate STAT3 and NF- κ B to promote colorectal cancer cell growth. **Oncogene**, v. 34, n. 27, p. 3493–3503, 1 set. 2014.

DE SOUZA, Juliana Lane Pacheco et al. Perfil histopatológico e molecular do câncer de mama em mulheres assistidas em centro de oncologia do Agreste Pernambucano. **VITTALLE-Revista de Ciências da Saúde**, v. 31, n. 2, p. 38-46, 2019

DI LONARDO, A.; VENUTI, A.; MARCANTE, M. L. Human papillomavirus in breast cancer. **Breast Cancer Research and Treatment**, v. 21, n. 2, p. 95–100, jun. 1992.

DOM-CHIMA, Ngozi; BISWAS-FISS, Esther; BISWAS, Subhasis. A Systematic Review of Human Papillomavirus Genotypes in Women With Normal Cervical Cytology: **The Brazilian Paradigm**. *Research Square*, 2021.

FAN, Y.; MAO, R.; YANG, J. NF- κ B and STAT3 signaling pathways collaboratively link inflammation to cancer. **Protein & Cell**, v. 4, n. 3, p. 176–185, mar. 2013.

FISHER, D. T.; APPENHEIMER, M. M.; EVANS, S. S. The two faces of IL-6 in the tumor microenvironment. **Seminars in Immunology**, v. 26, n. 1, p. 38–47, fev. 2014.

Fontes, Pedro Henrique Bezerra. Detecção e expressão de oncogenes do HPV em tecidos tumorais de mama / Pedro Henrique Bezerra Fontes. - Recife, 2024.

GAJEWSKI, T. F.; SCHREIBER, H.; FU, Y.-X. Innate and adaptive immune cells in the tumor microenvironment. **Nature Immunology**, v. 14, n. 10, p. 1014–1022, 18 set. 2013.

GAMBOA-HOIL, S. I. Human papillomavirus in men. **Revista Internacional de Andrología**, v. 21, n. 1, p. 100325, jan. 2023.

GARDELLA, B. et al. Cytokines and chemokines levels in primary HPV infection: a pilot study. **Acta Virologica**, v. 65, n. 01, p. 75–81, 1 jan. 2021.

HAAN C, KREIS S, MARGUE C, BEHRMANN I. Jaks and cytokine receptors--an intimate relationship. **Biochem Pharmacol**. 2006 Nov 30;72(11):1538-46. doi: 10.1016/j.bcp.2006.04.013.

HARDEN, M. E.; MUNGER, K. Human papillomavirus molecular biology. **Mutation Research/Reviews in Mutation Research**, v. 772, p. 3–12, abr. 2017.

HE, L. et al. Histology image analysis for carcinoma detection and grading. **Computer Methods and Programs in Biomedicine**, v. 107, n. 3, p. 538–556, set. 2012.

HEE JA KIM et al. Reprogramming of cancer-associated fibroblasts by apoptotic cancer cells inhibits lung metastasis via Notch1-WISP-1 signaling. **Cellular & Molecular Immunology**, v. 19, n. 12, p. 1373–1391, 14 out. 2022.

HERSH, A. M. et al. Molecular Pathways and Genomic Landscape of Glioblastoma Stem Cells: Opportunities for Targeted Therapy. **Cancers**, v. 14, n. 15, p. 3743, 31 jul. 2022.

HORSTEN, U. et al. The membrane distal half of gp130 is responsible for the formation of a ternary complex with IL-6 and the IL-6 receptor. **FEBS Letters**, v. 360, n. 1, p. 43–46, 20 fev. 1995.

HUANG, B.; LANG, X.; LI, X. The role of IL-6/JAK2/STAT3 signaling pathway in cancers. **Frontiers in Oncology**, v. 12, 16 dez. 2022.

HUSAIN, R. S. A.; RAMAKRISHNAN, V. Global variation of human Papillomavirus genotypes and selected genes involved in cervical malignancies. **Annals of global health**, v. 81, n. 5, p. 675, 2016.

ILAHI, N. E.; BHATTI, A. Impact of HPV E5 on viral life cycle via EGFR signaling. **Microbial Pathogenesis**, v. 139, p. 103923, fev. 2020.

INCA. INCA estima 704 mil casos de câncer por ano no Brasil até 2025. Disponível em: <https://www.gov.br/inca/pt-br/assuntos/noticias/2022/inca-estima-704-mil-casos-de-cancer-por-ano-no-brasil-ate-2025>.

ISLAM, MD. S.; CHAKRABORTY, B.; PANDA, C. K. Human papilloma virus (HPV) profiles in breast cancer: future management. **Annals of Translational Medicine**, v. 8, n. 10, 1 maio 2020.

ISLAM, S. et al. Study of association and molecular analysis of human papillomavirus in breast cancer of Indian patients: Clinical and prognostic implication. v. 12, n. 2, p. e0172760–e0172760, 28 fev. 2017.

JI, HAOYAN, et al. Spatial Gene-Expression Profiling Unveils ImmunoOncogenic Programs of NF1-Associated Peripheral Nerve Sheath Tumor Progression. **Clinical Cancer Research**, v. 30, n. 5, p. 1038–53, 2024.

JOHNSON, D. E.; O'KEEFE, R. A.; GRANDIS, J. R. Targeting the IL-6/JAK/STAT3 signalling axis in cancer. **Nature Reviews Clinical Oncology**, v. 15, n. 4, p. 234–248, 6 fev. 2018

JONES SA, HORIUCHI S, TOPLEY N, YAMAMOTO N, FULLER GM. The soluble interleukin 6 receptor: mechanisms of production and implications in disease. **FASEB J**. 2001 Jan;15(1):43-58. doi: 10.1096/fj.99-1003rev.

JOSTOCK, T. et al. Soluble gp130 is the natural inhibitor of soluble interleukin-6 receptor transsignaling responses. **European Journal of Biochemistry**, v. 268, n. 1, p. 160–167, jan. 2001.

JÜRGEN MÜLLBERG et al. Differential shedding of the two subunits of the interleukin-6 receptor. **FEBS Letters**, v. 332, n. 1-2, p. 174–178, 11 out. 1993.

KANG, S. et al. Historical overview of the interleukin-6 family cytokine. **Journal of Experimental Medicine**, v. 217, n. 5, 8 abr. 2020

KANG, S. et al. Targeting Interleukin-6 Signaling in Clinic. **Immunity**, v. 50, n. 4, p. 1007–1023, abr. 2019.

KASHYAP, D. et al. Global Increase in Breast Cancer Incidence: Risk Factors and Preventive Measures. **BioMed Research International**, v. 2022, p. 1–16, 18 abr. 2022.

KHELFI, S. et al. Molecular Classification of Breast Cancer in the Region of Constantine: An Epidemiological Study. **Journal of Nanosciences Research & Reports**, p. 1–3, 31 mar. 2020.

KISTNER, T. M.; PEDERSEN, B. K.; LIEBERMAN, D. E. Interleukin 6 as an energy allocator in muscle tissue. **Nature Metabolism**, v. 4, n. 2, p. 170–179, fev. 2022.

KOZŁOWSKI, L. et al. Concentration of interleukin-6 (IL-6), interleukin-8 (IL-8) and interleukin-10 (IL-10) in blood serum of breast cancer patients. **Roczniki Akademii Medycznej w Białymstoku (1995)**, v. 48, p. 82–84, 1 jan. 2003.

KUDELA, E. et al. HPV-Associated Breast Cancer: Myth or Fact? **Pathogens**, v. 11, n. 12, p. 1510, 9 dez. 2022.

KUSAKABE, M. et al. Carcinogenesis and management of human papillomavirus-associated cervical cancer. **International Journal of Clinical Oncology**, v. 28, n. 8, p. 965–974, 2023.

LAU, L. et al. DNA tumor virus oncogenes antagonize the cGAS-STING DNA-sensing pathway. **Science**, v. 350, n. 6260, p. 568–571, 24 set. 2015.

LAWSON, J. S.; GLENN, W. K.; WHITAKER, N. J. Human Papilloma Viruses and Breast Cancer – Assessment of Causality. **Frontiers in Oncology**, v. 6, 29 set. 2016.

LEITAO MDCG, Coimbra Ec, Lima Rdcpd, Guimaraes Mde L, Heraclio Sde A, Silva Neto, Jda C, DE FREITAS AC. Quantifying mRNA and MicroRNA with qPCR in

Cervical Carcinogenesis: A Validation of Reference Genes to Ensure Accurate Data. **PLoS ONE** 2014, 9(11):e1111021.

LI, J.J.; TSANG, J.Y.; TSE, G.M. Tumor Microenvironment in Breast Cancer—Updates on Therapeutic Implications and Pathologic Assessment. **Cancers (Basel)**. 2021, 13.

LI, X. et al. Lung tumor exosomes induce a pro-inflammatory phenotype in mesenchymal stem cells via NFκB-TLR signaling pathway. **Journal of Hematology & Oncology**, v. 9, n. 1, 18 abr. 2016.

LI, Z. et al. The Role of Progesterone Receptors in Breast Cancer. **Drug Design, Development and Therapy**, v. 16, n. 16, p. 305–314, 26 jan. 2022.

LIU, X. et al. Impact of human papillomavirus on the tumor microenvironment in oropharyngeal squamous cell carcinoma. **International Journal of Cancer**, v. 150, n. 3, p. 521–531, 1 fev. 2022.

MA, J.; QIN, L.; LI, X. Role of STAT3 signaling pathway in breast cancer. **Cell Communication and Signaling**, v. 18, n. 1, 28 fev. 2020.

MANORE, S. G. et al. IL-6/JAK/STAT3 Signaling in Breast Cancer Metastasis: Biology and Treatment. **Frontiers in Oncology**, v. 12, 15 mar. 2022.

MÄRZ, P.; OTTEN, U.; ROSE-JOHN, S. Neural activities of IL-6-type cytokines often depend on soluble cytokine receptors. **European Journal of Neuroscience**, v. 11, n. 9, p. 2995–3004, set. 1999.

MCBRIDE, A. A. Human papillomaviruses: diversity, infection and host interactions. **Nature Reviews Microbiology**, v. 20, n. 2, p. 95–108, 14 set. 2021.

MCBRIDE, A. A. Human papillomaviruses: diversity, infection and host interactions. **Nature Reviews Microbiology**, v. 20, n. 2, p. 95–108, 14 set. 2021.

MCINNIS, C. et al. Identification of HPV16 E1 and E2-specific T cells in the oropharyngeal cancer tumor microenvironment. **Journal for ImmunoTherapy of Cancer**, v. 11, n. 3, p. e006721, mar. 2023.

MERLO, L. M. F. et al. Cancer as an evolutionary and ecological process. **Nature Reviews Cancer**, v. 6, n. 12, p. 924–935, 16 nov. 2006.

MICHAELS, E.; WORTHINGTON, R. O.; RUSIECKI, J. Breast Cancer: Risk Assessment, Screening, and Primary Prevention. **Medical Clinics of North America**, v. 107, n. 2, p. 271–284, 1 mar. 2023.

MIRANDA, Paulo Jose Cunha et al. Correlation between human papillomavirus infection and histopathological diagnosis of women in Northeast Brazil. **Journal of Medical Virology**, v. 92, n. 12, p. 3799–3806, 2020.

MIYAUCHI, S. et al. Human papillomavirus E5 suppresses immunity via inhibition of the immunoproteasome and STING pathway. **Cell Reports**, v. 42, n. 5, p. 112508–112508, 1 maio 2023.

MORGAN, E. L.; MACDONALD, A. Autocrine STAT3 activation in HPV positive cervical cancer through a virus-driven Rac1—NFκB—IL-6 signalling axis. **PLOS Pathogens**, v. 15, n. 6, p. e1007835, 21 jun. 2019.

MORGAN, E. L.; MACDONALD, A. Autocrine STAT3 activation in HPV positive cervical cancer through a virus-driven Rac1—NFκB—IL-6 signalling axis. **PLOS Pathogens**, v. 15, n. 6, p. e1007835, 21 jun. 2019.

MÜLLBERG, J. et al. The soluble interleukin-6 receptor is generated by shedding. **European Journal of Immunology**, v. 23, n. 2, p. 473–480, 1993.

NASCIMENTO, K. C. G. et al. HPV Detection in Breast Tumors and Associated Risk Factors in Northeastern Brazil. **Cells**, v. 13, n. 13, p. 1132, 1 jan. 2024.

NELSON, C. W.; MIRABELLO, L. Human papillomavirus genomics: Understanding carcinogenicity. *Tumour Virus Research*, v. 15, p. 200258, fev. 2023.

NOVICK D, ENGELMANN H, WALLACH D, RUBINSTEIN M. Soluble cytokine receptors are present in normal human urine. *J Exp Med*. 1989 Oct 1;170(4):1409-14. doi: 10.1084/jem.170.4.1409

OH, D.-Y.; BANG, Y.-J. HER2-targeted therapies — a role beyond breast cancer. *Nature Reviews Clinical Oncology*, v. 17, n. 1, p. 33–48, 23 set. 2019.

ORIMO, A. et al. Stromal fibroblasts present in invasive human breast carcinomas promote tumor growth and angiogenesis through elevated SDF-1/CXCL12 secretion. *Cell*, v. 121, n. 3, p. 335–48, 2005.

OYOUNI, A. A. A. Human papillomavirus in cancer: Infection, disease transmission, and progress in vaccines. *Journal of Infection and Public Health*, v. 16, n. 4, p. 626–631, abr. 2023.

PAGÈS, F. et al. Effector Memory T Cells, Early Metastasis, and Survival in Colorectal Cancer. *New England Journal of Medicine*, v. 353, n. 25, p. 2654–2666, 22 dez. 2005.

PARDOLL, D. M. The blockade of immune checkpoints in cancer immunotherapy. *Nature Reviews Cancer*, v. 12, n. 4, p. 252–264, 22 mar. 2012.

PEROU, C. M. et al. Molecular portraits of human breast tumours. *Nature*, v. 406, n. 6797, p. 747–752, ago. 2000.

PROIETTO, M. et al. Tumor heterogeneity: preclinical models, emerging technologies, and future applications. *Frontiers in Oncology*, v. 13, 28 abr. 2023.

PYEON, D. et al. Establishment of human papillomavirus infection requires cell cycle progression. *PLoS Pathogens*, v. 5, p. e1000318, 2009.

RABE, B. et al. Transgenic blockade of interleukin 6 transsignaling abrogates inflammation. **Blood**, v. 111, n. 3, p. 1021–1028, 1 fev. 2008.

RAFFA, A. B. et al. The evolving field of research on human papillomavirus receptors: a review of binding and entry. *Journal of Virology*, v. 87, p. 6062–6072, 2013.

REN, S. et al. HPV E2, E4, E5 drive alternative carcinogenic pathways in HPV positive cancers. **Oncogene**, v. 39, n. 40, p. 6327–6339, 26 ago. 2020.

RIBEIRO, A.; CAODAGLIO, A.; SICHERO, L. Regulation of HPV transcription. **Clinics**, v. 73, n. Suppl 1, 9 out. 2018.

RICHARDS, K. H. et al. Human Papillomavirus E7 Oncoprotein Increases Production of the Anti-Inflammatory Interleukin-18 Binding Protein in Keratinocytes. v. 88, n. 8, p. 4173–4179, 15 abr. 2014.

RICHTER, K. et al. Age-specific prevalence of cervical human papillomavirus infection and cytological abnormalities in women in Gauteng Province. **South African medical journal**, v. 103, n. 5, p. 313, 2013

ROBBINS, P. F. et al. Mining exomic sequencing data to identify mutated antigens recognized by adoptively transferred tumor-reactive T cells. **Nature Medicine**, v. 19, n. 6, p. 747–752, 5 maio 2013.

ROSALIK, K.; TARNEY, C.; HAN, J. Human Papilloma Virus Vaccination. **Viruses**, v. 13, n. 6, p. 1091, 1 jun. 2021.

ROSE-JOHN, S. et al. Targeting IL-6 trans-signalling: past, present and future prospects. **Nature Reviews Immunology**, p. 1–16, 17 abr. 2023.

ROSE-JOHN, S. Interleukin-6 Family Cytokines. Cold Spring Harbor **Perspectives in Biology**, v. 10, n. 2, p. a028415, 15 jun. 2017.

ROSE-JOHN, S. Interleukin-6 signalling in health and disease. **F1000Research**, v. 9, 20 ago. 2020.

ROY, M. et al. Molecular Classification of Breast Cancer. **PET clinics**, v. 18, n. 4, p. 441–458, 1 out. 2023.

SALGADO, R. et al. Circulating interleukin-6 predicts survival in patients with metastatic breast cancer. **International Journal of Cancer**, v. 103, n. 5, p. 642–646, 19 dez. 2002.

SALMAN, N. A. et al. Association of High Risk Human Papillomavirus and Breast cancer: A UK based Study. **Scientific Reports**, v. 7, n. 1, 27 fev. 2017.

SAMSON, N.; ABLASSER, A. The cGAS–STING pathway and cancer. **Nature Cancer**, v. 3, n. 12, p. 1452–1463, 12 dez. 2022.

SANSONE, P. et al. IL-6 triggers malignant features in mammospheres from human ductal breast carcinoma and normal mammary gland. **Journal of Clinical Investigation**, v. 117, n. 12, p. 3988–4002, 3 dez. 2007.

SANTOS, D. L. et al. Immunological Response against Breast Lineage Cells Transfected with Human Papillomavirus (HPV). **Viruses**, v. 16, n. 5, p. 717–717, 30 abr. 2024.

SÃO MARCOS, B. DE F. et al. Immune Response Modulation by HPV16 Oncoproteins in Lung Cancer: Insights from Clinical and In Vitro Investigations. **Viruses**, v. 16, n. 11, p. 1731, 4 nov. 2024.

SHELLER, J. et al. The pro- and anti-inflammatory properties of the cytokine interleukin-6. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Cell Research*, v. 1813, n. 5, p. 878–888, maio 2011.

SCHUSTER, B. et al. The human interleukin-6 (IL-6) receptor exists as a preformed dimer in the plasma membrane. **FEBS letters**, v. 538, n. 1-3, p. 113–116, 20 fev. 2003.

SHAO, C. et al. The role of cGAS-STING signaling in the development and therapy of head and neck squamous cell carcinoma. **Frontiers in Immunology**, v. 15, 4 set. 2024.

SIMÕES, P. W. et al. Prevalence of Human Papillomavirus in Breast Cancer: A Systematic Review. **International Journal of Gynecologic Cancer**, v. 22, n. 3, p. 343–347, mar. 2012.

SIMONATO L. E. et al. Avaliação de dois métodos de extração de DNA de material parafinado para amplificação em PCR. **Jornal Brasileiro De Patologia E Medicina Laboratorial**, v. 43, n. 2, p. 121–127, 1 abr. 2007.

SKELIN, J.; SABOL, I.; TOMAIĆ, V. Do or Die: HPV E5, E6 and E7 in Cell Death Evasion. **Pathogens**, v. 11, n. 9, p. 1027, 1 set. 2022.

SKINIOTIS G, BOULANGER MJ, GARCIA KC, WALZ T. Signaling conformations of the tall cytokine receptor gp130 when in complex with IL-6 and IL-6 receptor. *Nat Struct Mol Biol.* 2005 Jun;12(6):545-51. doi: 10.1038/nsmb941

SONG, Z. et al. Expression of IL-1 α and IL-6 is Associated with Progression and Prognosis of Human Cervical Cancer. **Medical science monitor**, v. 22, p. 4475–4481, 20 nov. 2016

SULAIMAN VESAL et al. Classification of Breast Cancer Histology Images Using Transfer Learning. **Springer eBooks**, p. 812–819, 27 jun. 2018.

SHUKLA, S. et al. Level of phospho-STAT3 (Tyr705) correlates with copy as a global health concern. **The British Journal of Radiology**, v. 95, n. 1130, 14 dez. 2021.

TANAKA, T.; NARAZAKI, M.; KISHIMOTO, T. IL-6 in Inflammation, Immunity, and Disease. **Cold Spring Harbor Perspectives in Biology**, v. 6, n. 10, p. a016295–a016295, 4 set. 2014.

TOLBERT, E. et al. Cutaneous human papillomavirus E6 impairs the cGAS-STING pathway. 5 dez. 2024. The significant role of interleukin-6 and its signaling pathway in the immunopathogenesis and treatment of breast cancer. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 108, p. 1415–1424, 1 dez. 2018.

TROVATO, M. et al. Interleukin-6 signalling as a valuable cornerstone for molecular medicine (Review). **International Journal of Molecular Medicine**, v. 47, n. 6, 16 abr. 2021.

USMAN AYUB AWAN et al. An updated systemic review and meta-analysis on human papillomavirus in breast carcinogenesis. **Frontiers in Oncology**, v. 13, 11 ago. 2023.

VLASTA KORENKOVÁ et al. Pre-amplification in the context of high-throughput qPCR gene expression experiment. **BMC Molecular Biology**, v. 16, n. 1, 9 mar. 2015.

WALLENIUS, V. et al. Interleukin-6-deficient mice develop mature-onset obesity. **Nature Medicine**, v. 8, n. 1, p. 75–79, 1 jan. 2002.

WANG, X. et al. Viral DNA Replication Orientation and hnRNPs Regulate Transcription of the Human Papillomavirus 18 Late Promoter. **mBio**, v. 8, n. 3, p. e00713-17, 30 maio 2017.

WEIGELT, B.; GEYER, F. C.; REIS-FILHO, J. S. Histological types of breast cancer: How special are they? **Molecular Oncology**, v. 4, n. 3, p. 192–208, 18 abr. 2010.

WENTZENSEN, N. et al. Eurogin 2016 Roadmap: how HPV knowledge is changing screening practice: Eurogin 2016 Roadmap. **International journal of cancer**, v. 140, n. 10, p. 2192–2200, 2017

WIESINGER, M. Y. et al. Development of an IL-6 Inhibitor Based on the Functional Analysis of Murine IL-6R α 1. **Chemistry & biology**, v. 16, n. 7, p. 783–794, 1 jul. 2009.

WILLIAMSON, A.-L. Recent Developments in Human Papillomavirus (HPV) Vaccinology. **Viruses**, v. 15, n. 7, p. 1440, 26 jun. 2023.

WOLF J, ROSE-JOHN S, GARBERS C. Interleukin-6 and its receptors: a highly regulated and dynamic system. *Cytokine*. 2014 Nov;70(1):11-20. doi: 10.1016/j.cyto.2014.05.024.

WYSOCKA, Joanna. New WHO classification of breast tumours—as published in 2019. Nowotwory. *Journal of Oncology*, v. 70, n. 6, p. 250-252, 2020.

XIA, L. et al. The cancer metabolic reprogramming and immune response. **Molecular Cancer**, v. 20, n. 1, 5 fev. 2021.

XIAN PENG JIANG et al. Reduction in serum IL-6 after vaccination of breast cancer patients with tumour-associated antigens is related to estrogen receptor status. **Cytokine**, v. 12, n. 5, p. 458–465, 1 maio 2000.

XIAO, Y.; YU, D. Tumor microenvironment as a therapeutic target in cancer. **Pharmacology & Therapeutics**, v. 221, n. 107753, p. 107753, 28 nov. 2020.

YU, H.; PARDOLL, D.; JOVE, R. STATs in cancer inflammation and immunity: a leading role for STAT3. **Nature Reviews Cancer**, v. 9, n. 11, p. 798–809, nov. 2009.

YUAN, Z. et al. Extracellular matrix remodeling in tumor progression and immune escape: from mechanisms to treatments. **Molecular Cancer**, v. 22, n. 1, 11 mar. 2023.

ZHANG, X. Molecular Classification of Breast Cancer: Relevance and Challenges. *Archives of Pathology & Laboratory Medicine*, v. 147, n. 1, p. 46–51, 22 set. 2022.

ZHAO, G.; CHANG, J.; WEI, K. Correlation between breast cancer and human papillomavirus (HPV) infection. *Heliyon*, v. 10, n. 17, p. e37027, 28 ago. 2024.

ZHOU, J. et al. Interaction of human papillomavirus (HPV) type 16 capsid proteins with HPV DNA requires an intact L2 N-terminal sequence. *Journal of Virology*, v. 68, n. 2, p. 619–625, fev. 1994.

ZUR HAUSEN, H. Papillomaviruses and cancer: from basic studies to clinical application. *Nature Reviews Cancer*, v. 2, n. 5, p. 342–350, maio 2002.