



Universidade Federal de Pernambuco
Centro de Biociências

BEATRIZ EDA DE OLIVEIRA ISÍDIO

**MODULAÇÃO DA VIA EGFR/PI3K/AKT/MTOR PELO HPV
EM DIFERENTES TIPOS MOLECULARES DE CÂNCER DE
MAMA**

Recife
2025

BEATRIZ EDA DE OLIVEIRA ISÍDIO

**MODULAÇÃO DA VIA EGFR/PI3K/AKT/MTOR PELO HPV
EM DIFERENTES TIPOS MOLECULARES DE CÂNCER DE
MAMA**

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: Prof. 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

Isídio, Beatriz Eda de Oliveira.

Modulação da via EGFR/PI3K/AKT/mTOR em diferentes tipos moleculares
de câncer de mama / Beatriz Eda de Oliveira Isídio. - Recife, 2025.
78 : il., tab.

Orientador(a): Antonio Carlos de Freitas

Cooorientador(a): Vanessa Emanuelle Pereira Santos

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Universidade Federal de
Pernambuco, Centro de Biociências, Biomedicina, 2025.

Inclui referências, anexos.

1. Câncer de mama. 2. Papilomavírus Humano. 3. Vias de sinalização. 4.
Oncogenes. 5. Carcinogênese. I. Freitas, Antonio Carlos de. (Orientação). II.
Santos, Vanessa Emanuelle Pereira. (Coorientação). IV. Título.

610 CDD (22.ed.)

BEATRIZ EDA DE OLIVEIRA ISÍDIO

**MODULAÇÃO DA VIA EGFR/PI3K/AKT/MTOR PELO HPV
EM DIFERENTES TIPOS MOLECULARES DO CÂNCER DE
MAMA**

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/ Laboratório de Estudos Moleculares e Terapia
Experimental - LEMTE

Dr. Joelson Germano Crispim
Universidade Federal de Pernambuco/ Núcleo de Pesquisa e Inovação Terapêutica Suely
Galdino – NUPIT

MSc. Julliano Matheus de Lima Maux
Universidade Federal de Pernambuco/ Núcleo de Pesquisa e Inovação Terapêutica Suely
Galdino - NUPIT

Dedico este trabalho a minha mãe, Valéria de Oliveira Lima, que sempre me apoiou e lutou incansavelmente para eu chegar até aqui. Minha eterna gratidão e amor. Ao meu pai, João Robério Isídio, que partiu antes de ver essa conquista, mas sempre me incentivou a estudar e ficaria feliz de estar presente. Levo o senhor todos os dias em meu coração.

AGRADECIMENTOS

Agradeço ao meu orientador, professor Dr. Antonio Carlos de Freitas, por ter me acolhido no laboratório, por todos os conselhos e por me inspirar todos os dias com sua paixão pela ciência. Admiro muito o senhor.

Agradeço também à minha coorientadora e mãe científica, professora Dr. Vanessa Emanuelle Pereira Santos, uma pesquisadora e pessoa incrível, que ama o que faz e se dedica todos os dias. É muito bom dividir a rotina com você, que leva alegria por onde passa com um coração acolhedor. Obrigada por segurar minha mão por toda essa jornada, pelos conselhos, oportunidades e pela paciência. Sem você nada disso seria possível. Sou eternamente grata.

Aos meus irmãos científicos, Pedro Henrique, Stephanie, Gabriel, David, Gabi, Isabela e Elisa, por dividirem a rotina comigo e torná-la mais alegre e leve. É muito bom fazer ciência com vocês. Vocês são pessoas incríveis, obrigada por todo apoio durante esses anos.

Ao grupo do laboratório LEMTE, por ser tão caloroso e por ter aberto as portas para mim. Agradeço a cada um que faz parte. Em especial, agradeço à Anna, Larissa, Lígia e Bianca por terem me apresentado ao laboratório e por terem me ensinado tantas coisas. Vocês também são grandes inspirações para mim.

Às amigas que a faculdade me deu, Anaju, Isabelle e Kaynne, que hoje levo para a vida. Vocês fizeram parte de tudo isso. Sonhamos, sorrimos e choramos juntas. Vocês me ajudaram a seguir em frente e sempre me deram muita esperança e alegria. Sem vocês a graduação não teria sido a mesma. Obrigada por tudo e torço muito por vocês.

Aos meus pais, Valéria de Oliveira Lima e João Robério Isídio, que tanto lutaram e se esforçaram para que eu chegasse até aqui. Obrigada por todo incentivo e carinho. Amo muito vocês e espero poder retribuir tudo isso. Também agradeço à minha família, que sempre torceu bastante por mim e me apoiou.

Ao meu namorado, Milo, por sempre acreditar em mim e ser meu porto seguro nessa jornada e na vida. Obrigada por todo apoio, meu bem. Você é muito especial para mim.

“A beleza da ciência é que, mesmo quando o mundo parece um caos completo, sempre existe uma lógica esperando para ser descoberta. A cada pergunta que fazemos, damos um passo rumo ao desconhecido e, com isso, nos tornamos versões melhores de nós mesmos.”

(Inspirado na série *The Big Bang Theory*)

ISÍDIO, Beatriz Eda de Oliveira. **Modulação da via EGFR/PI3K/AKT/mTOR em diferentes tipos moleculares de câncer de mama**. 2025. 78 folhas. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Biomedicina) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2025.

RESUMO

O câncer de mama é o tumor mais prevalente em mulheres no mundo e o quarto com maior taxa de mortalidade. Os tumores mamários podem ser classificados molecularmente em luminal A, luminal B, HER2 e triplo negativo. Essa classificação direciona o tratamento e o prognóstico dos pacientes. Recentemente, a infecção por vírus oncogênicos, como o papilomavírus humano (HPV), tem sido estudada como um possível fator de risco para a carcinogênese mamária devido ao potencial oncogênico do vírus. O HPV capaz de interagir com vias de sinalização a partir dos oncogenes E5, E6 e E7, promovendo a progressão tumoral. Dentre elas, encontra-se a cascata de sinalização EGFR/ PI3K/ AKT/ mTOR que está relacionada a processos biológicos de sobrevivência e crescimento celular. Neste sentido, esse estudo objetivou quantificar a expressão dos oncogenes do HPV em diferentes subtipos moleculares de tumores mamários, bem como a modulação da expressão da via EGFR/ PI3K/ AKT/ mTOR neste contexto. Para isso foi extraído RNA de amostras de tecido parafinado de pacientes com câncer de mama e de células MDA-MB-231 (linhagem celular de câncer de mama triplo negativo) transfectadas individualmente com os oncogenes E5, E6 e E7 do HPV 16. Em seguida foi realizada a conversão em cDNA e análise de expressão dos oncogenes virais e genes da cascata de sinalização via PCR quantitativa em tempo real. Por último a expressão diferencial foi calculada pelo método $2^{-\Delta\Delta Cq}$ e foram realizadas as análises estatísticas. No total foi obtido RNA de 48 amostras de tecido parafinado de câncer de mama, das quais 37 foram consideradas positivas para o HPV de acordo com a expressão dos oncogenes E5, E6 e E7, representando 77,08% das amostras. Em relação a modulação da via de sinalização avaliada, foi observada uma maior expressão de PI3K e uma diminuição de expressão de mTOR no grupo HPV-positivo nas amostras luminais. Em células, foi observado uma diminuição da expressão de AKT. Esses resultados indicam que o HPV pode modular a via de maneiras diferentes a depender do tipo molecular tumoral, além disso, a alta prevalência do HPV nas amostras tumorais reforça estudos que visem esclarecer a associação entre o vírus e a carcinogênese mamária, afim de contribuir com melhores estratégias terapêuticas e prognósticas para esses grupos tumorais uma vez que a relação entre o HPV e o câncer de mama seja elucidada.

Palavras-chave: Papilomavírus Humano. Cascata. Modulação. Carcinoma. Mama.

ISIDIO, Beatriz Eda de Oliveira. **Modulação da via EGFR/PI3K/AKT/mTOR em diferentes tipos moleculares de câncer de mama**. 2025. 78 pages. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Biomedicina) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2025

ABSTRACT

Breast cancer is the most prevalent tumor among women worldwide and the fourth leading cause of cancer-related mortality. Breast tumors can be molecularly classified into luminal A, luminal B, HER2-enriched, and triple-negative subtypes. This classification guides treatment decisions and patient prognosis. Recently, infection with oncogenic viruses, such as human papillomavirus (HPV), has been investigated as a potential risk factor for breast carcinogenesis due to the virus's oncogenic potential. HPV is capable of interacting with signaling pathways through its oncogenes E5, E6, and E7, thereby promoting tumor progression. Among these pathways is the EGFR/PI3K/AKT/mTOR signaling cascade, which is associated with biological processes related to cell survival and growth. In this context, the present study aimed to quantify the expression of HPV oncogenes in different molecular subtypes of breast tumors, as well as to evaluate the modulation of the EGFR/PI3K/AKT/mTOR pathway in this setting. To this end, RNA was extracted from paraffin-embedded breast cancer tissue samples and from MDA-MB-231 cells (a triple-negative breast cancer cell line) individually transfected with the HPV16 oncogenes E5, E6, and E7. Subsequently, cDNA synthesis was performed, followed by analysis of the expression of viral oncogenes and genes from the signaling cascade using quantitative real-time PCR. Differential expression was calculated using the $2^{-\Delta\Delta C_q}$ method, and statistical analyses were conducted. In total, RNA was obtained from 48 paraffin-embedded breast cancer tissue samples, of which 37 were considered HPV-positive based on the expression of the E5, E6, and E7 oncogenes, representing 77.08% of the samples. Regarding modulation of the evaluated signaling pathway, increased PI3K expression and decreased mTOR expression were observed in the HPV-positive group among luminal samples. In cell assays, a decrease in AKT expression was observed. These results indicate that HPV may modulate this signaling pathway in different ways depending on the tumor molecular subtype. Furthermore, the high prevalence of HPV in tumor samples reinforces the importance of studies aimed at elucidating the association between the virus and breast carcinogenesis, in order to contribute to improved therapeutic and prognostic strategies for these tumor groups once the relationship between HPV and breast cancer is clarified.

Key words: Human Papillomavirus. Cascade. Modulation. Carcinoma. Breast.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Representação da distribuição geográfica da incidência de câncer de mama por continente, de acordo com a escala de casos.	17
Figura 2 - Tipos histopatológicos de câncer de mama	20
Figura 3 – Representação dos principais subtipos moleculares do câncer de mama, definidos com base no status dos receptores hormonais e do marcador de proliferação Ki-67.	21
Figura 4 – Principais fatores de risco associados ao câncer de mama, classificados em genéticos, hormonais, virais e ambientais/estilo de vida.	23
Figura 5 – Principais formas de transmissão do HPV.	26
Figura 6 – Representação da estrutura do genoma do HPV.	28
Figura 7 – Cascata de sinalização PI3K/AKT/mTOR, destacando os principais componentes da via, incluindo os receptores de crescimento (EGFR, FGFR, IGFR, VEGFR, HGFR, NGFR), as proteínas reguladoras (PTEN, PIP2, PIP3, PDK1), os complexos mTORC1 (mTOR, Raptor, Lst8, Deptor) e mTORC2 (mTOR, Rictor, Lst8, Deptor), e os alvos downstream (GSK3, Bad, FOXO, TRF1, BCL-2, MYC e S6K1)	31
Figura 8 – Representação dos principais efeitos biológicos da via de sinalização PI3K/AKT no câncer de mama	34
Figura 9 – Principais hipóteses de infecção das células mamárias pelo HPV.	35
Figura 10 – Fluxograma de atividades	44
Figura 11 – Expressão relativa das oncoproteínas E5, E6 e E7 nos pacientes com câncer de mama HPV positivo.	46
Figura 12 – Expressão dos EGFR, PI3K, AKT, mTOR nas amostras HPV-positivas e HPV-negativas.	46
Figura 13 – Expressão dos EGFR, PI3K, AKT, mTOR nas células MDA-MB-231 transfectadas com os oncogenes e o vetor vazio.	47

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Estudos que avaliaram a expressão dos oncogenes virais em células e tecidos de câncer de mama entre os anos de 1992 e 2025. _____ 39

Tabela 2 – Primers utilizados para amplificação dos genes via RT-qPCR. _____ 43

Tabela 3 – Caracterização das amostras de acordo com a positividade para o HPV e o tipo molecular. _____ 45

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AKT	Serina/treonina quinase
BAD	Agonista associado ao BCL2 da morte celular
BCL2	Regulador de apoptose BCL 2
BRCA1	Gene do Câncer de Mama 1
BRCA2	Gene do Câncer de Mama 2
CAPS8	Caspase 8
CCI	Carcinoma Cribriforme Invasivo
CLI	Carcinoma Lobular Invasivo
EBV	Vírus Epstein–Barr
EEF1A1	Fator de Elongação da Tradução 1 Alfa 1
EGFR	Receptor do Fator de Crescimento Epidérmico
EZF	Fator de Transcrição Relacionado ao Epitélio
FDA	Food and Drug Administration
FGFR	Receptor do Fator de Crescimento de Fibroblasto
FOXO	Família de Fatores de Transcrição O Forkhead
GAPDH	Gliceraldeído-3-Fosfato Desidrogenase
GCKR	Regulador da Glicocinase
GLOBOCAN	Global Cancer Observatory
H EBP	Proteína Ligante de Heme
HER2	Receptor do Fator de Crescimento Epidérmico 2
HGFR	Receptor do Fator de Crescimento de Hepatócitos
HPV	Papilomavírus Humano
IDH	Índice de Desenvolvimento Humano
IGFR	Receptor do Fator de Crescimento Semelhante à Insulina
IL-6	Interleucina 6
IQGAP1	Proteína ativadora de GTPase contendo motivo IQ 1
IR	Receptor de Insulina
IST	Infecção Sexualmente Transmissível
Ki-67	Marcador de Proliferação Celular Ki-67
KRAS	Homólogo do Oncogene Kirsten ras
LCR	Região de Controle Longa
LINC02188	RNA intergênico longo não codificador de proteínas 2188

LR-HPV	HPV de Baixo Risco
MAPK	Proteína Quinase Ativada por Mitógeno
MMTV	Vírus do Tumor Mamário Murino
MRTFA	Fator de transcrição relacionado à miocardina A
mTOR	Alvo da Rapamicina em Mamíferos
MTHFD2	Desidrogenase Ciclohidrolase Mitocondrial de Metileno Tetrahydrofolato
2	
NF1	Gene Neurofibromina 1
NGFR	Receptor do Fator de Crescimento Neural
NST	Carcinoma Mamário de Tipo Não Especial
OMS	Organização Mundial da Saúde
PALB2	Parceiro e Localizador de BRCA2
PAM50	Análise Preditiva de Microarranjos de 50 Genes
PARP	Poli (ADP-ribose) Polimerase
PDK1	Quinase Dependente de Fosfoinosítido 1
PIP2	Fosfatidilinositol 4,5-bifosfato
PIP3	Fosfatidilinositol 3,4,5-trifosfato
PI3K	Fosfatidilinositol-3-quinase
PTEN	Fosfatase e homólogo da tensina
RAS	Família de GTPases RAS
RE	Receptor de Estrogênio
RMEL3	Enriched In Melanoma 3
RP	Receptor de Progesterona
S6K1	Ribossomal S6 Quinase 1
SLC4A7	Membro 7 da família 4 de transportadores de soluto
STK11	Serina/treonina quinase 11
TFR1	Receptor de Transferrina 1
TOX3	Grupo TOX de Alta Mobilidade – Membro da Família Box 3
TSC	Complexo Esclerose Tuberosa
VEGFR	Receptor do Fator de Crescimento Endotelial Vascular
ZNF577	Proteína de dedo de zinco 577

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	15
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	17
2.1	Câncer de mama	17
2.1.1	Dados epidemiológicos	17
2.1.2	Classificação histopatológica	19
2.1.3	Classificação molecular	21
2.1.4	Fatores de risco	21
2.2	Papilomavírus Humano	24
2.2.1	Características Gerais	24
2.2.2	Classificações do HPV	26
2.2.3	Estrutura do HPV	27
2.3	Via de Sinalização <i>PI3K/AKT/mTOR</i>	30
2.3.1	<i>Via de Sinalização PI3K/AKT/mTOR no Câncer de Mama</i>	33
2.3.2	Via de Sinalização <i>PI3K/AKT/mTOR</i> no Câncer de Mama e Terapia Direcionada	35
2.4	HPV e Câncer de mama	37
3	OBJETIVOS	40
3.1	Objetivo Geral	40
3.1.1	Objetivos Específicos	40
4	METODOLOGIA	41
4.1	Amostras Biológicas	41
4.2	Extração De RNA e Síntese de Cdna	41
4.3	Análise de Expressão Gênica Relativa via RT-Qpcr	42
4.4	Análise Estatística	44
5	RESULTADOS	45
6	DISCUSSÃO	48

7	CONCLUSÃO	52
8	REFERÊNCIAS	53
9	ANEXOS	68
	ANEXO A – Cópia do parecer do Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Seres Humanos da UFPE	69
	ANEXO B – Cópia do termo de outorga do projeto guarda-chuva que permite o financiamento do presente projeto (MS-SECTICS-Decit/CNPq No16/2023 - SAÚDE DE PRECISÃO/444156/2023-2023-2)	74

1 INTRODUÇÃO

O câncer de mama é o tumor mais prevalente em mulheres no mundo, excluindo o câncer de pele não melanoma, alcançando 2.296.840 números de casos registrados e o quarto lugar no ranking de mortes por câncer, representando 6.8% dos casos no ano de 2022 (FERLAY, 2024). No Brasil, para cada ano do triênio de 2023 a 2025 surgiram 73.610 novos casos de câncer de mama (INCA, 2024). Para a região Nordeste do Brasil, surgiram 15.690 novos casos nesse mesmo período temporal, com o estado de Pernambuco apresentando uma taxa de incidência de 46,4 casos a cada 100.000 habitantes (INCA, 2024).

Tumores mamários apresentam alta heterogeneidade e podem ser classificados em diferentes tipos histopatológicos de acordo com suas características morfológicas (Wang *et al.*, 2022). A Organização Mundial de Saúde (OMS) classifica os cânceres em carcinoma invasivo da mama sem tipo específico, carcinoma lobular invasivo, carcinoma cribiforme invasivo, carcinoma mucinoso invasivo, carcinoma metaplásico e carcinoma papilar, dentre outros tipos (Cserni *et al.*, 2020). Outra classificação utilizada é baseada em características moleculares caracterizando os tumores em luminal A, luminal B, HER2 enriquecido e triplo negativo, os quais apresentam diversidade em relação a agressividade, tratamento e prognóstico (Zhang., 2023).

Os fatores de risco envolvidos na carcinogênese mamária incluem histórico familiar, mutações em genes como *BRCA1* e *BRCA2*, exposição prolongada a hormônios e hábitos de vida (Fakhri *et al.*, 2022). Além disso, alguns estudos têm avaliado a infecção por vírus oncogênicos como possíveis fatores de risco para esse carcinoma, dentre os quais destaca-se o papilomavírus humano (HPV), uma vez que o material genético do vírus tem sido encontrado no tecido tumoral mamário (Fakhri *et al.*, 2022; Lawson e Glenn *et al.*, 2021).

O HPV, principal agente etiológico do câncer cervical, é um vírus de DNA de fita dupla, o qual possui em seu genoma, os oncogenes E5, E6 e E7 que são capazes de desregular o ciclo celular e promover a progressão tumoral (Joung; June; Zhang, 2006). O HPV também está relacionado com o desenvolvimento de outros cânceres não anogenitais, a exemplo do câncer de cabeça e pescoço, no qual o vírus também contribui com a transformação maligna das células, mas confere um melhor

prognóstico devido a um fenótipo menos agressivo e uma melhor resposta a terapia quando comparado com os pacientes HPV negativos (Taberna *et al.*, 2018). Nos cânceres HPV-associados o vírus é capaz de interagir com vias de sinalização relacionadas com crescimento e proliferação celular, dentre elas, a cascata de sinalização EGFR/ PI3K/ AKT/ mTOR que está associada a processos biológicos de sobrevivência e crescimento celular (Ippen *et al.*, 2019).

No câncer de mama, a via de sinalização PI3K/ AKT/ mTOR encontra-se hiperativada e essa desregulação tem como consequência o aumento da proliferação celular, angiogênese e metástase (Jiang *et al.*, 2025). Devido a hiperativação da via no câncer de mama foram desenvolvidos medicamentos para o tratamento tumoral que tem como alvo a inibição de PI3K, AKT e mTOR, os quais encontram-se aprovados pela *Food Drugs Administration* (FDA) apresentando bons resultados clínicos relacionados a melhora da sobrevida dos pacientes (Garg *et al.*, 2025). Diante da relevância dessa via de sinalização no câncer de mama e a necessidade de compreender a relação entre o HPV e a carcinogênese mamária, esse estudo visa detectar a prevalência do HPV no câncer de mama em diferentes subtipos moleculares, bem como a modulação da expressão da via EGFR/ PI3K/ AKT/ mTOR neste contexto, a fim de fornecer *insights* que podem contribuir futuramente com o prognóstico e novos biomarcadores em grupos câncer de mama HPV-positivo.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 CÂNCER DE MAMA

2.1.1 Dados epidemiológicos

O câncer de mama é o principal tumor maligno diagnosticado em mulheres no mundo, alcançando mais de 2,3 milhões de novos casos e 670.000 mortes no ano de 2022 (FERLAY., 2024). O continente com o maior número de casos é a Ásia com 985.817 registros, seguido da Europa com 557.532, América do Norte com 306.307, África com 198.553, América latina com 220.124 e Oceania com 28.507 (FERLAY, 2024) (Figura 1). A taxa de incidência e mortalidade por essa doença varia significativamente entre países e continentes devido a questões socioeconômicas e geográficas (Kim *et al.*, 2025). A população europeia apresenta a maior incidência de câncer de mama entre os continentes, chegando a 69,7 por 100.000 mulheres, seguida da população americana (68), africana (38,7) e do sudeste asiático (28,3) (da Costa Nunes *et al.*, 2024). Por outro lado, quando se observa a mortalidade, a população africana apresenta a maior taxa, com 19,1 por 100.000 mulheres, seguida da europeia (14,8), americana (13,2) e do sudeste asiático (12,9) (da Costa Nunes *et al.*, 2024).

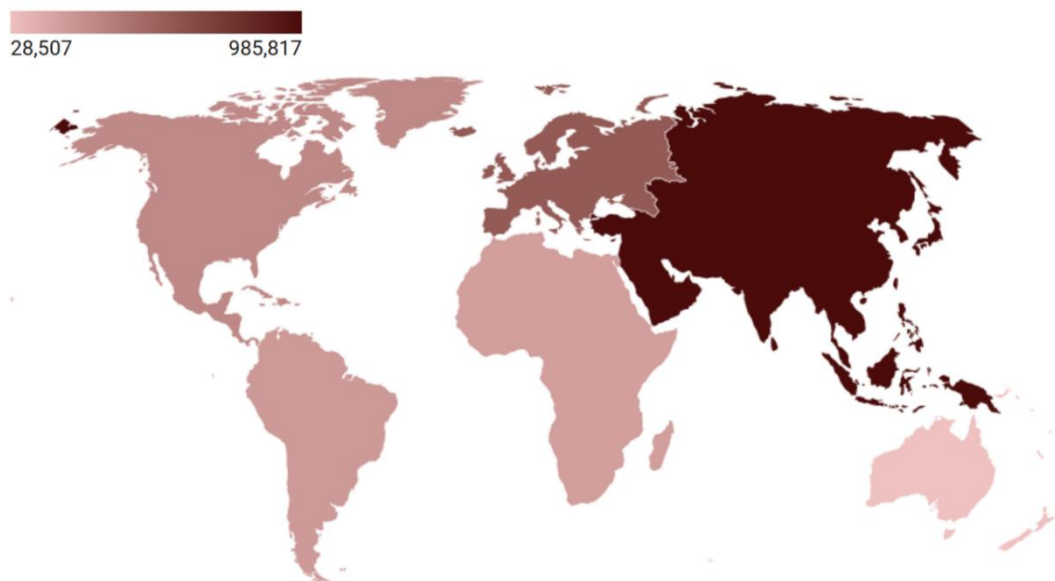


Figura 1: Representação da distribuição geográfica da incidência de câncer de mama por continente, de acordo com a escala de casos. Fonte: Adaptado de FERLAY (2024).

Ao analisar tendências da ocorrência desse câncer nos últimos entre o período de 2015 a 2025, observou-se que ocorreu um aumento global da sua incidência sendo mais estável em países com índice de desenvolvimento humano (IDH) elevado e com taxas crescentes em países com o IDH baixo (Kim *et al.*, 2025). Em relação à mortalidade, a maioria dos países com IDH elevado apresentaram diminuição e países como Colômbia, Brasil, Romênia e México tinham esse índice elevado (Kim *et al.*, 2025). Os países que reportaram o maior número de casos de câncer de mama no ano de 2022 foram a China, com 16% dos casos globais, seguida pelos Estados Unidos (12%) e Índia (8%) visto que são os mais populosos (Zhang *et al.*, 2025). Entre os países, o risco de diagnóstico ao longo da vida é maior na França chegando a uma em cada nove mulheres enquanto o risco de morrer por esse câncer ao longo da vida é maior em Fiji (1 em cada 24 mulheres) e em Camarões (1 em cada 47 mulheres) (Kim *et al.*, 2025).

Países com IDH menores apresentam um padrão acentuado do aumento da mortalidade chegando a 56% no IDH mais baixo, representado pela África Central, refletindo as desigualdades no acesso a um diagnóstico precoce e tratamento adequado (Kim *et al.*, 2025). Em contrapartida, apesar dos países com IDH alto apresentarem menor taxa de mortalidade, há uma elevada incidência de casos de câncer de mama nesses locais, fato que se correlaciona com a exposição aumentada a fatores de risco como consumo elevado de bebidas alcoólicas, hábitos alimentares pouco saudáveis, menos gestações, exposição prolongada a hormônios e até mesmo variantes genômicas em 10 genes (*CASP8*, *LINC02188*, *KRAS*, *GCKR*, *IQGAP1*, *ZNF577*, *MRTFA*, *RMEL3*, *SLC4A7* e *TOX3*) relacionadas ao maior risco de desenvolver neoplasias (da Costa Nunes *et al.*, 2024; Lima, Kehm e Terry., 2021).

Projeções estimam que até 2050 os números de casos de câncer de mama aumentem para 3.533.037, representando uma elevação de 54,7% em relação aos números atuais, e as mortes alcancem 1.138.155 (Zhang *et al.*, 2025). O aumento de casos também sofrerá uma distribuição desigual a depender do IDH da localidade (Rauniyar *et al.*, 2020; Liao *et al.*, 2025). Ao avaliar países com IDH baixo ou médio do continente africano, a taxa de incidência permanecerá alta, chegando a 127 por 100.000 habitantes na Namíbia. Na América do Sul os países com maior incidência são Colômbia, seguida da Venezuela, Brasil, Bolívia e Peru (Rauniyar *et al.*, 2020).

No Brasil, para cada ano entre 2023 e 2025, surgiram 73.610 novos casos de câncer de mama e 19.103 mortes (INCA, 2024). A região que apresenta a maior taxa

de incidência é a Sudeste, com 52,8 casos a cada 100.000 mulheres e a menor taxa é encontrada na região Norte, com 27,7 casos a cada 100.000 mulheres (INCA, 2024). Em relação à mortalidade, as regiões Sul e Sudeste apresentam as maiores taxas, com 13,60 e 13,16 óbitos por 100 mil mulheres, seguida do Centro-Oeste, Nordeste e Norte (INCA, 2024). Um estudo que avaliou a taxa de mortalidade no Brasil por câncer de mama entre 2005 e 2019 revelou que as taxas de mortalidade padronizadas cresceram 78,54% no Nordeste, 73,21% no Norte, 57,47% no Centro-Oeste, 26,95% no Sudeste, 26,92% no Sul e 37,59% (Silva *et al.*, 2024). Entre os anos de 2020 e 2023, a região Sudeste apresentou o maior número de casos desse câncer, afetando 100.033 de pessoas, seguida da região Nordeste com 58.696 casos, região Sul com 46.147 casos, Centro-Oeste com 13.785 e a Norte com 9.666 casos (Guimarães *et al.*, 2025). Para o estado de Pernambuco, até o momento, surgiram 2.880 casos novos de câncer de mama com uma taxa de 46,7 casos a cada 100 mil mulheres (INCA, 2024).

2.1.2 Classificação histopatológica

O carcinoma mamário é uma doença heterogênea que inclui diferentes tipos de morfologias, fenótipos, genótipos, comportamentos biológicos e respostas a terapias (Rakha, Tse e Quinn., 2023). A classificação histológica do câncer de mama é realizada de acordo com características morfológicas, revelando informações importantes acerca do grau de diferenciação e proliferação celular, que contribuem com o prognóstico dos pacientes (Wang *et al.*, 2022). A OMS classifica os cânceres de mama em grandes grupos que incluem o carcinoma invasivo da mama sem tipo específico (CMNST), carcinoma lobular invasivo (CLI), carcinoma cribiforme invasivo (CCI), carcinoma mucinoso invasivo, carcinoma metaplásico e carcinoma papilar, dentre outros tipos especiais (Figura 2) (Cserni *et al.*, 2020).

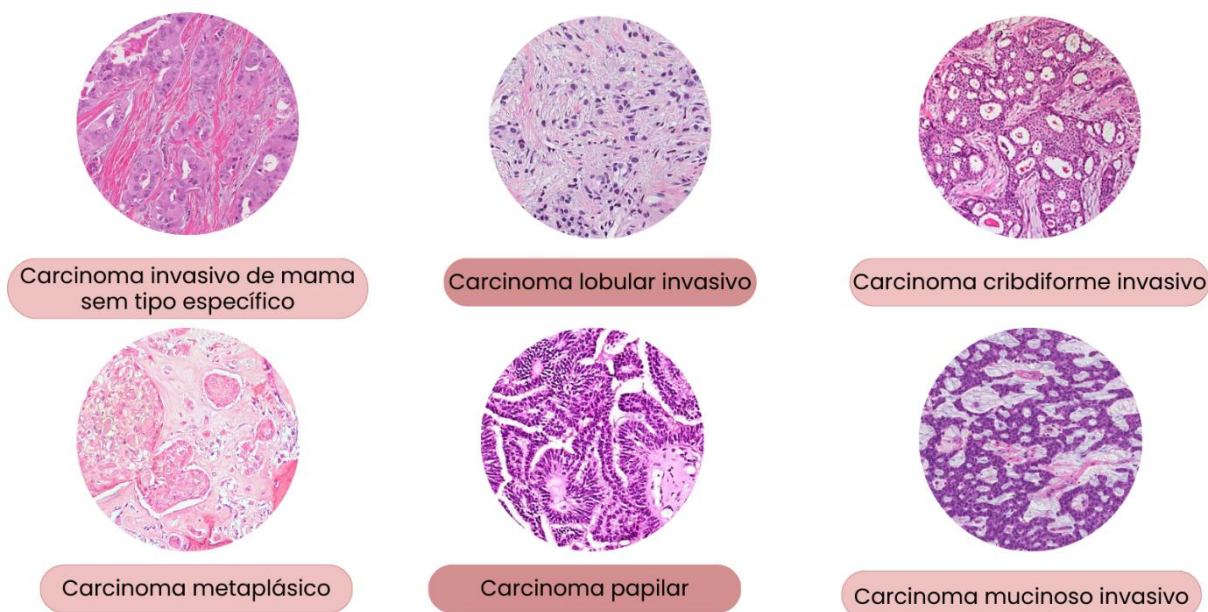


Figura 2: Tipos histopatológicos de câncer de mama.

O carcinoma mamário NST refere-se a um grande grupo que não apresenta nenhum tipo histológico especial, o qual compreende 60 a 75% dos casos de câncer diagnosticados (Cserni *et al.*, 2020). O prognóstico desse tipo tumoral é mais desfavorável, uma vez que inclui um alto grau de malignidade, alta taxa de proliferação indicada pela expressão da proteína KI-67 e uma necrose mais extensa (Manolis *et al.*, 2023). O carcinoma lobular invasivo (CLI) representa de 10 a 15% dos casos de câncer de mama, sendo o segundo tipo mais comum (Li, *et al.*, 2003; Mouabbi *et al.*, 2022). O CLI tem como característica a perda de expressão da molécula de adesão E-caderina levando ao surgimento de células não coesas dispersas em fila indiana (De Schepper *et al.*, 2024). Diferente do carcinoma NST, o CLI apresenta um crescimento mais lento com metástase após 10 anos, no entanto, pacientes com esse tipo tumoral foram diagnosticados com mais frequência em estágios mais avançados e com maior comprometimento dos linfonodos, com grau histológico mais baixo e maior tamanho tumoral, conferindo um prognóstico moderado para o CLI clássico e um bom prognóstico para o CLI grau 1 (Rakha, Tse e Quinn *et al.*, 2023).

Outros tipos incluem carcinoma cribriforme, um tipo raro com incidência de 0,3% a 3,5% que tem um excelente prognóstico com baixo potencial metastático e alta taxa de sobrevida livre da doença em 5 anos (95-100%) (Demir *et al.*, 2021). O carcinoma mucinoso representa 4% dos casos de câncer de mama, sendo outro tipo raro, caracterizado pela produção extracelular de fluido mucinoso, com prognóstico

considerado bom (Budzik, Fudalej e Badowska-Kozakiewicz *et al.*, 2021). O carcinoma metaplásico também é um subtipo raro que apresenta rápido crescimento, grau histológico elevado, envolvimento da transição epitélio mesenquimal que confere um alto grau de metástase e diminuição da sobrevida global, sendo caracterizado por ter um prognóstico ruim (Qiao, Deng e Zhang., 2024). O carcinoma papilar possui uma baixa incidência representando 1 a 2% dos casos e tem uma baixa taxa de metástase e com bom prognóstico (Wang *et al.*, 2024). Em geral, a integração de informações que envolvem tipo histológico, taxa de metástase, grau de infiltração dos linfonodos e classificação tumor-nódulo-metástase (TNM) fornecem dados importantes que influenciam no estadiamento, prognóstico das pacientes e na taxa de sobrevida livre da doença (Rakha, Tse e Quinn., 2023).

2.1.3 Classificação molecular

A classificação molecular do câncer de mama foi desenvolvida em 2000 a partir de dados de microarray que permitiram a divisão dos tipos moleculares de acordo com padrões semelhantes de expressão gênica, o que permitiu uma melhor caracterização e entendimento dos mecanismos envolvidos nessa patologia (Perou *et al.*, 2000). Atualmente, o câncer de mama é dividido em quatro tipos moleculares que classifica os tumores em Luminal A, Luminal B, Receptor do fator de crescimento humano-2 (HER2) enriquecido e triplo negativo de acordo com a presença ou ausência dos receptores hormonais de progesterona (RP) estrogênio (RE) e HER2 (Zhang., 2023) (Figura 3).

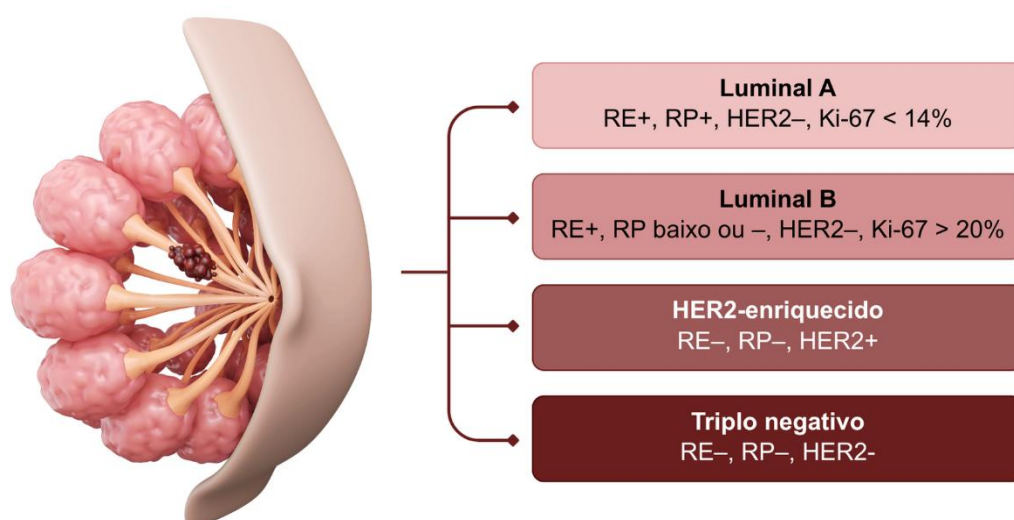


Figura 3: Representação dos principais subtipos moleculares do câncer de mama, definidos com base no status dos receptores hormonais e do marcador de proliferação Ki-67. Fonte: A autora (2025).

Os cânceres de mama luminais representam 70% dos casos no mundo (Łukasiewicz *et al.*, 2021). O tipo luminal A é caracterizado por ser receptor de estrogênio e/ou progesterona positivo, HER2 negativo e KI-67 abaixo de 20%, indicando baixa proliferação celular, enquanto o tipo luminal B é receptor de estrogênio positivo, HER2 negativo, receptor de progesterona negativo ou abaixo de 20% e KI-67 acima de 20% (Jennifer e Gao., 2018). O tipo luminal A apresenta o melhor prognóstico dentre os 4 tipos moleculares por ser de baixo grau histológico e de crescimento lento, já o luminal B apresentam um grau histológico maior e maior frequência de metástase óssea ou linfonodal (Li *et al.*, 2016; Hashmi, Aijaz e Khan *et al.*, 2018). O tratamento para esses dois tipos é realizado principalmente com terapia endócrina adjuvante prolongada, utilizando principalmente antagonistas do receptor de estrógeno, a exemplo do tamoxifeno em conjunto com a quimioterapia e cirurgia (Ignatiadis e Sotiriou, 2013).

O grupo enriquecido com HER2 é positivo para HER2 e negativo para o receptor de estrogênio e progesterona, representando de 10 a 15% dos casos de câncer (Mercogliano *et al.*, 2023). O tipo HER2 já foi considerado de pior prognóstico por possuir grau histológico mais agressivo, no entanto, com o advento de terapias com anticorpos monoclonais como o trastuzumab em conjunto com quimioterapia e radioterapia ocorreu uma melhora da sobrevida livre da doença em um terço (Mercogliano *et al.*, 2023; Loibl *et al.*, 2024).

O grupo triplo negativo possui a ausência de expressão dos três receptores avaliados, representando de 15 a 20% dos casos (Zagami e Carey *et al.*, 2022). Esse grupo é caracterizado por ser, biologicamente, o mais agressivo entre os tipos moleculares, com alta taxa de proliferação e alta recidiva após os primeiros anos de tratamento (Zagami e Carey *et al.*, 2022). Devido à ausência de marcadores específicos, o câncer de mama triplo negativo é refém de quimioterapias neoadjuvantes convencionais e intervenções cirúrgicas para o seu tratamento (Li *et al.*, 2022). Estudos mais recentes, a fim de melhorar o tratamento desses pacientes, vem pesquisando inibidores de PARP e EGFR para fornecer novos alvos terapêuticos para esse câncer (Chen *et al.*, 2024).

A partir da classificação dos cânceres de mama em tipos moleculares foi possível abranger a pesquisa e criar novos painéis genéticos que contribuem para o diagnóstico, estadiamento e prognóstico dos casos de carcinoma mamário (Zhang., 2023). Dentre esses painéis encontram-se a análise preditiva de microarranjos de 50 genes (PAM50) que fornece a assinatura de 50 genes que além de classificar contribuem com um direcionamento terapêutico personalizado e o *MammaPrint* que analisa a assinatura genética de 70 genes e permite a classificação e inferir dados prognósticos de recorrência e metástase além de contribuir também com o direcionamento terapêutico (Slodkowska *et al.*, 2009; Raj-Kumar *et al.*, 2019; Zhang., 2023).

2.1.4 Fatores de risco

A carcinogênese mamária é um processo complexo que envolve a interação entre fatores genéticos, ambientais e hábitos de vida que predis põem seu surgimento (Fakhri *et al.*, 2022) (Figura 4). A influência genética é responsável por apenas 10 a 15% dos casos, em sua maioria por herdar genes mutados, enquanto os outros fatores de risco contribuem com a maioria dos números (Fakhri *et al.*, 2022).

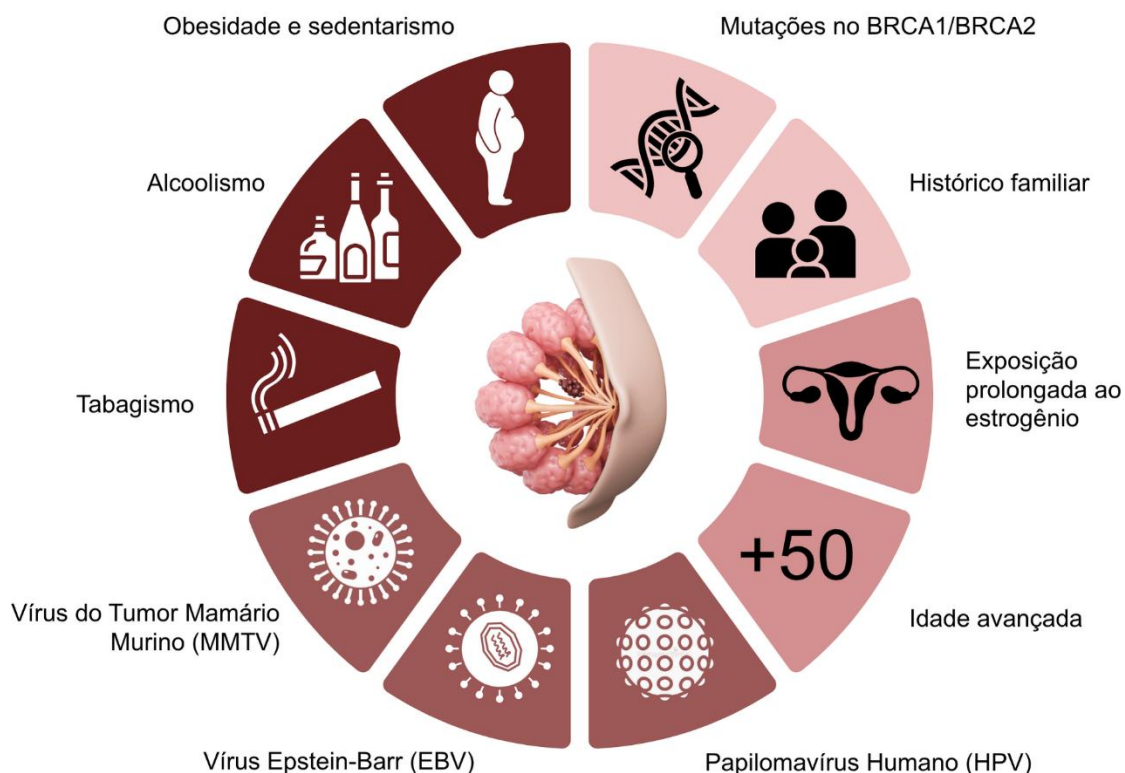


Figura 4: Principais fatores de risco associados ao câncer de mama, classificados em genéticos, hormonais, virais e ambientais/estilo de vida. Fonte: A autora (2025).

Fatores envolvendo histórico familiar e histórico pessoal de cânceres anteriores influenciam no surgimento e na recorrência do câncer, uma vez que estão atrelados a alterações genéticas hereditárias (Xiong *et al.*, 2025). Dentre essas mutações pode-se encontrar a perda de função em genes importantes como *BRCA1* e *BRCA2* responsáveis por reparar o DNA que predispõem o surgimento do câncer de mama (Arun *et al.*, 2024). Mulheres que herdaram essa mutação têm o risco de 75% de desenvolver esse câncer ao longo da vida (Gaba *et al.*, 2023). Mutações em outros genes como *P53*, *PTEN*, *DH1*, *NF1*, *PALB2*, *STK11* também se relacionam com o aumento do risco de desenvolver câncer de mama (Xiong *et al.*, 2025).

Menarca precoce, menopausa tardia, gravidez tardia e uso prolongado de terapias hormonais também estão atrelados ao risco de desenvolver câncer, visto que, essas condições prolongam a exposição ao estrogênio e cerca de 70% dos casos de câncer de mama são dependentes de hormônio, expressando o receptor de estrogênio (Song, Kang e Park., 2022). A idade também é considerada um fator de risco importante dado que a maioria dos casos de câncer acontecem em mulheres acima de 50 anos devido a um maior acúmulo de mutações e exposição prolongada a potenciais substâncias cancerígenas (Daly *et al.*, 2023).

Outros fatores de risco incluem hábitos de vida pouco saudáveis como alcoolismo, tabagismo, sedentarismo e obesidade (Obeagu., 2024). O consumo alcoólico pode aumentar os níveis de estrogênio no sangue, além de promover o estresse oxidativo, condições que podem levar ao surgimento desse câncer (Starek-Świechowiec *et al.*, 2023). As substâncias cancerígenas presentes no cigarro contribuem com o surgimento de alterações genéticas, principalmente em *P53* que estão ligadas com o processo carcinogênico (Scala *et al.*, 2023). Em relação ao sedentarismo e a obesidade, essas condições estão associadas a um aumento do tecido adiposo e consequente aumento da inflamação e da produção hormonal, o que são fatores pró-cancerígenos (Park *et al.*, 2024).

Pesquisas recentes também vêm estudando a interferência de infecções virais na carcinogênese mamária, uma vez que alguns vírus são conhecidos por sua capacidade oncogênica e sua relação com outros cânceres (Lawson e Glenn *et al.*, 2021). A presença de vírus como vírus do tumor mamário murino (MMTV), os

papilomavírus humano (HPV) e o vírus Epstein-Barr (EBV) no tecido tumoral mamário forneceram as hipóteses iniciais para esses estudos (Lawson e Glenn *et al.*, 2021; Khasawneh *et al.*, 2024).

2.2 PAPILOMAVÍRUS HUMANO

2.2.1 Características Gerais

O HPV é um vírus pertencente à família *Papillomaviridae*, capaz de infectar epitélios escamosos e mucosos (Kamolratanakul; Pitisuttithum, 2021; Nelson; Mirabello, 2023). Até o momento, mais de 200 genótipos distintos do vírus foram identificados, apresentando tropismo específico por tecidos cutâneos e mucosos (Burk *et al.*, 2013; McBride, 2021). Estima-se que o HPV seja uma das infecções sexualmente transmissíveis (ISTs) mais prevalentes no mundo, acometendo mais de 80% da população sexualmente ativa em algum momento da vida (Chesson *et al.*, 2014). Embora aproximadamente 90% das infecções sejam autolimitadas, cerca de 1% pode evoluir para lesões neoplásicas, especialmente em contextos de imunossupressão ou coinfeções (Jain *et al.*, 2023; McBride, 2024).

A infecção pelo HPV está associada a diferentes apresentações, abrangendo desde lesões cutâneas comuns, como verrugas, até carcinomas (Reuschenbach *et al.*, 2023). Dentre elas, destacam-se o câncer de colo uterino, de ânus, de pênis, de orofaringe e de vulva, além de um número crescente de evidências apontando sua presença em neoplasias mamárias (Di Donato *et al.*, 2022; Garolla *et al.*, 2023; Nascimento *et al.*, 2024; Awan *et al.*, 2025). A associação entre a infecção persistente pelo HPV e o desenvolvimento de cânceres anogenitais foi amplamente demonstrada na literatura, sendo considerada uma relação etiológica direta (Della Fera *et al.*, 2021; Elasifer *et al.*, 2023; McBride, 2024). Em contrapartida, sua participação em tumores de outros sítios epiteliais, como a mama, ainda é investigada, embora estudos moleculares indiquem a integração viral e expressão de oncoproteínas em amostras tumorais (Blanco *et al.*, 2021; Purrahman *et al.*, 2022).

A transmissão do HPV ocorre predominantemente por via sexual, envolvendo contato direto com mucosas infectadas, microlesões na pele ou secreções genitais (Christensen, 2016; Oyouni, 2023). Além da via sexual, o contágio pode ocorrer por transmissão vertical, da mãe para o filho, durante a gestação ou no parto (Smith *et al.*,

2010; Nantel *et al.*, 2024). Aproximadamente 5% dos recém-nascidos de mães HPV positivas apresentam DNA viral detectável, independentemente da via de parto, o que indica que a infecção pode ocorrer por mecanismos intrauterinos ou perinatais (Zouridis *et al.*, 2018). A transmissão também pode ocorrer por contato direto pele a pele, autoinoculação, ou exposição a objetos ou superfícies contaminadas, sendo documentada inclusive em indivíduos sem histórico de atividade sexual (Sabeena *et al.*, 2017; Petca *et al.*, 2020) (Figura 5).



Figura 5: Principais formas de transmissão do HPV. Fonte: A autora (2025).

2.2.2 Classificações do HPV

A classificação filogenética do HPV é baseada na similaridade genômica, classificados em diferentes gêneros filogenéticos, entre os quais se destacam Alphapapillomavirus, Betapapillomavirus, Gammapapillomavirus, Mupapillomavirus e Nupapillomavirus (Van Doorslaer *et al.*, 2016). Essa categorização reflete o grau de parentesco evolutivo entre os genótipos e tropismo (Villiers *et al.*, 2004). Os gêneros

Alpha, Beta e Gamma compreendem a maioria dos tipos descritos até o momento (Sias *et al.*, 2019). Os Alphapapillomavirus incluem genótipos de baixo e alto risco oncogênico, associados a infecções benignas e malignas, como condilomas e cânceres anogenitais e orofaríngeos (Wallace *et al.*, 2017; Bertinazzi *et al.*, 2022). Os Betapapillomavirus são predominantemente cutâneos e têm sido associados aos estágios iniciais de cânceres de pele, enquanto os Gammapapillomavirus são mais detectados em regiões cutâneas e anogenitais (Ekström *et al.*, 2013; Sichero *et al.*, 2019; Sias *et al.*, 2019; Hošnjak *et al.*, 2021).

O HPV também pode ser classificado segundo o potencial oncogênico, baseado na capacidade de induzir transformações celulares e na associação com o desenvolvimento de neoplasias malignas, sendo uma das classificações mais relevantes do ponto de vista clínico e epidemiológico (Segondy, 2008; Mlynarczyk-Bonikowska; Rudnicka, 2024). Assim, os tipos de HPV são agrupados em baixo (*low risk* (LR)-HPV) e alto risco (*high risk* (HR)-HPV) oncogênico (Muñoz *et al.*, 2003; Park; Hwang; Zhang, 2003). Essa divisão reflete diferenças funcionais das proteínas virais precoces, principalmente E6 e E7, que interferem em vias regulatórias críticas da célula hospedeira, como as mediadas por *p53* e *pRb* (Joung; June; Zhang, 2006).

No que diz respeito aos LR-HPVs, destacam-se os tipos 6, 11, 1, 2, 3, 10, 27 e 57, comumente relacionados a lesões hiperproliferativas benignas, como verrugas genitais, ou infecções assintomáticas (Egawa; Doorbar, 2017). Embora na maioria dos casos os LR-HPVs infectem células epiteliais transitórias e coexistam com o hospedeiro sem induzir transformação maligna, indivíduos com predisposição genética ou imunossupressão podem apresentar patologias como papilomatose respiratória recorrente (PRR), epidermodisplasia verruciforme (EV) e até mesmo cânceres (Klingelhutz; Roman, 2012; Egawa; Doorbar, 2017).

Os HR-HPVs, por outro lado, como os tipos 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68, 73 e 82, estão associados principalmente a lesões precursoras de câncer cervical e de cabeça e pescoço (Muñoz *et al.*, 2003; Pim; Banks, 2010). Dentre os tipos HPV de alto risco, o tipo 16 é o mais prevalente, seguido do 18 e do 31 (Wei *et al.*, 2024). Infecções persistentes por HR-HPVs podem levar à transformação maligna, relacionada à integração do genoma viral em regiões frágeis do cromossomo hospedeiro, com a atividade transformadora primária mediada pelas oncoproteínas E6 e E7 (Moody; Laimins, 2010; Zhang *et al.*, 2025). Embora, na maioria dos casos, não sejam observados sintomas, a persistências dos HR-HPVs pode levar ao

desenvolvimento de cânceres em diversos locais, sendo responsável por cerca de 90% dos cânceres cervicais e anais, 70% dos cânceres vulvares, vaginais e orofaríngeos e 60% dos cânceres penianos (Jensen *et al.*, 2024).

2.2.3 Estrutura do HPV

O HPV é um vírus pequeno, não envelopado, com simetria icosaédrica e diâmetro aproximado de 55 nm, pertencente à família Papillomaviridae (Garcea; Chen, 2007; Han *et al.*, 2024). O genoma é constituído por DNA circular de fita dupla, com cerca de 8.000 pares de bases, compactado por proteínas semelhantes às histonas e protegido pelo capsídeo (O'Connor *et al.*, 1995; Zur Hausen, 1996; Porter *et al.*, 2021). Organizado em três regiões funcionais, sendo região longa de controle (*long control region* - LCR), região precoce (*early* - E) e região tardia (*late* - L), o HPV possui uma expressão ordenada de genes precoces e tardios de maneira a favorecer a infecção crônica e evasão imunológica (Morshed *et al.*, 2014) (Figura 6).

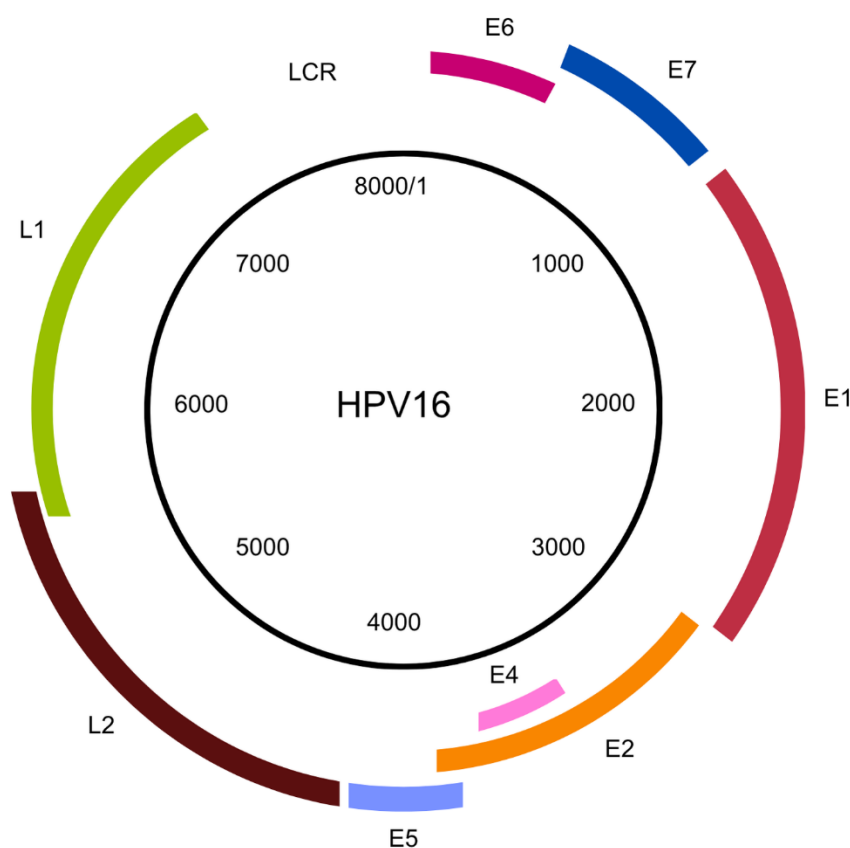


Figura 6: Representação da estrutura do genoma do HPV. Fonte: A autora (2025).

A região regulatória do genoma, LCR, é responsável pela regulação da transcrição e replicação viral, apresentando elementos de ligação para fatores de

transcrição celulares e virais, incluindo promotores, potenciadores e a origem de replicação (Della Fera, 2021; Molina *et al.*, 2024). Em infecções persistentes, alterações em LCR podem modificar a atividade de promotores dependentes das proteínas E2 e E6, contribuindo para o aumento da expressão de oncoproteínas e consequente instabilidade genômica (Aggarwal *et al.*, 2024; Schichl; Doorbar, 2025).

As proteínas estruturais L1 e L2, expressas nas fases tardias do ciclo viral, atuam na montagem do capsídeo que envolve o genoma do HPV (Fernandes *et al.*, 2013; Li; Li, 2025). A proteína L1 é a principal componente estrutural, representando cerca de 80% do capsídeo, promove o reconhecimento e a interação com elementos da célula hospedeira, facilitando o processo de infecção (Ozdogan *et al.*, 2025; Schichl; Doorbar, 2025). Por sua vez, a proteína L2 exerce funções complementares, auxiliando na encapsidação do DNA viral e na entrada do vírus nas células hospedeiras (Yadav; Zhai; Tumban, 2019).

As proteínas precoces, codificadas pelos genes E1, E2, E4, E5, E6 e E7, são expressas nas fases iniciais da infecção e estão envolvidas na replicação do DNA, regulação transcricional e modulação do ciclo celular do hospedeiro (Favre; Ramoz; Orth, 1997; Bhattacharjee *et al.*, 2022). E1 é a única proteína do HPV com atividade enzimática, atuando como helicase/ATPase, promovendo a abertura da dupla hélice do DNA e permitindo a replicação viral, além de modular a expressão de genes do hospedeiro relacionados à resposta imune inata (Castro-Muñoz *et al.*, 2019). E2 é uma proteína multifuncional, atuando desde a regulação da transcrição e replicação, por meio do recrutamento de fatores celulares à região regulatória do HPV, até à disrupção do gene E2, resultando na superexpressão das oncoproteínas E6 e E7 (Muller, 2012; Fletcher; Biswas-Fiss; Biswas, 2025). A proteína E4 é responsável pela reorganização da rede de citoqueratinas para a liberação viral e na regulação do ciclo celular, contribuindo para a persistência do HPV e o equilíbrio das atividades oncogênicas de E6 e E7 (Doorbar, 2013; Yajid *et al.*, 2017).

Entre as proteínas precoces, E5, E6 e E7 são consideradas oncoproteínas responsáveis pelos efeitos carcinogênicos do HPV nas células hospedeiras (Jones *et al.*, 2024). A proteína E5 atua como um modulador da sinalização do receptor do fator de crescimento epidérmico (EGFR), promovendo a proliferação e retardando a diferenciação dos queratinócitos, o que favorece tanto a persistência viral quanto a criação de um microambiente pró-tumoral (Ilahi; Bhatti, 2020; Santos *et al.*, 2025). A proteína E6 promove a degradação da proteína supressora tumoral p53, inibindo a

apoptose e o bloqueio do ciclo celular, além de degradar proteínas contendo domínios PDZ e ativar a telomerase, resultando em imortalização celular e maior potencial de transformação neoplásica (Basukala; Banks, 2021; Chen *et al.*, 2025). E7, por sua vez, se liga à proteína supressora tumoral pRb, promovendo sua degradação e consequente liberação dos fatores de transcrição E2F, levando à desregulação do ciclo celular e aumento da proliferação celular (Skelin; Sabol; Tomaić, 2022; Mir *et al.*, 2023).

2.3 VIA DE SINALIZAÇÃO PI3K/AKT/mTOR

A via de sinalização fosfoinositídeo 3-quinase/ serina/treonina quinase/ proteína alvo da rapamicina em mamíferos (PI3K/AKT/mTOR) é uma importante rede de comunicação celular, responsável por transduzir sinais e controlar processos biológicos importantes que incluem proliferação, crescimento celular, metabolismo, apoptose, angiogênese e transição epitélio mesenquimal (Glaviano *et al.*, 2023; Jiang *et al.*, 2025). A ativação dessa via ocorre através da ligação de fatores de crescimento, hormônios e citocinas a família dos receptores de tirosina quinase (RTK) que se dimerizam e recrutam PI3K (Regad *et al.*, 2015). Dentre esses receptores encontram-se o receptor do fator de crescimento epidérmico (EGFR), o receptor do fator de crescimento de fibroblastos (FGFR), o receptor de insulina e do fator de crescimento semelhante à insulina (IR e IGFR), o receptor do fator de crescimento endotelial vascular (VEGFR), o receptor do fator de crescimento de hepatócitos (HGFR) e o receptor do fator de crescimento nervoso (NGFR) (Li e Hristova., 2006; Regad *et al.*, 2015). Outra forma de ativação da via é através da interação da GTPase RAS, um proto oncogene que estimula uma ampla quantidade de proteínas, com a proteína PI3K (Zhang, Jan e Nussinov; 2019). PI3K quando está ativo converte o fosfolípido de membrana PIP2 em PIP3 que por sua vez recruta a quinase AKT que é fosforilada por mTORC2 e se torna ativa, uma vez que AKT está ativa ela interage com diversas proteínas alvos dentre elas mTORC1 resultando na efetividade dos estímulos biológicos (Miricescu *et al.*, 2021) (Figura 7).

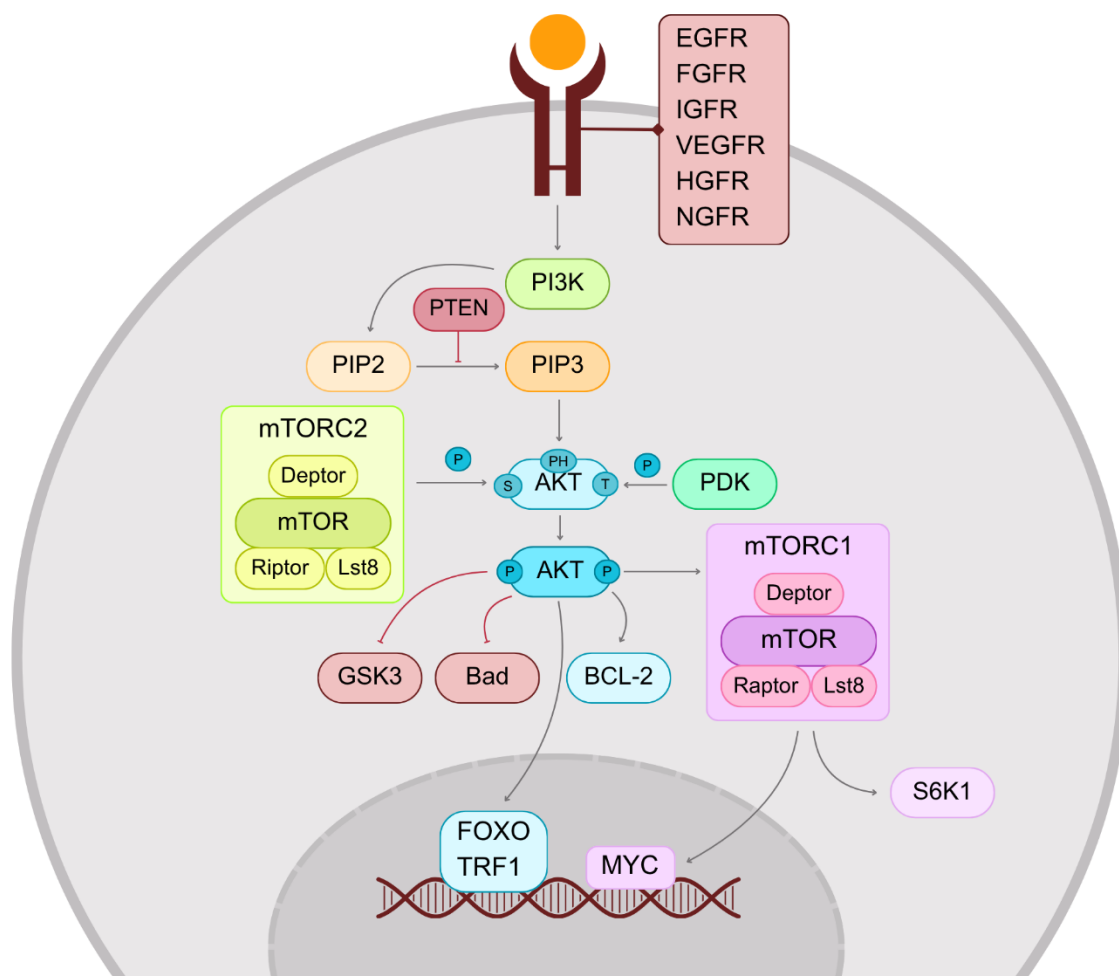


Figura 7: Cascata de sinalização PI3K/AKT/mTOR, destacando os principais componentes da via, incluindo os receptores de crescimento (EGFR, FGFR, IGFR, VEGFR, HGFR, NGFR), as proteínas reguladoras (PTEN, PIP2, PIP3, PDK1), os complexos mTORC1 (mTOR, Raptor, Lst8, Deptor) e mTORC2 (mTOR, Rictor, Lst8, Deptor), e os alvos *downstream* (GSK3, Bad, FOXO, TRF1, BCL-2, MYC e S6K1). Fonte: A autora (2025).

As proteínas fosfoinositídeo 3-quinases são uma família de enzimas lipídicas capazes de catalisar a fosforilação do grupo 3'-OH dos fosfatidilinositóis na membrana plasmática, com isso, convertem o fosfatidilinositol PIP2 em PIP3. (Noorolyai *et al.*, 2019). Todas as PI3Ks apresentam um domínio proteico C2 conservado, um domínio helicoidal e o domínio catalítico e são divididas em 3 classes de acordo com a presença de domínios adicionais (Liu *et al.*, 2017; Jean e Kiger; 2014; Bilanges, Posor e Vanhaesebroeck; 2019). As PI3Ks de classe I são compostas por uma subunidade catalítica P110 e uma subunidade regulatória e ainda se subdividem em IA e IB (Jean e Kiger; 2014). A classe IA está presente em muitos tecidos e as proteínas desta classe são compostas por uma unidade regulatória P85 e uma

unidade catalítica que pode ser a p110 α , a p110 β ou p110 δ que são codificadas pelos genes *PIK3CA*, *PIK3CB* e *PIK3CD*, respectivamente (Vanhaesebroeck *et al.*, 2010). A classe IB apresenta estrutura semelhante, porém difere na unidade catalítica apresentando a P110 γ codificada pelo gene *PIK3CG* (Bilanges, Posor e Vanhaesebroeck., 2019). As isoformas *PI3KCA* e *PI3KCB* estão presentes em todos os tecidos e *PI3KCD* e *PI3KGG* são mais expressas em células imunes (Cuesta, Arévalo-Alameda e Castellano., 2021). As PI3K de classe II possuem 3 isoformas que são PI3KC2 α , PI3KC2 β e PI3KC2 γ e atuam na dinâmica e no tráfego da membrana. A classe III é composta apenas por uma isoforma, a VPS34, que atua no tráfego endocítico, macroautofagia, fagocitose, citocinese e detecção de nutrientes (Backer *et al.*, 2016).

A proteína AKT é uma serina/treonina quinase que é responsável por promover a sobrevivência celular, o crescimento, o metabolismo, a reorganização e migração citoplasmática em condições fisiológicas (Yudushkin., 2019). AKT pertence a uma família de quinases que possuem como estrutura básica 3 domínios, o domínio PH, o domínio quinase e a cauda C-terminal (Kumar, Kabekkodu e Pai., 2025). Existem 3 isoformas de AKT (AKT1, AKT2 e AKT3) que apresentam sequências com cerca de 80% de semelhança, mas o domínio ligante entre elas é altamente divergente (Kumar, Kabekkodu e Pai., 2025). AKT1 é expresso em todos os tecidos; AKT2 também está presente na maioria dos tecidos, mas com maior expressão nos sensíveis a insulina, como muscular, adiposo e fígado; e AKT3 no cérebro, testículos, pulmões, mama e tecido adiposo (Sant e Lee., 2010).

A ativação de AKT se dá pela ligação de PIP3 no domínio PH que recruta essa proteína para membrana e que expõe o resíduo treonina o que permite que AKT seja fosforilado pela proteína quinase 1 dependente de 3-fosfoinosítídeo (PDK1) (Hassan *et al.*, 2024; Rintelen *et al.*, 2001). Em seguida, a proteína alvo da rapamicina em mamíferos 2 (mTORC2) fosforila AKT no resíduo serina ativando completamente essa proteína (Jia e Bonifacino., 2019; Hassan *et al.*, 2024). AKT apresenta mais de 200 substratos conhecidos que incluem fatores de transcrição, GTPases, indutores de apoptose e entre outros. Dentre eles, pode-se citar a glicogênio sintase quinase-3 (GSK3) que é fosforilada e inativa, o que promove maior captação de glicose e o crescimento celular (Hermida, Kumar e Leslie., 2017). Outros alvos importantes são a proteína alvo da rapamicina em mamíferos (mTOR), fator de ligação à repetição

telomérica 1 (TRF1), fatores de transcrição *forkhead* (FOXO) 1–4, p53, a proteína pró-apoptótica (BCL-2) e o agonista da morte celular (Bad) (Manning e Toker., 2017).

A proteína mTOR está envolvida no controle do crescimento celular, regulando processos de anabolismo e catabolismo que envolvem transcrição, síntese proteica, transporte de nutrientes e metabolismo (Panwar et al. 2023). mTOR é dividida em dois complexos que são mTORC1 composto por mTOR, proteína 8 letal em mamíferos com SEC13 (mLST8) e uma proteína reguladora associada ao mTOR (RAPTOR) e mTORC2 que é composto por mTOR, mLST8 e a proteína companheira insensível à rapamicina do mTOR (RICTOR) (Manning e Toker., 2017; Battaglion *et al.*, 2022; Hall *et al.*, 2008). mTORC1 é ativado através de AKT que inativa a proteína da esclerose tuberosa 1 e 2 (TSC 1 e 2) que por consequência ativa Rheb que contribui com a ativação de mTORC1 que uma vez fosforilado exerce suas funções biológicas interagindo com substratos como S6K1, MTHFD2 (metilenotetraidrofolato desidrogenase 2) e proteína de ligação ao eIF4E (4EBP) (Menon *et al.*, 2014; Battaglion *et al.*, 2022). Proteínas com MAPK podem estar envolvidas na regulação negativa desse gene visto que seu aumento leva a ativação de TSC2 e consequente inibição de mTORC1 (Carracedo *et al.*, 2008; Kasitinon *et al.*, 2019). O complexo mTORC2 é ativado a partir da ligação de PIP3 com AKT recrutando-o para membrana plasmática para fosforilar e finalizar a ativação de AKT (Fu e Hall., 2020). Outra função de mTORC2 está relacionada com a repressão da atividade de mTORC1 (Panwar *et al.*, 2023).

A regulação negativa da via PI3K/AKT/mTOR ocorre principalmente por *feedback* negativo através da atividade da fosfatase e homólogo da tensina (PTEN), um importante supressor tumoral na célula, impedindo a hiperativação da via (Song, Salmena e Pandolf., 2012). A desregulação da cascata de sinalização PI3K/AKT/mTOR pode levar ao aumento da proliferação celular, angiogênese e metástase, contribuindo com a carcinogênese e a progressão tumoral (Jiang *et al.*, 2025). PTEN atua removendo o grupo fosfato de PIP3 gerando uma molécula de PIP2, essa ação interrompe a sinalização entre PI3K e AKT e diminui a atividade da via impedindo que ocorra desregulação dentro do ambiente celular (Fedorova *et al.*, 2022).

2.3.1 Via de Sinalização PI3K/AKT/mTOR no Câncer de Mama

A desregulação da cascata de sinalização PI3K/AKT/mTOR pode levar ao aumento da proliferação celular, angiogênese e metástase, contribuindo com a carcinogênese e a progressão tumoral (Jiang *et al.*, 2025) (Figura 8). Essa via está entre as mais desreguladas nos cânceres, sendo relatada como hiperativa no câncer pulmão, câncer gástrico, câncer de cabeça e pescoço, câncer cervical, glioblastoma e câncer de mama (Jiang *et al.*, 2020).

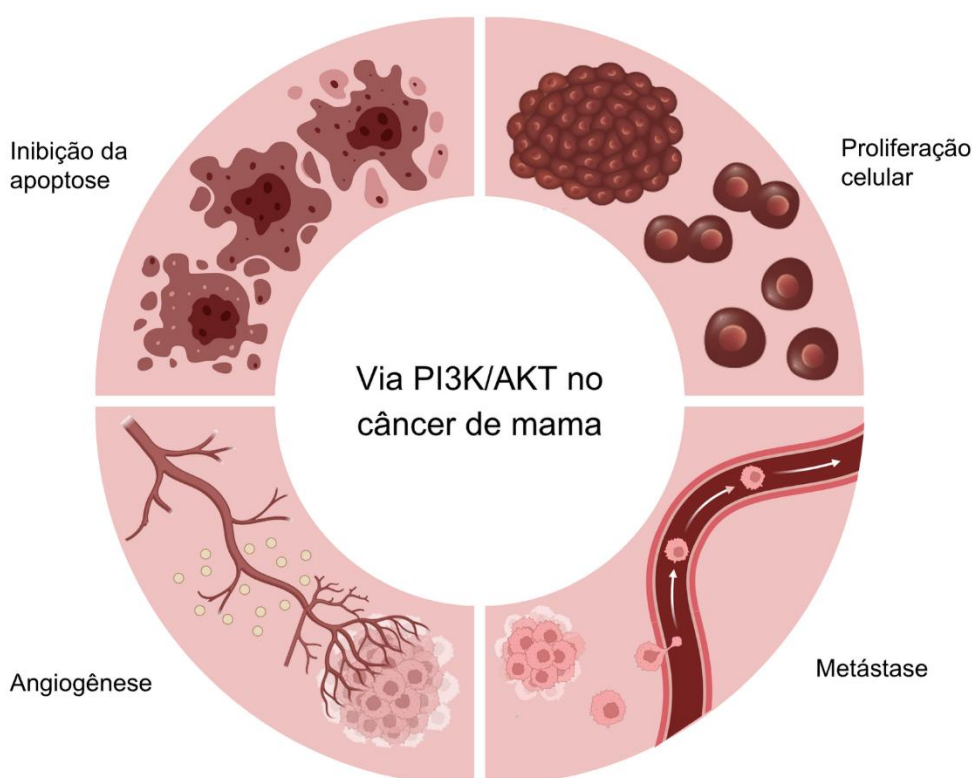


Figura 8: Representação dos principais efeitos biológicos da via de sinalização PI3K/AKT no câncer de mama. Fonte: A autora (2025).

A taxa de mutações que envolvem ganho de função na isoforma PI3KCA está presente em 30 a 40% dos cânceres de mama, já a amplificação de cópias de dessa isoforma foi relatada em 10 a 72% dos casos de câncer de mama quando comparados com tecidos mamários saudáveis (Wu *et al.*, 2005; Firoozinia *et al.*, 2014). Em relação a distribuição da mutação nos tipos tumorais, PI3KCA encontrou-se mutada em 48,3% dos pacientes com câncer de mama luminal, 42,2% no HER2 positivo e 25% no triplo negativo (Xiao *et al.*, 2021). Essa mutação se relaciona com uma maior atividade da via e aumento de sinais de proliferação, inibição da apoptose e ativação de

oncogenes. Além disso, pacientes com câncer de mama e metástase cerebral apresentam uma grande atividade da via PI3K (Adamo *et al.*, 2011).

Outro membro da via que aparece mutado com ganho de função é AKT, com taxa de 5,4%, sendo mais relacionado com cânceres de mama positivos para receptores hormonais (Xiao *et al.*, 2021). Em relação a mTOR, não há grandes taxas de mutação no câncer de mama, sua maior ativação se dá pela ação de AKT e contribui com um aumento da síntese proteica, migração e transição epitélio mesenquimal, conferindo uma vantagem de crescimento para o tumor (Hare e Harve., 2017).

Um dos principais ativadores da via, EGFR, é frequentemente encontrado superexpresso no câncer de mama, sendo relacionado com um prognóstico desfavorável (Maennlin *et al.*, 2019). No câncer de mama triplo negativo, EGFR encontra-se superexpresso em aproximadamente 28% dos casos e essa hiperatividade é relacionada com um maior risco de metástase e estágio clínico mais avançado (Park *et al.*, 2014; Salman *et al.*, 2022). Já nos cânceres de mama luminais a superexpressão de EGFR é encontrada em porcentagens mais baixas, variando de 0 a 5,8% (Kong *et al.*, 2022). Um estudo utilizando esferóides tridimensionais de câncer de mama relacionou a ativação de EGFR com uma maior proliferação das células esferóides, como também com uma maior ativação de metaloproteinases que estão relacionadas com migração celular e transição epitélio mesenquimal que quando hiperativos estão associados a metástase devido à perda de adesão, ganho de motilidade e invasão (Gourdoupi *et al.*, 2025).

O regulador negativo da via, PTEN, sofre mutações envolvendo a deleção de alelos que levam a perda de função em cerca de 10% dos tumores mamários (Miricescu *et al.*, 2021). Além disso, pode ocorrer modificações por meio de mecanismos de metilação, degradação, ubiquitinação, acetilação e oxidação que também contribuem com a perda de PTEN nesse câncer (Carbognin *et al.*, 2019). Em geral, a perda de PTEN, alta expressão de EGFR, PI3K, AKT e mTOR conferem um pior prognóstico para o câncer, reforçando a importância de estudar a via e desses genes como possíveis biomarcadores para o câncer de mama (Prvanović *et al.*, 2021).

2.3.2 Via de Sinalização PI3K/AKT/mTOR no Câncer de Mama e Terapia Direcionada

Os diversos estudos relacionando a hiperatividade da via PI3K/AKT/mTOR com o desenvolvimento do câncer de mama e pior prognóstico evidenciam a importância dessa via como alvo terapêutico (Cerma *et al.*, 2023). No tratamento de tumores de mama positivos para receptores hormonais um dos principais mecanismos de resistência à terapia é induzido por uma maior ativação dessa via (Dong *et al.*, 2021). Diante dessas questões inibidores da cascata de sinalização PI3K/AKT/mTOR vem sendo desenvolvidos. O inibidor de PI3K buparlisib que tem como alvo todas as PI3Ks de classe I está na fase II dos estudos, porém seu uso foi descontinuado devido à toxicidade neurológica.

Atualmente, o inibidor de PI3K aprovado para uso pela *Food and Drug Administration* (FDA) é o Alpelisib, um medicamento específico para PI3K-a utilizado em conjunto com terapia endócrina para cânceres positivos para receptores hormonais de estrogênio e progesterona com mutações em PI3KCA. (Garg *et al.*, 2025). Outro medicamento aprovado pela FDA é o capivasertib, um inibidor de todas as isoformas de AKT, que é utilizado em conjunto com paclitaxel para o câncer de mama receptor de estrogênio e/ou progesterona positivo com alterações em PI3KCA, AKT e PTEN e no câncer de mama triplo negativo (Shirley *et al.*, 2024; Hao *et al.*, 2025). O uso de capivasertib melhorou a sobrevida livre de progressão e a sobrevida livre da doença (Luboff e DeRemer., 2024). A primeira droga aprovada pela FDA em 2012 agindo na via de sinalização PI3K foi Everolimus que inibe mTORC1 diminuindo a síntese proteica e o crescimento celular, o que na prática clínica aumenta a sobrevida livre da doença e diminui a agressividade do tumor (Hao *et al.*, 2025; Baselga *et al.*, 2012; François-Martin *et al.*, 2023).

Diversos outros medicamentos tendo como alvo essa via de sinalização estão sendo desenvolvidos e se encontram em diferentes fases de teste, a exemplo do Gedatolisibe, um inibidor duplo de PI3K e mTOR que está atualmente na fase II de testes e encontra desafios relacionados a equilibrar a inibição de PI3K e mTOR para que não ocorra tantos efeitos colaterais; do Copanlisibe, inibidor de PI3K que está sendo estudado para uso no câncer de mama receptor hormonal positivo e triplo negativo e atualmente busca soluções para meia vida curta da droga; e Trametinib, um inibidor da via PI3K e MAPK, no entanto a interação entre essas vias é um grande desafio a ser vencido no desenvolvimento deste medicamento (Garg *et al.*, 2025; Rossetti *et al.*, 2024; Barbato *et al.*, 2024).

O HPV, por meio de seus oncogenes, é capaz de modular essa via de sinalização nos cânceres cervicais e de cabeça e pescoço, resultando em sua hiperativação (Ippen *et al.*, 2019). Diante disso, avaliar essa interação no câncer de mama torna-se importante para o um possível direcionamento terapêutico no futuro.

2.4 HPV E CÂNCER DE MAMA

O primeiro estudo que levantou evidências da possível associação entre a infecção pelo HPV e o câncer de mama foi realizado em 1992 e desde então diversas pesquisas são feitas a fim de compreender essa relação (Di Lonardo, Venuti e Marcante., 1992). A prevalência do HPV nos tecidos tumorais de mama varia bastante e já foi detectado entre 0 a 86% (Zhao *et al.*, 2024). Uma meta análise realizada com estudos entre o ano de 1992 e 2022 encontrou uma prevalência global de 26,2%, com a Europa apresentando a maior prevalência chegando a 39,1%, seguida da África com 31%, Austrália com 29,2% e Ásia com 22,7%, com o HPV mais prevalente dentre essas amostras sendo o HPV de alto risco 16 (Awan *et al.*, 2023). Uma meta análise mais recente avaliou publicações entre 1990 e 2025 e detectou uma prevalência global do DNA do HPV no câncer de mama de 23% associada a um risco de 3,6 vezes maior de desenvolver a carcinogênese para qualquer tipo histológico (Koishybayeva *et al.*, 2025).

No Nordeste brasileiro, Nascimento *et al.* (2024) detectou DNA viral do HPV16 em 35,7% das amostras de tecidos de câncer de mama (Nascimento *et al.*, 2024). Outro estudo também realizado no nordeste brasileiro relatou a presença do DNA do HPV em 49,5% das amostras de carcinoma mamário (Cavalcante *et al.*, 2018). A variação da prevalência do HPV encontrada pode estar relacionada com a baixa carga viral 0,00054–9,3 cópias/célula nessas amostras, contudo, outros estudos já relataram uma alta carga viral de 80 cópias/célula em tumores triplo negativo (Nascimento *et al.*, 2024; Lawson *et al.*, 2015).

As principais hipóteses levantadas sobre como o HPV pode infectar as células mamárias incluem o contato sexual que pode levar a entrada do vírus a partir de microlesões na pele da mama ou a disseminação através da via sanguínea e linfática por meio da circulação de vesículas extracelulares que realizam o transporte em pacientes com histórico de infecções prévias pelo vírus (Lawson *et al.*, 2016; Kudela *et al.*, 2022) (Figura 9). Em relação ao papel do HPV na carcinogênese mamária, o estudo de Ren *et al.* (2019) correlacionou a infecção pelo vírus com um maior risco de

desenvolvimento do câncer de mama (Ren *et al.*, 2019). O mecanismo pelo qual o HPV induzia esse câncer ainda não está elucidado, mas há uma hipótese de que o vírus induz uma instabilidade cromossômica a partir da ação das suas oncoproteínas e contribua com a carcinogênese mamária (Kudela *et al.*, 2022).

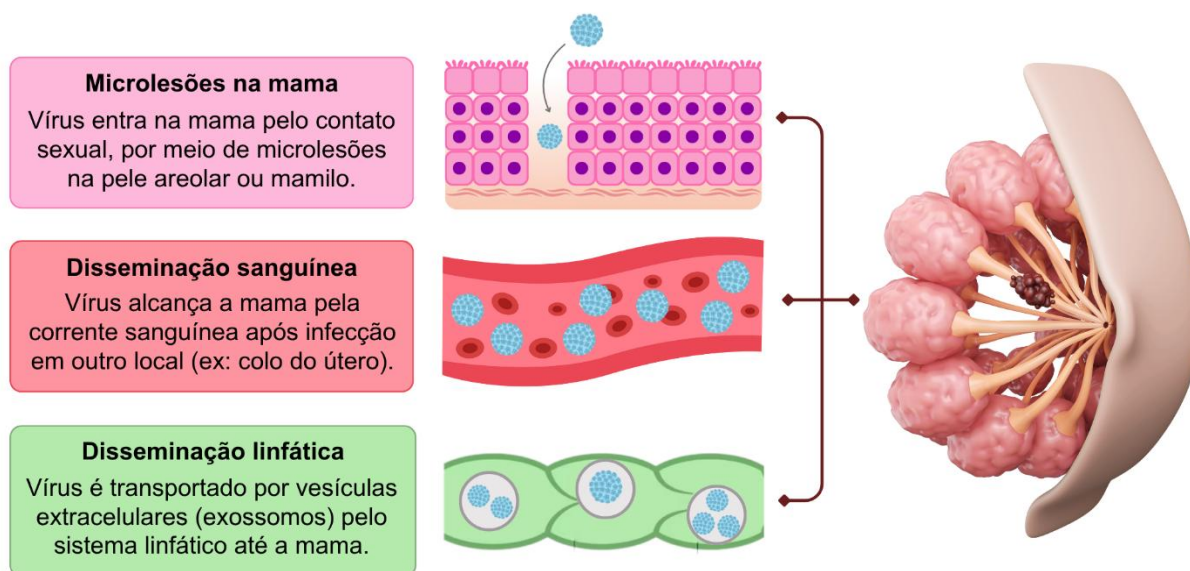


Figura 9: Principais hipóteses de infecção das células mamárias pelo HPV. Fonte: A autora (2025).

O RNA mensageiro das oncoproteínas E5, E6 e E7 já foi encontrado nas amostras de tumores mamários sugerindo atividade viral (Salman *et al.*, 2017; Nascimento *et al.*, 2024). Pacientes com câncer de mama HPV-positivo também apresentaram uma maior agressividade tumoral e maior tamanho tumoral associado a um aumento da expressão de Ki67 e maior taxa de metástase (Awan *et al.*, 2025). Além disso, foi observada uma maior expressão de IL-6 em pacientes com câncer de mama HPV positivas quando comparadas com as HPV negativas (Charostad *et al.*, 2021). O alto nível de expressão de IL-6 no câncer de mama está associado a processos metastáticos e estágios clínicos mais avançados (Charostad *et al.*, 2021).

O conjunto desses fatores sustenta a ideia de que o HPV possa influenciar nessa carcinogênese, entretanto, a maioria dos estudos realizados até o momento são focados na detecção do DNA viral nas amostras de tumores mamários e há poucos estudos que avaliam a expressão das oncoproteínas virais (Tabela 1), o que não possibilita inferir sobre a atividade viral e os mecanismos exatos pelos quais ele influencia nessa carcinogênese. Diante disso, há uma necessidade de avaliar a

expressão dos genes virais e modulação de vias relacionadas ao câncer a fim de elucidar e sanar essa lacuna.

País	Porcentagem do HPV encontrada	Amostras utilizadas	Tipo de estudo	Referência
Itália	29%	E6 e E7	Pacientes	Frega <i>et al.</i> , 2012.
Brasil	35,7%	E5	Pacientes	Nascimento <i>et al.</i> , 2024
Iraque	17.64%	E6 e E7	Pacientes	Alrawi <i>et al.</i> , 2024
Brasil	-	E5, E6 e E7	Célula	Leão <i>et al.</i> , 2025
Brasil	-	E5, E6 e E7	Célula	Santos <i>et al.</i> , 2024

Tabela 1: Estudos que avaliaram a expressão dos oncogenes virais em células e tecidos de câncer de mama entre os anos de 1992 e 2025.

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar a expressão de oncogenes do HPV e a modulação da expressão de genes associado à via PI3K/ AKT/mTOR em diferentes subtipos moleculares de câncer de mama.

3.1.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Classificar os tumores em HPV-positivos e HPV-negativos com base na expressão dos oncogenes E5, E6 e E7 do HPV.
- Identificar o subtipo molecular de câncer de mama mais associado à expressão de oncogenes do HPV na amostra avaliada
- Quantificar a expressão de genes associados a via PI3K/AKT/mTOR em tumores mamários positivos e negativos para a expressão de oncogenes do HPV

4 METODOLOGIA

4.1 AMOSTRAS BIOLÓGICAS

4.1.1 Amostras de tecido parafinado de mama

As amostras biológicas derivadas de tecido parafinado com diagnóstico histológico e imuno-histoquímico de pacientes de câncer de mama foram coletadas entre o período de junho de 2019 a abril 2024, a partir de tumores de pacientes com câncer de mama tratadas no Hospital das Clínicas (HC-UFPE), Recife, Pernambuco. Para o presente estudo foram considerados dois grupos: (1) pacientes com câncer de mama e HPV-positivos (grupo tratamento) e; pacientes com câncer de mama e HPV-negativos (grupo controle). A classificação histológica do tecido mamário utilizada neste projeto de pesquisa está em consonância com a classificação da Organização Mundial de Saúde (OMS). Todos os dados clínicos foram obtidos através dos laudos dos pacientes. Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Pernambuco, Brasil, sob o número de CAAE 40062720.0.0000.5208.

4.1.1 Amostras de células MDA-MB-231

As células de câncer de mama triplo negativo MDA-MB-231 (ATCC HTB-26) transfectadas individualmente com os oncogenes E5, E6 e E7 foram disponibilizadas a partir do biorrepositório do nosso laboratório de pesquisa (Santos *et al.*, 2024; Leão *et al.*, 2025). Em síntese, as sequências dos oncogenes virais foram clonadas no vetor pGEM-T e subclonadas no vetor pcDNA3.1, em seguida os plasmídeos foram transfectados individualmente em células MDA-MB-231. Para o presente estudo foram considerados quatro grupo: (1) MDA cultivada com pcDNA 3.1 (vetor vazio); (2) MDA transfectada com o oncogene E5; (3) MDA transfectada com o oncogene E6; (4) MDA transfectada com o oncogene E7.

4.2 EXTRAÇÃO DE RNA E SÍNTESE DE cDNA

Os blocos parafinados de tecido de carcinoma mamário foram utilizados para extração de RNA a partir do método TriZol, seguindo as orientações do fabricante. O

RNA da linhagem celular MDA-MB-231 foi extraído utilizando o Pure Link – RNA mini Kit (Invitrogen®), com intuito de isolar e purificar o RNA em uma concentração de 1000ng. O RNA extraído de cada amostra foi quantificado em Nanodrop (*Thermo Scientific*) e foram consideradas apenas amostras com valores maiores que 125 ng/ul e razão 260/280 próxima a 2,0 para as amostras de tecido parafinado. A síntese de cDNA tanto das amostras parafinadas quanto da linhagem celular foi realizada seguindo o manual do kit *Maxima First Strand cDNA Synthesis Kit with dsDNase* (*Thermo Scientific*).

4.3 ANÁLISE DE EXPRESSÃO GÊNICA RELATIVA VIA RT-QPCR

A amplificação dos genes alvo foi realizada em placas de 96 poços, no termociclador CFX Opus 96 Real-Time PCR Sytem (BioRad) por meio do método de detecção com SYBR Green. As reações foram conduzidas conforme as recomendações do MIQE (Bustin; Wittwer 2017), utilizando duas réplicas técnicas para cada amostra com uma amplificação previa de 20 ciclos para todas as amostras (Vlasta korenková et al., 2015). Para normalização dos dados foram utilizados os genes de referência GAPDH e EEF1A1 e como controle positivo foi utilizada uma amostra de câncer cervical HPV-positiva extraída utilizando a mesma metodologia. A expressão diferencial foi calculada pelo método $2^{-\Delta\Delta Cq}$. A sequência dos pares de *primers* utilizados nesse estudo está descrita na tabela 2.

ID	Sentido	Sequência	Tamanho	Referência
E5_HP16	F	ACAACATTACTGGCGTGCT	140	Ren <i>et al.</i> , 2020
E5_HP16	R	GAGGCTGCTGTTATCCACAAT A	140	Ren <i>et al.</i> , 2020
E6_HP16	F	TCAGGACCCACAGGAGCG	109	Ren <i>et al.</i> , 2020
E6_HP16	R	CCTCACGTGCGAGTAACTGTTG	109	Ren <i>et al.</i> , 2020
E7_HP16	F	CCGGACAGAGCCCATTACAA	92	Ren <i>et al.</i> , 2020
E7_HP16	R	CGAATGTCTACGTGTGTGCTTTG	92	Ren <i>et al.</i> , 2020
PI3K	F	GGGGATGATTTACGGCAAGAT A	144	Zhang <i>et al.</i> , 2019
PI3K	R	CACCACCTCAATAAGTCCCAC A	144	Zhang <i>et al.</i> , 2019
AKT	F	GCAGCACGTGTACGAGAAGA	67	Zhang <i>et al.</i> , 2019
AKT	R	GGTGTCAGTCTCCGACGTG	67	Zhang <i>et al.</i> , 2019
mTOR	F	CGCTACTGTGTCTTGGCATC	154	Tong <i>et al.</i> , 2021
mTOR	R	CGCTACTGTGTCTTGGCATC	154	Tong <i>et al.</i> , 2021
PTEN	F	CAGTAGAGGAGCCGTCAAATC	108	Qin <i>et al.</i> , 2020
PTEN	R	CAGAGTCAGTGGTGTGAGAAT ATC	108	Qin <i>et al.</i> , 2020
EGFR	F	AACACCCTGGTCTGGAAGTACG	106	(NM_005228, HP208404, OriG ene Technologies, Inc., Beijing, China)
EGFR	R	TCGTTGGACAGCCTTCAAGACC	106	(NM_005228, HP208404, OriG ene Technologies, Inc., Beijing, China)
GAPDH	F	GAGTGGGGTGGCAGGTATT	123	Leitao MdCG <i>et al.</i> , 2014
GAPDH	R	TAAGCAGTTGGTGGTGCAGG	123	Leitao MdCG <i>et al.</i> , 2014
EEF1A1	F	GTTGCGGTGGGTGTCATCA	91	Leitao MdCG <i>et al.</i> , 2014
EEF1A1	R	GAGTGGGGTGGCAGGTATT	91	Leitao MdCG <i>et al.</i> , 2014

Tabela 2: Primers utilizados para amplificação dos genes via RT-qPCR.

4.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA

A distribuição dos dados foi verificada por meio do teste de Kolmogorov-Smirnov. Os dados das amostras de células MDA-MB-231 apresentaram distribuição normal e foram analisadas utilizando o teste Ordinary One-way ANOVA. Os dados das amostras de tecido parafinado não apresentaram uma distribuição normal e foram

avaliados pelo teste não paramétrico Kruskal-Wallis para caracterizar a significância da expressão calculada. Foram considerados estatisticamente significativos resultados com $p\text{-value} < 0.05$. Todas as análises estatísticas foram realizadas no software *GraphPad Prism* versão 9.0.0 (GraphPad Software, Inc. San Diego, CA, EUA). Um fluxograma das atividades realizadas está resumidamente apresentado na figura 10.

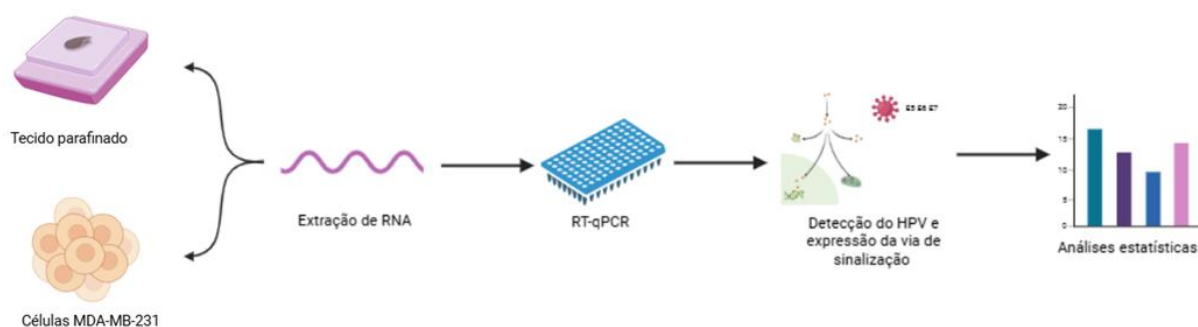


Figura 10: Fluxograma de atividades

5. RESULTADOS

5.1 Caracterização das amostras

Das amostras de tecido parafinado de câncer de mama disponíveis foi possível obter RNA de 48 amostras que seguiram para etapa de RT-qPCR. A caracterização das amostras está disponível na Tabela 3, das quais 37 pacientes foram consideradas positivas para o HPV e 11 negativas. Os tipos moleculares mais prevalentes foram os luminais somando 64,58%, seguido do triplo negativo com 6,25% e do HER2 com 2,08% dentro do grupo HPV positivo. Com isso, as amostras com os subtipos Luminais seguiram para as posteriores análises do estudo destinadas a comparação entre subtipos moleculares de câncer de mama.

Tipo molecular	HPV positivo	HPV negativo	Total
HER-2	1 (2,08%)	1 (2,08%)	2 (4,17%)
Luminal A	16 (39,58%)	4 (8,33%)	23 (47,92%)
Luminal B	12 (25,00%)	4 (8,33%)	16 (33,33%)
Triple-negativo	3 (6,25%)	1 (2,08%)	4 (8,33%)
Não identificado	2 (4,17%)	1 (2,08%)	3 (6,25%)
Total	37 (77,08%)	11 (22,92%)	48 (100%)

Tabela 3: Caracterização das amostras de acordo com a positividade para o HPV e o tipo molecular.

5.2 Expressão relativa dos oncogenes virais nas amostras de tecido parafinado

A análise de expressão relativa revelou níveis elevados da oncogenes E5 em relação a E6 e E7 com *p-value* <0,01 para E6 e *p-value* <0,0001 para E7 (figura 11). Quando as oncogenes E6 e E7 foram comparadas entre si não ocorreu diferença significativa nos níveis de expressão delas.

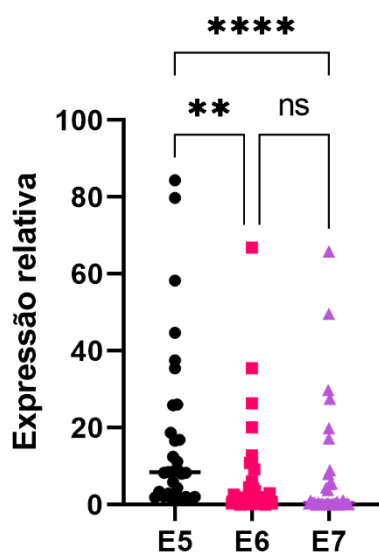


Figura 11: Expressão relativa das oncoproteínas E5, E6 e E7 nos pacientes com câncer de mama HPV positivo. ** p -value $< 0,01$ **** p -value $< 0,0001$.

5.3 Modulação dos genes relacionados a via PI3K nas amostras de tecido parafinado com câncer de mama luminais

Em relação a cascata EGFR/PI3K/ AKT/mTOR nas amostras de pacientes classificados nos tipos luminais foi observado um aumento da expressão relativa de *PI3K* ($p < 0,01$) (figura 12B) no grupo HPV positivo quando comparado com o HPV negativo e uma diminuição da expressão de *mTOR* no grupo HPV-positivo ($p < 0,0001$) (Figura 11D). *EGFR* e *AKT* não apresentaram diferenças estatísticas entre os grupos (Figura 12A-C).

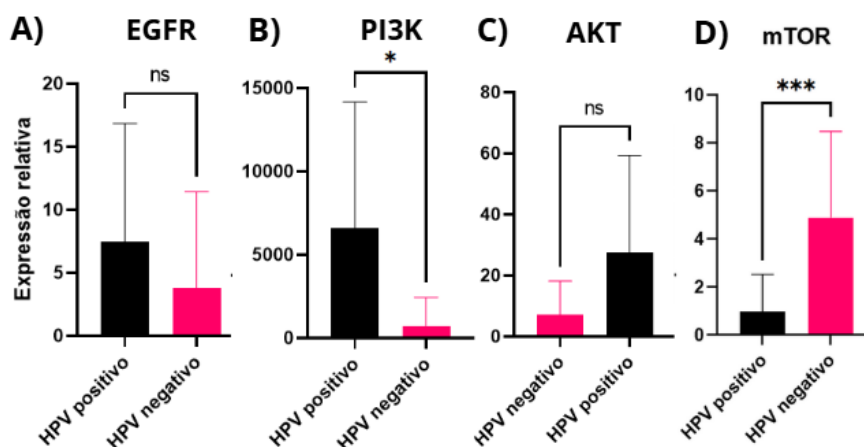


Figura 12: Expressão dos EGFR, PI3K, AKT, mTOR nas amostras HPV-positivas e HPV-negativas.

* P -value<0,05 *** P -value< 0,001.

5.4 Modulação dos genes relacionados a via PI3K nas células MDA-MB-231

A avaliação da via de sinalização na linhagem celular MDA-MB-231 transfectada com os oncogenes virais encontrou uma diminuição significativa na expressão de AKT nas células transfectadas com os oncogenes quando comparado com as transfectadas com o vetor vazio e os genes EGFR, PI3K e mTOR não apresentaram diferenças significantes entre os grupos (Figura 12).

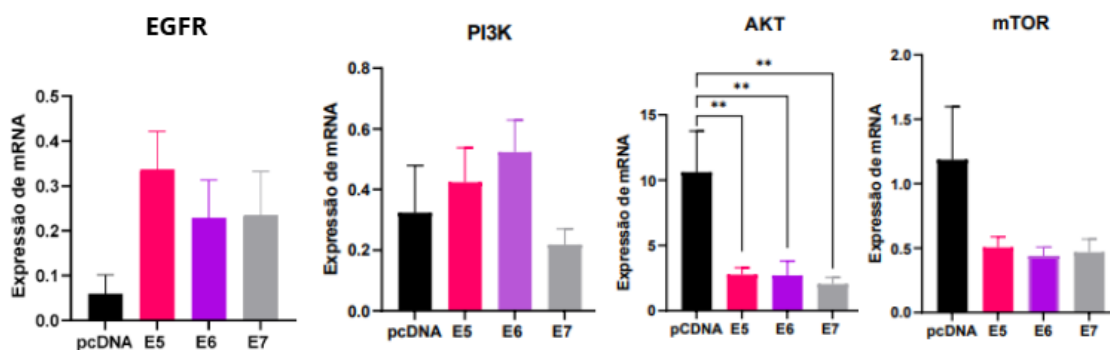


Figura 13: Expressão dos genes EGFR, PI3K, AKT, mTOR nas células MDA-MB-231 transfectadas com os oncogenes e o vetor vazio. ** P -value<0,01.

6. DISCUSSÃO

O presente estudo analisou a expressão gênica dos oncogenes E5, E6 e E7 do HPV 16 e da via de 48 tumores mamários, dentre os quais 39 (81,25%) fazem parte dos tipos moleculares classificados como luminais A e B. Esse tipo molecular é o mais prevalente no Brasil e no Nordeste brasileiro foi relatado uma prevalência de 68,4% dos casos de tumores mamários em um hospital local (de Macêdo Andrade *et al.*, 2014; Borges *et al.*, 2017; Vieira *et al.*, 2017). Neste sentido, nossos estudos corroboram com estudos anteriores que demonstram a alta prevalência dos tipos luminais de tumores mamários.

Recentemente, infecções virais têm sido investigadas como fatores de risco para o desenvolvimento do câncer de mama (Lawson e Glenn *et al.*, 2021). No presente estudo, a expressão de oncogenes do HPV foi detectada em 77,08% das amostras de tecido parafinado, das quais 64,58% das amostras HPV-positivas fazem parte dos tipos luminais, tipos mais prevalentes no grupo amostral avaliado. A alta prevalência do HPV nessas amostras, mais especificamente nos tipos moleculares luminais, indica a ampla distribuição do vírus, uma vez que são os tipos mais frequentes de câncer de mama. Outro estudo também encontrou resultados semelhantes, no qual 24 das 27 amostras positivas para o HPV eram dos tipos luminais (Khasawneh *et al.*, 2024). Os tumores luminais apresentam melhor prognóstico e menor agressividade quando comparados com os tipos moleculares HER2 e triplo negativo que, por sua vez, possuem uma alta proliferação e um fenótipo mais agressivo (Zagami e Carey *et al.*, 2022; Mercogliano *et al.*, 2023; Jennifer e Gao., 2018). Esses achados podem sugerir uma associação do HPV em tipos moleculares menos agressivos, entretanto, estudos com tamanhos amostrais maiores e em regiões geográficas diversificadas são essenciais, visto que, outros estudos indicam associação da presença do vírus em tipos mais agressivos (Cavalcanti *et al.*, 2018).

A avaliação da expressão relativa revelou níveis significativos do oncogene E5 do HPV quando comparado com E6 e E7, além de não identificar diferença de expressão entre as oncogenes E6 e E7. O presente estudo é o primeiro que compara os níveis de expressão dos três oncogenes do HPV no câncer de mama, uma vez que os demais avaliaram a expressão conjunta de E6 e E7 ou apenas a expressão de E5 (Frega *et al.*, 2012; Nascimento *et al.*, 2024; Alrawi *et al.*, 2024). Normalmente a expressão do oncogene E5 diminui após a integração ao genoma humano e os níveis

de E6 e E7 aumentam logo em seguida (Oyervides-Muñoz *et al.*, 2018). Por exemplo, em cânceres de cabeça e pescoço HPV-positivos o vírus se encontrava em um estado epissomal houve uma maior expressão de E5 quando comparado com E6 e E7 (Ren *et al.*, 2020). Outro estudo realizado com amostras de câncer de mama HPVs positivos identificou a expressão de E5 com o HPV associando-a ao estado misto do vírus nas amostras avaliadas, ou seja, tanto na forma integrada quanto na epissomal (Nascimento *et al.*, 2024). De acordo com os nossos resultados pode estar ocorrendo algo semelhante em nosso estudo, no qual o HPV pode estar sendo encontrado no estado epissomal ou misto, fato que explicaria a alta expressão de E5.

Os oncogenes do HPV podem modular diferentes vias celulares promovendo a carcinogênese em cânceres HPV-associados, incluindo a via PI3K/AKT/mTOR (Miricescu *et al.*, 2021). Essa via de sinalização é uma importante rede de comunicação celular que se encontra desregulada no câncer de mama (Jiang *et al.*, 2025). O principal ativador da via PI3K/AKT/mTOR é o receptor do fator de crescimento epidérmico (EGFR) responsável por recrutar PI3K (Lee *et al.*, 2018). A alta expressão de EGFR é frequentemente encontrada no câncer de mama e associada a inibição da apoptose, progressão tumoral e a criação de um ambiente inflamatório (Park *et al.*, 2020; Ganesan *et al.*, 2024; Wang *et al.*, 2022). No câncer cervical, a oncoproteína E5 consegue estimular a proliferação celular por meio da amplificação de sinal de EGFR (Ilahi *et al.*, 2020). Já no câncer de cabeça e pescoço HPV-positivo, há uma menor expressão de EGFR do que no câncer HPV-negativo, conferindo um melhor prognóstico (Taberna *et al.*, 2018). O nosso estudo, por sua vez, não encontrou diferenças estatísticas entre o grupo HPV-positivo e HPV-negativo, tanto em amostras de pacientes luminais quanto na linhagem celular MDA-MB-231 de câncer de mama triplo negativo, o que sugere que a ativação de EGFR, nesses dois tipos moleculares, pode estar sendo influenciada por outros mecanismos que não envolvam diretamente a infecção viral.

A interação de PI3K com HPV em outros cânceres se dá por meio das oncoproteínas E6 e E7 que aumentam sua expressão (Contreras-Paredes *et al.*, 2009; Wang *et al.*, 2020). Estudos anteriores realizados em pacientes com câncer de pulmão já relataram que as oncoproteínas E6 e E7 do HPV16 promovem a ativação da via PI3K/AKT a qual serve como mediadora da expressão de fatores de transcrição (Liu *et al.*, 2018). Fármacos em desenvolvimento para o tratamento do câncer cervical promoveram a inibição da via PI3K/AKT/mTOR e consequentemente a morte celular

por apoptose através da degradação dos oncogenes virais E6 e E7 (Mulati *et al.*, 2025). Entretanto, a alta expressão de E5 encontrada nas amostras mamárias pode sugerir uma interação desse oncogene com PI3K nesse tecido, mecanismo que precisa ser melhor estudado em pesquisas futuras a fim de entender melhor os impactos da infecção pelo HPV nesses tumores.

No presente estudo, os resultados observados em amostras de pacientes dos subtipos luminais sugerem que, assim como em outros tipos de cânceres, o HPV pode estar influenciando no aumento da expressão da proteína PI3K e, consequentemente, na carcinogênese associada aos pacientes deste tipo tumoral. Essa relação positiva entre o HPV e PI3K no câncer de mama luminal faz com que o grupo de pacientes com tumores HPV-positivos possam se beneficiar de terapias direcionadas a PI3K, como é o exemplo do inibidor aprovado Alpelisib (Garg *et al.*, 2025). Já em relação às células de câncer de mama triplo negativo, não foram observadas diferenças de expressão dos níveis de PI3K entre as células transfectadas com os oncogenes e o vetor vazio, indicando que o HPV pode modular diferencialmente a via a depender do tipo molecular dos tumores mamários.

AKT exerce um papel fundamental na proliferação celular, sobrevivência e metabolismo celular, sendo, no carcinoma mamário, frequentemente encontrado em níveis elevados de expressão em conjunto com PI3K (Martorana, *et al.*, 2021). No entanto, nosso estudo não apresentou diferenças nos níveis de expressão para pacientes luminais, o que sugere que esse gene pode não estar sendo afetado pela presença do vírus em convergência com PI3K. Em relação aos resultados encontrados em células MDA-MB-231 transfectadas com HPV, foi observado níveis de expressão diminuídos de AKT quando comparado com o vetor vazio. Essa diminuição está de acordo com outro estudo que encontrou níveis de transcrição de AKT reduzidos em pacientes HPV-positivos quando comparados àqueles que eram HPV- negativos para o câncer de cabeça e pescoço, no qual foi observado que uma maior expressão de AKT estava relacionada a diminuição da sobrevida (Aguayo *et al.*, 2023). A partir desses dados pode-se inferir que o HPV assim como no câncer de cabeça e pescoço possa estar diminuindo a expressão de AKT, no câncer de mama, conferindo um melhor prognóstico para os pacientes do tipo molecular triplo negativo.

Em relação a mTOR, este gene encontra-se frequentemente desregulado no câncer de mama seja por mutações envolvendo ganho de função ou maior atividade de suas vias ativadoras (Miricescu *et al.*, 2020). Os dados obtidos neste estudo

revelam uma diminuição significativa da expressão de mTOR em pacientes com câncer de mama luminais positivos para o HPV com $p < 0,001$. A associação entre os oncogenes do HPV, em especial E6, e o aumento dos níveis de mTOR tem sido descritos na literatura (Spangle *et al.*, 2010). No carcinoma mamário o HPV pode estar reprimindo a expressão de mTOR mediante interação com E5 a fim de buscar evasão imunológica, uma vez que mTOR pode ativar a resposta imune através da ativação dos linfócitos T e E5 é conhecido por estar associado com o processo de evasão imunológica viral (Saxton *et al.*, 2017; Miura *et al.*, 2010). Em células, por sua vez, ocorreu uma tendência de diminuição de expressão para mTOR sem diferenças estatísticas entre os si, fato que sugere que nesse grupo tumoral o fármaco normalmente utilizado para inibir mTOR no câncer de mama resistente à terapia endócrina não iria ter um efeito positivo.

Em suma, foi possível observar uma modulação diferenciada da via de sinalização pelos oncogenes do HPV a depender do tipo molecular de câncer de mama. A literatura já esclareceu que a via se comporta de maneiras diferentes a depender do tipo molecular, indicando que no tipo luminal há uma maior desregulação da via PI3K, inclusive com maiores taxas de mutações em comparação com tipo triplo negativo (Zardavas *et al.*, 2018). Entretanto, se tumores mamários HPV-positivos apresentam padrões diferentes de expressão de genes da via em comparação aos HPV-negativos, terapias direcionadas podem ser utilizadas de modo ineficaz em casos em que o vírus atua reduzindo a expressão dos alvos da terapia aplicada.

Em cânceres com associação com o HPV já bem estabelecida, a via também é modulada de maneiras divergentes pelo vírus (Egawa *et al.*, 2023). Tal informação, somada aos resultados encontrados reforça a importância de aprofundar os estudos sobre a influência do HPV no câncer de mama levando em consideração a heterogeneidade genética dos diferentes tipos moleculares. Uma vez que essa relação seja elucidada, um direcionamento terapêutico mais adequado para os grupos de câncer de mama HPV-positivo poderá ser corretamente estabelecido.

7. CONCLUSÃO

A alta prevalência do vírus nas amostras revela uma possível influência do HPV em tumores de mama, relacionada com escape imunológico e/ou ativação da proliferação celular devido a diminuição da expressão de mTOR e AKT e aumento da expressão de PI3K. Além disso, também foi observado que o HPV modula de maneiras diferentes a via de sinalização a depender do tipo molecular de câncer de mama. Diante disso, compreender a modulação da via em cada tipo tumoral ajudará a direcionar terapias com fármacos já existentes, sugerir novos alvos terapêuticos e biomarcadores no câncer de mama HPV-positivo.

REFERÊNCIAS

ADAMO, B. et al. Phosphatidylinositol 3-kinase pathway activation in breast cancer brain metastases. **Breast Cancer Research**, v. 13, n. 6, dez. 2011.

AGGARWAL, N. et al. Insights into expression and localization of HPV16 LCR-associated transcription factors and association with LCR activity in HNSCC. **Molecular therapy. Oncology**, v. 33, n. 1, p. 200926, Spring 2024.

AGUAYO, F. et al. PI3K/AKT/mTOR Signaling Pathway in HPV-Driven Head and Neck Carcinogenesis: Therapeutic Implications. **Biology**, v. 12, n. 5, p. 672, 1 maio 2023.

ALRAWI, Zahraa. Regulation high risk human papillomavirus (HPV)-induced breast cancer by differential expression of E6 and E7 oncogenes in Iraqi women with breast cancer. *[S.l.: S.n.]*

ARUN, B. et al. BRCA-mutated breast cancer: the unmet need, challenges and therapeutic benefits of genetic testing. **British Journal of Cancer**, v. 131, 30 ago. 2024.

AWAN, U. A. et al. HPV-driven breast carcinogenesis: associations with tumor severity, Ki67 expression and metastasis. **Infectious Agents and Cancer**, v. 20, n. 1, 13 ago. 2025.

BACKER, JONATHAN M. The intricate regulation and complex functions of the Class III phosphoinositide 3-kinase Vps34. **Biochemical Journal**, v. 473, n. 15, p. 2251–2271, 28 jul. 2016.

BARBATO, M. I. et al. FDA Approval Summary: Dabrafenib in Combination with Trametinib for *BRAFV600E* Mutation-Positive Low-Grade Glioma. **Clinical Cancer Research**, p. OF1–OF6, 7 set. 2023.

BASUKALA, O.; BANKS, L. The Not-So-Good, the Bad and the Ugly: HPV E5, E6 and E7 Oncoproteins in the Orchestration of Carcinogenesis. **Viruses**, v. 13, n. 10, p. 1892, 22 set. 2021.

BATTAGLIONI, S. et al. mTOR substrate phosphorylation in growth control. **Cell**, v. 185, n. 11, p. 1814–1836, maio 2022.

BERTINAZZI, M. et al. Clinical implications of alpha, beta, and gamma HPV infection in juvenile onset recurrent respiratory papillomatosis. **European archives of oto-rhino-laryngology: official journal of the European Federation of Oto-Rhino-Laryngological Societies (EUFOS): affiliated with the German Society for Oto-Rhino-Laryngology - Head and Neck Surgery**, v. 279, n. 1, p. 285–292, 1 jan. 2022.

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. 2022a.

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. 2022b.

BILAL AHMAD MIR et al. Increased expression of HPV-E7 oncoprotein correlates with a reduced level of pRb proteins via high viral load in cervical cancer. **Scientific Reports**, v. 13, n. 1, 12 set. 2023.

BILANGES, B.; POSOR, Y.; VANHAESEBROECK, B. PI3K isoforms in cell signalling and vesicle trafficking. **Nature Reviews Molecular Cell Biology**, v. 20, n. 9, p. 515–534, 20 maio 2019.

BLANCO, R. et al. Human Papillomavirus in Breast Carcinogenesis: A Passenger, a Cofactor, or a Causal Agent? **Biology**, v. 10, n. 8, p. 804, 20 ago. 2021.

BORGES, Umbelina Soares et al. A comparative study of Ki-67 antigen expression between luminal A and triple-negative subtypes of breast cancer. **Medical Oncology**, v. 34, n. 9, p. 156, 2017.

BUDZIK, M. P.; FUDALEJ, M. M.; BADOWSKA-KOZAKIEWICZ, A. M. Histopathological analysis of mucinous breast cancer subtypes and comparison with invasive carcinoma of no special type. **Scientific Reports**, v. 11, n. 1, p. 5770, 11 mar. 2021.

BURK, R. D.; HARARI, A.; CHEN, Z. Human papillomavirus genome variants. **Virology**, v. 445, n. 0, p. 232–243, 1 out. 2013.

CARBOGNIN, L. et al. Prognostic and Predictive Implications of PTEN in Breast Cancer: Unfulfilled Promises but Intriguing Perspectives. **Cancers**, v. 11, n. 9, p. 1401, 19 set. 2019.

CARRACEDO, A. et al. Inhibition of mTORC1 leads to MAPK pathway activation through a PI3K-dependent feedback loop in human cancer. **Journal of Clinical Investigation**, v. 118, n. 9, 1 ago. 2008.

CASTRO-MUÑOZ, L. J. et al. The Human Papillomavirus (HPV) E1 protein regulates the expression of cellular genes involved in immune response. **Scientific Reports**, v. 9, n. 1, 20 set. 2019.

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

CERMA, K. et al. Targeting PI3K/AKT/mTOR Pathway in Breast Cancer: From Biology to Clinical Challenges. **Biomedicines**, v. 11, n. 1, p. 109, 1 jan. 2023.

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, J. et al. Increasing rates of early-onset Luminal A breast cancers correlate with binge drinking patterns. **Breast Cancer Research**, v. 26, n. 1, 18 out. 2024.

CHEN, Y. et al. How can HPV E6 manipulate host cell differentiation process to maintain the reservoir of infection. **Tumour Virus Research**, v. 19, p. 200313, 19 jan. 2025.

CHESSON, H. W. et al. The Estimated Lifetime Probability of Acquiring Human Papillomavirus in the United States. **Sexually Transmitted Diseases**, v. 41, n. 11, p. 660–664, nov. 2014.

CHRISTENSEN, N. D. HPV disease transmission protection and control. **Microbial Cell**, v. 3, n. 9, p. 475–489, 5 set. 2016.

CONTRERAS-PAREDES, A. et al. E6 variants of human papillomavirus 18 differentially modulate the protein kinase B/phosphatidylinositol 3-kinase (akt/PI3K) signaling pathway. **Virology**, v. 383, n. 1, p. 78–85, 13 nov. 2008.

CSERNI GÁBOR . Histological type and typing of breast carcinomas and the WHO classification changes over time. **Pathologica - Journal of the Italian Society of Anatomic Pathology and Diagnostic Cytopathology**, v. 112, n. 1, p. 25–41, 2017.

CUESTA, C.; ARÉVALO-ALAMEDA, C.; CASTELLANO, E. The Importance of Being PI3K in the RAS Signaling Network. **Genes**, v. 12, n. 7, p. 1094, 19 jul. 2021.

DA COSTA NUNES, G. G. et al. Genomic Variants and Worldwide Epidemiology of Breast Cancer: A Genome-Wide Association Studies Correlation Analysis. **Genes**, v. 15, n. 2, p. 145–145, 23 jan. 2024.

DALY, M. B. et al. The association between age at breast cancer diagnosis and prevalence of pathogenic variants. **Breast Cancer Research and Treatment**, v. 199, n. 3, p. 617–626, 2023.

DARYUSH PURRAHMAN et al. Association of human papillomavirus with breast cancer: a new perspective on an old debate. **Future Oncology**, v. 18, n. 22, p. 2483–2494, 1 jul. 2022.

DE MACÊDO ANDRADE, A. C. et al. Molecular breast cancer subtypes and therapies in a public hospital of Northeastern Brazil. **BMC Women s Health**, v. 14, n. 1, 12 set. 2014.

DE SCHEPPER, M. et al. Integration of Pathological Criteria and Immunohistochemical Evaluation for Invasive Lobular Carcinoma Diagnosis: Recommendations From the European Lobular Breast Cancer Consortium. **Modern Pathology**, v. 37, n. 7, p. 100497, jul. 2024.

DE VILLIERS, E.-M. et al. Classification of papillomaviruses. **Virology**, v. 324, n. 1, p. 17–27, jun. 2004.

DELLA FERA, A. N. et al. Persistent Human Papillomavirus Infection. **Viruses**, v. 13, n. 2, p. 321, 20 fev. 2021.

DEMIR, S. et al. Clinicopathological analysis of invasive cribriform carcinoma of the breast, with review of the literature. **Annals of Diagnostic Pathology**, v. 54, p. 151794–151794, 24 jul. 2021.

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.

DONG, C. et al. Activation of PI3K/AKT/mTOR Pathway Causes Drug Resistance in Breast Cancer. **Frontiers in Pharmacology**, v. 12, 15 mar. 2021.

DONG, W. et al. Virus-induced host genomic remodeling dysregulates gene expression, triggering tumorigenesis. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, v. 14, 20 mar. 2024.

DOORBAR, J. The E4 protein; structure, function and patterns of expression. **Virology**, v. 445, n. 1-2, p. 80–98, out. 2013.

EGAWA, N. Papillomaviruses and cancer: commonalities and differences in HPV carcinogenesis at different sites of the body. **International Journal of Clinical Oncology**, v. 28, n. 8, p. 956–964, 18 maio 2023.

EKSTRÖM, J. et al. Diversity of human papillomaviruses in skin lesions. **Virology**, v. 447, n. 1-2, p. 300–311, dez. 2013.

ELASIFER, H. et al. The role of circulating viral and tumour DNA in the diagnosis and management of HPV associated anogenital cancers, a systematic review and meta-analysis. **Journal of Clinical Virology**, v. 164, p. 105469–105469, 25 abr. 2023.

FAKHRI, N. et al. Risk factors for breast cancer in women: an update review. **Medical Oncology**, v. 39, n. 12, 7 set. 2022.

FAVRE, M.; RAMOZ, N.; ORTH, G. Human papillomaviruses: General features. **Clinics in Dermatology**, v. 15, n. 2, p. 181–198, mar. 1997.

FEDOROVA, O. et al. The Role of PTEN in Epithelial–Mesenchymal Transition. **Cancers**, v. 14, n. 15, p. 3786, 3 ago. 2022.

FERLAY, J. et al. Global Cancer Observatory: Cancer Today (version 1.1). Lyon, France: **International Agency for Research on Cancer**. 2024. Available from: <https://gco.iarc.who.int/today>

FERNANDES, J. V. et al. Human Papillomavirus (HPV): Biology and Pathogenesis. **Revista Brasileira de Cancerologia**, v. 59, n. 2, p. 175–183, 2013.

FIROOZINIA, M. et al. PIK3CA Gene Amplification and PI3K p110 α Protein Expression in Breast Carcinoma. **International Journal of Medical Sciences**, v. 11, n. 6, p. 620–625, 2014.

FLETCHER, S.; BISWAS-FISS, E. E.; BISWAS, S. B. Structural and functional roles of conserved residues of human papillomavirus (HPV) E2 protein and biological consequences. **Virology Journal**, v. 22, n. 1, 13 ago. 2025.

FRANÇOIS-MARTIN HÉLÈNE et al. Long-Term Results with Everolimus in Advanced Hormone Receptor Positive Breast Cancer in a Multicenter National Real-World Observational Study. **Cancers**, v. 15, n. 4, p. 1191–1191, 13 fev. 2023.

FREGA, A. et al. Evaluation of E6 and E7 mRNA expression in HPV DNA positive breast cancer. **PubMed**, v. 33, n. 2, p. 164–7, 1 jan. 2012.

FU, W.; HALL, M. N. Regulation of mTORC2 Signaling. **Genes**, v. 11, n. 9, 4 set. 2020.

GABA, F. et al. Breast Cancer Risk and Breast-Cancer-Specific Mortality following Risk-Reducing Salpingo-Oophorectomy in BRCA Carriers: A Systematic Review and Meta-Analysis. v. 15, n. 5, p. 1625–1625, 6 mar. 2023.

GANESAN, K. et al. Ononin inhibits triple-negative breast cancer lung metastasis by targeting the EGFR-mediated PI3K/Akt/mTOR pathway. **Science China Life Sciences**, v. 67, n. 9, p. 1849–1866, 17 jun. 2024.

GAO, J. J.; SWAIN, S. M. Luminal A Breast Cancer and Molecular Assays: A Review. **The Oncologist**, v. 23, n. 5, p. 556–565, 1 maio 2018.

GARCEA, R. L.; CHEN, X. Papillomavirus Structure and Assembly. **The Papillomaviruses**, p. 69–88, 2007.

GARG, P. et al. Strategic advancements in targeting the PI3K/AKT/mTOR pathway for Breast cancer therapy. **Biochemical Pharmacology**, v. 236, p. 116850, 4 mar. 2025.

GAROLLA A et al. HPV-related diseases in male patients: an underestimated conundrum. **Journal of endocrinological investigation**, v. 47, n. 2, p. 261–274, 28 set. 2023.

GILIOLI, G. et al. Genomic Variants and Worldwide Epidemiology of Breast Cancer: A Genome-Wide Association Studies Correlation Analysis. **Genes**, v. 15, n. 2, p. 145–145, 23 jan. 2024.

GLAVIANO, A. et al. PI3K/AKT/mTOR signaling transduction pathway and targeted therapies in cancer. **Molecular Cancer**, v. 22, n. 1, 18 ago. 2023.

GOURDOUPI CHRISAVGI et al. From Structure to Function: The Impact of EGFR and IGF-IR in 3D Breast Cancer Spheroids. **Cancers**, v. 17, n. 16, p. 2606–2606, 8 ago. 2025.

GUIMARÃES, Júlia. Informações epidemiológicas de câncer de mama na região sudeste do Brasil: uma revisão entre 2020 e 2023. **Multi-Science Research**, v. 8, n. 1, 2025.

HALL, M. N. mTOR-what does it do? **Transplantation proceedings**, v. 40, n. 10 Suppl, p. S5-8, 2008.

HAO, C. et al. PI3K/AKT/mTOR inhibitors for hormone receptor-positive advanced breast cancer. **Cancer Treatment Reviews**, p. 102861–102861, 1 nov. 2024.

HARE, S. H.; HARVEY, A. J. mTOR function and therapeutic targeting in breast cancer. **PubMed**, v. 7, n. 3, p. 383–404, 1 jan. 2017.

HASHMI, A. A. et al. Prognostic parameters of luminal A and luminal B intrinsic breast cancer subtypes of Pakistani patients. **World Journal of Surgical Oncology**, v. 16, n. 1, 2 jan. 2018.

HASSAN, D. et al. AKT kinases as therapeutic targets. **Journal of Experimental & Clinical Cancer Research**, v. 43, n. 1, 29 nov. 2024.

HAUSEN, H. Z. Papillomaviruses Causing Cancer: Evasion From Host-Cell Control in Early Events in Carcinogenesis. **Journal of the National Cancer Institute**, v. 92, n. 9, p. 690–698, 3 maio 1996.

HERMIDA, M. A.; DINESH KUMAR, J.; LESLIE, N. R. GSK3 and its interactions with the PI3K/AKT/mTOR signalling network. **Advances in Biological Regulation**, v. 65, p. 5–15, ago. 2017.

HOŠNJAK, L. et al. The genetic diversity of human papillomavirus types from the species Gammapapillomavirus 15: HPV135, HPV146, and HPV179. **PLoS ONE**, v. 16, n. 5, p. e0249829–e0249829, 6 maio 2021.

IGNATIADIS, M.; SOTIRIOU, C. Luminal breast cancer: from biology to treatment. **Nature Reviews Clinical Oncology**, v. 10, n. 9, p. 494–506, 1 set. 2013.

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

Instituto Nacional de Câncer (Brasil). Controle do câncer de mama no Brasil : dados e números : 2024 / Instituto Nacional de Câncer. – Rio de Janeiro : INCA, 2024. 69 p. : il. color. ISBN 978-65-88517-69-7 (versão eletrônica) 1. Neoplasias da mama. 2. Neoplasias - prevenção & controle. 3. Indicadores (Estatística). I. Título

IPPEN, F. M. et al. The Dual PI3K/mTOR Pathway Inhibitor GDC-0084 Achieves Antitumor Activity in *PIK3CA*-Mutant Breast Cancer Brain Metastases. v. 25, n. 11, p. 3374–3383, 1 jun. 2019.

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.

JAE HYEON PARK et al. Factors associated with sedentary behavior among community-dwelling breast cancer survivors aged 50 years or older. **Scientific reports**, v. 14, n. 1, 21 mar. 2024.

JAIN, M. et al. Epidemiology, Molecular Pathogenesis, Immuno-Pathogenesis, Immune Escape Mechanisms and Vaccine Evaluation for HPV-Associated Carcinogenesis. **Pathogens**, v. 12, n. 12, p. 1380–1380, 23 nov. 2023.

JEAN, S.; KIGER, A. A. Classes of phosphoinositide 3-kinases at a glance. **Journal of Cell Science**, v. 127, n. 5, p. 923–928, 27 fev. 2014.

JIA, R.; BONIFACINO, J. S. Lysosome Positioning Influences mTORC2 and AKT Signaling. **Molecular Cell**, maio 2019.

JIANG, M. et al. PI3K/AKT/mTOR Axis in Cancer: From Pathogenesis to Treatment. **MedComm**, v. 6, n. 8, 30 jul. 2025.

JIANG, N. et al. Role of PI3K/AKT pathway in cancer: the framework of malignant behavior. **Molecular Biology Reports**, v. 47, n. 6, p. 4587–4629, 24 abr. 2020.

JONES, R. N. Computational and AI-driven 3D structural analysis of human papillomavirus (HPV) oncoproteins E5, E6, and E7 reveal significant divergence of HPV E5 between low-risk and high-risk genotypes. **Virology**, v. 590, p. 109946, 1 fev. 2024.

JOUNG, J.-G.; JUNE O, S.; ZHANG, B.-T. Protein sequence-based risk classification for human papillomaviruses. **Computers in Biology and Medicine**, v. 36, n. 6, p. 656–667, jun. 2006.

KAMOLRATANAKUL, S.; PITISUTTITHUM, P. Human Papillomavirus Vaccine Efficacy and Effectiveness against Cancer. **Vaccines**, v. 9, n. 12, p. 1413, 30 nov. 2021.

KASITINON, S. Y. et al. TRPML1 Promotes Protein Homeostasis in Melanoma Cells by Negatively Regulating MAPK and mTORC1 Signaling. v. 28, n. 9, p. 2293-2305.e9, 27 ago. 2019.

KHASAWNEH, A. I. et al. Association of Human Papilloma Virus, Cytomegalovirus, and Epstein–Barr Virus with Breast Cancer in Jordanian Women. **Medicina**, v. 60, n. 5, p. 699, 25 abr. 2024.

KIM, J. et al. Global patterns and trends in breast cancer incidence and mortality across 185 countries. **Nature Medicine**, v. 31, n. 4, 24 fev. 2025.

KOISHYBAYEVA, D. et al. The oncogenic role of human papillomavirus in breast cancer: a comprehensive systematic review and meta-analysis. **Frontiers in Microbiology**, v. 16, 14 nov. 2025.

KONG, X. et al. Mammaglobin, GATA-binding protein 3 (GATA3), and epithelial growth factor receptor (EGFR) expression in different breast cancer subtypes and their clinical significance. **European Journal of Histochemistry**, v. 66, n. 2, 7 abr. 2022.

KONSTANZE SCHICHL; DOORBAR, J. Regulation and Deregulation of Viral Gene Expression During High-Risk HPV Infection. **Viruses**, v. 17, n. 7, p. 937–937, 30 jun. 2025.

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

KUMAR, B. H.; KABEKKODU, S. P.; PAI, K. S. R. Structural insights of AKT and its activation mechanism for drug development. **Molecular Diversity**, 26 fev. 2025.

LAWSON, J. S.; SALMONS, B.; GLENN, W. K. Oncogenic Viruses and Breast Cancer: Mouse Mammary Tumor Virus (MMTV), Bovine Leukemia Virus (BLV), Human Papilloma Virus (HPV), and Epstein–Barr Virus (EBV). **Frontiers in Oncology**, v. 8, 22 jan. 2018.

LAWSON, James S.; GLENN, Wendy K. Catching viral breast cancer. *Infectious agents and cancer*, v. 16, n. 1, p. 37, 2021.

LEÃO, Stephanie Loureiro *et al.* The differential expression of the JAK/STAT pathway in breast cancer cells transfected with human Papillomavirus oncogenes. *Viruses*, v. 17, n. 7, p. 880, 2025.

LEE, S. *et al.* mRNA-HPV Therapeutic Vaccine Encoding E6 and E7 Improves Therapeutic Potential in HPV-mediated Cancer. **The Journal of Immunology**, v. 210, n. Supplement_1, p. 245.19–245.19, 1 maio 2023.

LI, C. I. Trends in Incidence Rates of Invasive Lobular and Ductal Breast Carcinoma. **JAMA**, v. 289, n. 11, p. 1421, 19 mar. 2003.

LI, E.; HRISTOVA, K. Role of Receptor Tyrosine Kinase Transmembrane Domains in Cell Signaling and Human Pathologies†. **Biochemistry**, v. 45, n. 20, p. 6241–6251, maio 2006.

LI, J.; LI, S. From Viral Infection to Genome Reshaping: The Triggering Role of HPV Integration in Cervical Cancer. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 26, n. 18, p. 9214–9214, 21 set. 2025.

LI, Y. *et al.* Recent advances in therapeutic strategies for triple-negative breast cancer. **Journal of Hematology & Oncology**, v. 15, n. 1, 29 ago. 2022.

LI, Z. *et al.* Luminal B breast cancer: patterns of recurrence and clinical outcome. **Oncotarget**, v. 7, n. 40, p. 65024–65033, 17 ago. 2016.

LIAO, L. Inequality in breast cancer: Global statistics from 2022 to 2050. **The Breast**, v. 79, p. 103851, fev. 2025.

LIU, J. *et al.* PI3K/Akt/HIF-1 α signaling pathway mediates HPV-16 oncoprotein-induced expression of EMT-related transcription factors in non-small cell lung cancer cells. **Journal of Cancer**, v. 9, n. 19, p. 3456–3466, 2018a.

LIU, X. *et al.* PI3K in cancer: its structure, activation modes and role in shaping tumor microenvironment. **Future oncology (London, England)**, v. 14, n. 7, p. 665–674, mar. 2018b.

LOIBL, S. *et al.* Early breast cancer: ESMO Clinical Practice Guideline for diagnosis, treatment and follow-up†. **Annals of Oncology**, v. 35, n. 2, 1 dez. 2023.

LUBOFF, A. J.; DEREMER, D. L. Capivasertib: A Novel AKT Inhibitor Approved for Hormone-Receptor-Positive, HER-2-Negative Metastatic Breast Cancer. **Annals of pharmacotherapy/ The ænnals of pharmacotherapy**, 2 abr. 2024.

ŁUKASIEWICZ, S. *et al.* Breast cancer—epidemiology, Risk factors, classification, Prognostic markers, and Current Treatment Strategies—an Updated Review. **Cancers**, v. 13, n. 17, p. 4287, 2021.

MAENNLING, A. E. *et al.* Molecular Targeting Therapy against EGFR Family in Breast Cancer: Progress and Future Potentials. **Cancers**, v. 11, n. 12, 20 nov. 2019.

MANNING, B. D.; TOKER, A. AKT/PKB Signaling: Navigating the Network. **Cell**, v. 169, n. 3, p. 381–405, abr. 2017.

MANOLIS, I. Prognostic factors of Invasive Ductal Breast Carcinoma Non Special Type (NST). A Study of 98 cases. *Review Clin. Pharmacol. Pharmacokinet*, v. 37, p. 53–62, 2023.

MARTORANA, F. et al. AKT Inhibitors: New Weapons in the Fight Against Breast Cancer? **Frontiers in Pharmacology**, v. 12, 29 abr. 2021.

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 malignancies associated with persistent HPV infection. **The Oncologist**, v. 29, n. 6, p. 457–464, 17 abr. 2024.

MENON, S. et al. Spatial Control of the TSC Complex Integrates Insulin and Nutrient Regulation of mTORC1 at the Lysosome. **Cell**, v. 156, n. 4, p. 771–785, fev. 2014.

MERCOGLIANO, M. F. et al. Emerging Targeted Therapies for HER2-Positive Breast Cancer. **Cancers**, v. 15, n. 7, p. 1987, 26 mar. 2023.

MIRICESCU, D. et al. PI3K/AKT/mTOR Signaling Pathway in Breast Cancer: From Molecular Landscape to Clinical Aspects. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n. 1, p. 173, 26 dez. 2020.

MIURA, S. et al. CD1d, a sentinel molecule bridging innate and adaptive immunity, is downregulated by the human papillomavirus (HPV) E5 protein: a possible mechanism for immune evasion by HPV. **Journal of Virology**, v. 84, n. 22, p. 11614–11623, 1 nov. 2010.

MLYNARCZYK-BONIKOWSKA, B.; RUDNICKA, L. HPV Infections—Classification, Pathogenesis, and Potential New Therapies. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 25, n. 14, p. 7616–7616, 11 jul. 2024.

MOLINA, M. A. et al. HPV integration and cervical cancer: a failed evolutionary viral trait. **Trends in Molecular Medicine**, v. 30, n. 9, 9 jun. 2024.

MORSHED, K. et al. Human Papillomavirus (HPV) – Structure, epidemiology and pathogenesis. **Otolaryngologia Polska**, v. 68, n. 5, p. 213–219, set. 2014.

MOUABBI, J. A. et al. Invasive lobular carcinoma: an understudied emergent subtype of breast cancer. **Breast Cancer Research and Treatment**, v. 193, n. 2, p. 253–264, 26 mar. 2022.

MULATI, S. et al. Targeting RPS16 with cinnamaldehyde to suppress cervical cancer: inhibition of the PI3K/AKT pathway and degradation of HPV E6 and E7 proteins. **Biochemical Pharmacology**, v. 242, p. 117225, dez. 2025.

MULLER, M. The HPV E2-Host Protein-Protein Interactions: A Complex Hijacking of the Cellular Network. **The Open Virology Journal**, v. 6, n. 1, p. 173–189, 28 dez. 2012.

MUÑOZ, N. et al. Epidemiologic Classification of Human Papillomavirus Types Associated with Cervical Cancer. **New England Journal of Medicine**, v. 348, n. 6, p. 518–527, 6 fev. 2003.

MUSTAFA OZDOGAN et al. Molecular Insights into HPV-Driven Head and Neck Cancers: From Viral Oncoproteins to Precision Therapeutics. **Viruses**, v. 17, n. 9, p. 1276–1276, 20 set. 2025.

NANTEL, É. et al. Association between the Mode of Delivery and Vertical Transmission of Human Papillomavirus. **Viruses**, v. 16, n. 2, p. 303, 1 fev. 2024.

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.

NOOROLYAI, S. et al. The relation between PI3K/AKT signalling pathway and cancer. **Gene**, v. 698, p. 120–128, maio 2019.

OBEAGU, E. I.; OBEAGU, G. U. Breast cancer: A review of risk factors and diagnosis. **Medicine**, v. 103, n. 3, 19 jan. 2024.

O'CONNOR, M. et al. Transcription Factor Binding Sites in the Long Control Region of Genital HPVs. 1995

OYERVIDES-MUÑOZ, M. A. et al. Understanding the HPV integration and its progression to cervical cancer. **Infection, Genetics and Evolution**, v. 61, p. 134–144, jul. 2018.

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.

PANWAR, V. et al. Multifaceted role of mTOR (mammalian target of rapamycin) signaling pathway in human health and disease. **Signal Transduction and Targeted Therapy**, v. 8, n. 1, p. 1–25, 2 out. 2023.

PARK, H. S. et al. High EGFR gene copy number predicts poor outcome in triple-negative breast cancer. **Modern Pathology**, v. 27, n. 9, p. 1212–1222, 1 set. 2014.

PARK, J.-Y. et al. Inhibition of the PI3K-AKT-mTOR pathway suppresses the adipocyte-mediated proliferation and migration of breast cancer cells. **Journal of Cancer**, v. 11, n. 9, p. 2552–2559, 2020.

PARK, S.-B.; HWANG, S.; ZHANG, B.-T. Classification of the Risk Types of Human Papillomavirus by Decision Trees. **Lecture Notes in Computer Science**, p. 540–544, 2003.

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

PETCA, A. et al. Non-sexual HPV transmission and role of vaccination for a better future (Review). **Experimental and Therapeutic Medicine**, v. 20, n. 6, p. 1–1, 13 out. 2020.

PORTER, S. S. et al. Histone Modifications in Papillomavirus Virion Minichromosomes. **mBio**, v. 12, n. 1, 16 fev. 2021.

PRVANOVIĆ, M. et al. Role of PTEN, PI3K, and mTOR in Triple-Negative Breast Cancer. **Life**, v. 11, n. 11, p. 1247, 17 nov. 2021.

RAJ-KUMAR, P.-K. et al. PCA-PAM50 improves consistency between breast cancer intrinsic and clinical subtyping reclassifying a subset of luminal A tumors as luminal B. **Scientific Reports**, v. 9, n. 1, p. 7956, 28 maio 2019.

RAKHA, E. A.; TSE, G. M.; QUINN, C. M. An update on the pathological classification of breast cancer. **Histopathology**, v. 82, n. 1, p. 5–16, 1 jan. 2023.

REGAD, T. Targeting RTK Signaling Pathways in Cancer. **Cancers**, v. 7, n. 3, p. 1758–1784, 3 set. 2015.

REN, C. et al. Human papillomavirus infection increases the risk of breast carcinoma: a large-scale systemic review and meta-analysis of case-control studies. v. 8, n. 5, p. :486-500, 1 out. 2019.

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.

REUSCHENBACH, M. et al. Prophylactic HPV vaccines in patients with HPV-associated diseases and cancer. **Vaccine**, v. 41, n. 42, p. 6194–6205, 6 out. 2023.

RINTELEN, F. et al. PDK1 regulates growth through Akt and S6K in *Drosophila*. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 98, n. 26, p. 15020–15025, 18 dez. 2001.

ROSSETTI, S. et al. Gedatolisib shows superior potency and efficacy versus single-node PI3K/AKT/mTOR inhibitors in breast cancer models. **npj Breast Cancer**, v. 10, n. 1, 5 jun. 2024.

ROZENBERG, S. et al. Menopausal hormone therapy and breast cancer risk. **Best Practice & Research. Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 35, n. 6, p. 101577, 1 dez. 2021.

SABEENA, S. et al. Possible non-sexual modes of transmission of human papilloma virus. **Journal of Obstetrics and Gynaecology Research**, v. 43, n. 3, p. 429–435, 6 fev. 2017.

SALMAN, G. et al. Investigating the clinical significance of EGFR expression using machine learning in a series of Iraqi patients with triple-negative breast cancer. **Journal of Medicine and Life**, v. 15, n. 8, p. 967–978, ago. 2022.

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.

SANTI, S. A.; LEE, H. The Akt isoforms are present at distinct subcellular locations. **American journal of physiology. Cell physiology**, v. 298, n. 3, p. C580-91, mar. 2010.

SANTOS, V. E. et al. E5 Oncoprotein: A Key Player in Human Papillomavirus-Positive Head and Neck Cancer Pathogenesis and Therapy Resistance. **Viruses**, v. 17, n. 4, p. 512–512, 1 abr. 2025.

SANTOSH KUMAR RAUNIYAR et al. Projection of morbidity and mortality due to breast cancer between 2020 and 2050 across 42 low- and middle-income countries. **Heliyon**, v. 9, n. 6, p. e16427–e16427, 20 maio 2023.

SAXTON, R. A.; SABATINI, D. M. mTOR Signaling in Growth, Metabolism, and Disease. **Cell**, v. 169, n. 2, p. 361–371, abr. 2017.

SCALA, M. et al. DOSE-RESPONSE RELATIONSHIPS BETWEEN CIGARETTE SMOKING AND BREAST CANCER RISK: A SYSTEMATIC REVIEW AND META-ANALYSIS. **Journal of Epidemiology**, 2023.

SEGONDY, M. Classification des papillomavirus (HPV). **Revue Francophone des Laboratoires**, v. 2008, n. 405, p. 23–25, 24 nov. 2008.

SHIRLEY, M. Capivasertib: First Approval. **Drugs**, 23 fev. 2024.

SIAS, C. et al. Alpha, Beta, gamma human PapillomaViruses (HPV) detection with a different sets of primers in oropharyngeal swabs, anal and cervical samples. **Virology Journal**, v. 16, n. 1, p. 27, 4 mar. 2019.

SICHERO, L. et al. Beta Human Papillomavirus and Associated Diseases. **Acta Cytologica**, v. 63, n. 2, p. 100–108, 1 jan. 2019.

SILVA, G. R. et al. Tendência da taxa de mortalidade por câncer de mama em mulheres com 20 anos ou mais no Brasil, 2005-2019. **Ciencia & Saude Coletiva**, v. 29, n. 3, 1 jan. 2024.

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.

SLODKOWSKA, E. A.; ROSS, J. S. MammaPrint™ 70-gene signature: another milestone in personalized medical care for breast cancer patients. **Expert Review of Molecular Diagnostics**, v. 9, n. 5, p. 417–422, jul. 2009.

SMITH, E. M. et al. Evidence for Vertical Transmission of HPV from Mothers to Infants. **Infectious Diseases in Obstetrics and Gynecology**, v. 2010, p. 1–7, 2010.

SONG, M. S.; SALMENA, L.; PANDOLFI, P. P. The functions and regulation of the PTEN tumour suppressor. **Nature Reviews Molecular Cell Biology**, v. 13, n. 5, p. 283–296, 4 abr. 2012.

SONG, S. S.; KANG, S.; PARK, S. Association of Estrogen-Related Polygenetic Risk Scores with Breast Cancer and Interactions with Alcohol Intake, Early Menarche, and

Nulligravida. **Asian Pacific Journal of Cancer Prevention**, v. 23, n. 1, p. 13–24, 1 jan. 2022.

SPANGLE, J. M.; MUNGER, K. The Human Papillomavirus Type 16 E6 Oncoprotein Activates mTORC1 Signaling and Increases Protein Synthesis. **Journal of Virology**, v. 84, n. 18, p. 9398–9407, 14 jul. 2010.

STAREK-ŚWIECHOWICZ, B.; BUDZISZEWSKA, B.; STAREK, A. Alcohol and breast cancer. **Pharmacological Reports**, v. 75, 30 out. 2022.

SUN, J. et al. Unveiling the Association between HPV and Pan-Cancers: A Bidirectional Two-Sample Mendelian Randomization Study. **Cancers**, v. 15, n. 21, p. 5147–5147, 26 out. 2023.

TABERNA, M. et al. The Use of HPV16-E5, EGFR, and pEGFR as Prognostic Biomarkers for Oropharyngeal Cancer Patients. **Frontiers in Oncology**, v. 8, 11 dez. 2018.

THIGPEN, J. T. Everolimus in Postmenopausal Hormone-Receptor-Positive Advanced Breast Cancer. **Yearbook of Oncology**, v. 2012, p. 74–75, jan. 2012.

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.

VAN DOORSLAER, K. et al. Novel recombinant papillomavirus genomes expressing selectable genes. **Scientific Reports**, v. 6, n. 1, 28 nov. 2016.

VANHAESEBROECK, B. et al. The emerging mechanisms of isoform-specific PI3K signalling. **Nature Reviews Molecular Cell Biology**, v. 11, n. 5, p. 329–341, 1 maio 2010.

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.

VIEIRA, René Aloisio da Costa; FORMENTON, Alessandro; BERTOLINI, Silvia Regina. Breast cancer screening in Brazil. Barriers related to the health system. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 63, n. 5, p. 466-474, 2017.

VIOLANTE DI DONATO et al. HPV Vaccination after Primary Treatment of HPV-Related Disease across Different Organ Sites: A Multidisciplinary Comprehensive Review and Meta-Analysis. v. 10, n. 2, p. 239–239, 4 fev. 2022.

WALLACE, N. A. et al. High-Risk Alphapapillomavirus Oncogenes Impair the Homologous Recombination Pathway. **Journal of Virology**, v. 91, n. 20, 2 ago. 2017.

WANG, M. et al. HPV E7-mediated NCAPH ectopic expression regulates the carcinogenesis of cervical carcinoma via PI3K/AKT/SGK pathway. **Cell Death & Disease**, v. 11, n. 12, 11 dez. 2020.

WANG, S. et al. Invasive papillary carcinoma of the breast: A case report. **Oncology Letters**, v. 28, n. 1, p. 300–300, 2 maio 2024.

WANG, X. et al. EGFR is a master switch between immunosuppressive and immunoactive tumor microenvironment in inflammatory breast cancer. **Science Advances**, v. 8, n. 50, 16 dez. 2022.

WEI, F. et al. Causal attribution of human papillomavirus genotypes to invasive cervical cancer worldwide: a systematic analysis of the global literature. **The Lancet**, v. 404, n. 10451, p. 435–444, ago. 2024.

WIMMER, I. et al. Systematic evaluation of RNA quality, microarray data reliability and pathway analysis in fresh, fresh frozen and formalin-fixed paraffin-embedded tissue samples. **Scientific Reports**, v. 8, n. 1, 20 abr. 2018.

WU, G. et al. Somatic mutation and gain of copy number of PIK3CA in human breast cancer. **Breast Cancer Research**, v. 7, n. 5, 31 maio 2005.

XIAO, W. et al. Mutational Landscape of PI3K-AKT-mTOR Pathway in Breast Cancer: Implications for Targeted Therapeutics. **Journal of Cancer**, v. 12, n. 14, p. 4408–4417, 2021.

XIONG, X. et al. Breast cancer: pathogenesis and treatments. **Signal Transduction and Targeted Therapy**, v. 10, n. 1, 19 fev. 2025.

YADAV, R.; ZHAI, L.; TUMBAN, E. Virus-like Particle-Based L2 Vaccines against HPVs: Where Are We Today? **Viruses**, v. 12, n. 1, p. 18, 23 dez. 2019.

YAJID, A. I. et al. Potential Role of E4 Protein in Human Papillomavirus Screening: a Review. **Asian Pacific Journal of Cancer Prevention : APJCP**, v. 18, n. 2, p. 315–319, 2017.

YAN, Q.; DENG, Y.; ZHANG, Q. A comprehensive overview of metaplastic breast cancer: Features and treatments. **Cancer Science**, 12 maio 2024.

YUDUSHKIN, I. Getting the Akt Together: Guiding Intracellular Akt Activity by PI3K. **Biomolecules**, v. 9, n. 2, p. 67, 16 fev. 2019.

ZAGAMI, P.; CAREY, L. A. Triple negative breast cancer: Pitfalls and progress. **npj Breast Cancer**, v. 8, n. 1, 20 ago. 2022.

ZARDAVAS, D. et al. Tumor PIK3CA Genotype and Prognosis in Early-Stage Breast Cancer: A Pooled Analysis of Individual Patient Data. **Journal of Clinical Oncology**, v. 36, n. 10, p. 981–990, 1 abr. 2018.

ZHANG, M.; JANG, H.; NUSSINOV, R. The structural basis for Ras activation of PI3K α lipid kinase. **Physical Chemistry Chemical Physics**, v. 21, n. 22, p. 12021–12028, 2019.

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.

ZHANG, Y. et al. Global burden of female breast cancer: new estimates in 2022, temporal trend and future projections up to 2050 based on the latest release from GLOBOCAN. **Journal of the National Cancer Center**, 13 fev. 2025.

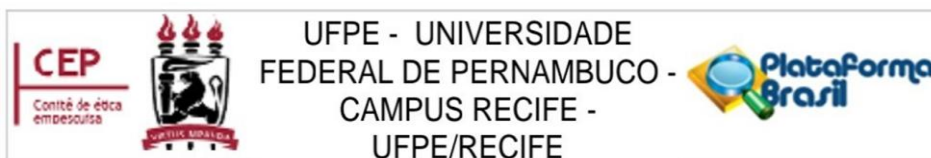
ZOURIDIS, A. et al. Intrauterine HPV transmission: a systematic review of the literature. **Archives of Gynecology and Obstetrics**, v. 298, n. 1, p. 35–44, 18 maio 2018.

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.

ANEXOS

ANEXO A

**Cópia do parecer do Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Seres Humanos
da UFPE**



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Investigação da presença de Papilomavírus humano em tecido mamário e sua relação com o câncer de mama.

Pesquisador: Sandra Maria Souza da Silva

Área Temática:

Versão: 5

CAAE: 40062720.0.0000.5208

Instituição Proponente: CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 4.964.691

Apresentação do Projeto:

O Projeto submetido ao presente Comitê de Ética refere-se à Tese de Doutorado da discente SANDRA MARIA SOUZA DA SILVA, vinculada ao Programa de Pós-graduação em Inovação Terapêutica da Universidade Federal de Pernambuco. O projeto é orientado pelo Prof. Dr. Antônio Carlos de Freitas e coorientado pelo Prof. Dr. Jacinto Costa da Silva Neto. A pesquisa é intitulada "INVESTIGAÇÃO DA PRESENÇA DO PAPILOMAVÍRUS HUMANO EM TECIDO MAMÁRIO E SUA RELAÇÃO COM O CÂNCER DE MAMA". Trata-se de um estudo de coorte transversal, do tipo caso-controle, a ser realizado com material parafinado de tecido mamário (peças cirúrgicas e biopsias) de mulheres atendidas em um hospital público universitário. A pesquisa será realizada na unidade de Anatomia Patológica do hospital das Clínicas da Universidade Federal de Pernambuco (HC/EBSERH/UFPE), através de análise dos laudos e dos blocos histológicos em parafina (um total de 140 amostras). No serviço de arquivo médico e estatística (SAME), será realizada a separação e consulta dos prontuários das pacientes com objetivo de agregar informações ao estudo. A testagem e análise do DNA viral do papilomavírus humano deverão ser realizadas no Laboratório de Estudos Moleculares e Terapia Experimental (LEMTE – UFPE). Será incluso um grupo controle de 20 indivíduos saudáveis que irão se submeter a cirurgias plásticas e/ou reparadora, por recomendação médica. Os dados coletados ficarão armazenados em pasta de arquivo sob a responsabilidade do pesquisador principal (Sandra Maria Souza da Silva) no endereço Av. Prof.

Endereço: Av. das Engenhas, s/n, 1º andar, sala 4 - Prédio do Centro de Ciências da Saúde

Bairro: Cidade Universitária

CEP: 50.740-600

UF: PE

Município: RECIFE

Telefone: (81)2126-8588

E-mail: cephumanos.ufpe@ufpe.br



Continuação do Parecer: 4.964.691

Moares

Rego, S/N, Cidade Universitária, CEP.:50.670-901, Recife-PE, pelo período de cinco anos.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário:

Investigar a presença do papilomavírus humano e sua relação com o câncer de mama.

Objetivo Secundário:

- Detectar e genotipar o HPVs em amostras tecido mamário de pacientes com alterações benignas e carcinoma mamário;
- Localizar o HPV no tecido mamário de pacientes com alterações benignas e carcinoma mamário;
- Identificar e localizar a produção das oncoproteínas E6 e E7 do HPV no tecido mamário de pacientes com alterações benignas e carcinoma mamário;
- Verificar a presença das proteínas p16, ER, HER2 e Ki-67 de tecido mamário de pacientes com alterações benignas e carcinoma mamário;
- Realizar um estudo de associação do tipo caso-controle entre os dados histopatológicos e a presença do DNA viral em tecido mamário;
- Identificar o impacto da presença do HPV no tratamento.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos:

A coleta de dados secundários: Os dados secundários das pacientes como; faixa etária, local de moradia, ocorrência de doença neoplásica anterior, serão consultado nos prontuários das devidas pacientes, pelo fato de normalmente estarem com informações mais completas que as solicitações de exames que são entregues na patologia para realização de laudo histológico. Práticas de consultas a prontuários de pacientes

podem ter riscos de extravio e manipulação indevida, requerendo cuidados como não transportá-los para fora do espaço destinado à consulta e cuidado ao manusear. Informamos a obediência às orientações do SAME, com intenção de minimização dos riscos. Coleta das amostras dos grupos (saudáveis e positivos para neoplasia) todo material selecionado para o estudo seguem os mesmos critérios. A separação de grupos positivos e controle só serão sinalizados após seleção e visualização de laudos histológicos das pacientes. A partir de então criar-se há, sem uso de manipulação ou intervenções grupos de pacientes com laudos positivos e negativos, a depender do resultado dos exames. Há um possível risco de extravio dos blocos de parafina, no entanto, esse deverá ser minimizado pelo fato de não haver deslocamento desses materiais para

Endereço: Av. das Engenhasria, s/n, 1º andar, sala 4 - Prédio do Centro de Ciências da Saúde

Bairro: Cidade Universitária

CEP: 50.740-600

UF: PE **Município:** RECIFE

Telefone: (81)2126-8588

E-mail: cephumanos.ufpe@ufpe.br



Continuação do Parecer: 4.964.691

realização do estudo. Quando necessário o deslocamento (coleta dos materiais para testagem de DNA viral), o conteúdo transferido para o laboratório de testagem será coletado conservado em eppendorfs e transferido para as testagens.

Benefícios:

Estudos sobre o envolvimento do HPV em câncer de mama têm grande importância para a área médica, porém até o momento, não existem dados relevantes no Brasil. Assim, o presente estudo deverá contribuir para identificação se há associação do câncer de mama com HPV, assim como o desenvolvimento de novas estratégias profiláticas e terapêuticas para o câncer de mama. Os resultados obtidos pelo projeto serão fornecidos ao setor de Patologia do Hospital das Clínicas/UFPE, para possível adequação dos resultados ao laudo histológico, visando levar benefícios diretos as pacientes.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

A pesquisa apresenta excelente referencial teórico, argumentação simples e linear, além de uma inquestionável relevância científica. A equipe de pesquisa ta bem composta.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

A documentação apresentada acha-se de acordo com as normas do CEP.

Recomendações:

Sem Recomendações.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Sem Pendências.

Considerações Finais a critério do CEP:

As exigências foram atendidas e o protocolo está APROVADO, sendo liberado para o início da coleta de dados. Informamos que a APROVAÇÃO DEFINITIVA do projeto só será dada após o envio do Relatório Final da pesquisa. O pesquisador deverá fazer o download do modelo de Relatório Final para enviá-lo via "Notificação", pela Plataforma Brasil. Siga as instruções do link "Para enviar Relatório Final", disponível no site do CEP/CCS/UFPE. Após apreciação desse relatório, o CEP emitirá novo Parecer Consubstanciado definitivo pelo sistema Plataforma Brasil.

Informamos, ainda, que o (a) pesquisador (a) deve desenvolver a pesquisa conforme delineada neste protocolo aprovado, exceto quando perceber risco ou dano não previsto ao voluntário participante (item V.3., da Resolução CNS/MS Nº 466/12).

Eventuais modificações nesta pesquisa devem ser solicitadas através de EMENDA ao projeto, identificando a parte do protocolo a ser modificada e suas justificativas.

Endereço: Av. das Engenhasria, s/n, 1º andar, sala 4 - Prédio do Centro de Ciências da Saúde
Bairro: Cidade Universitária **CEP:** 50.740-600
UF: PE **Município:** RECIFE
Telefone: (81)2126-8588 **E-mail:** cephumanos.ufpe@ufpe.br



Continuação do Parecer: 4.964.691

Para projetos com mais de um ano de execução, é obrigatório que o pesquisador responsável pelo Protocolo de Pesquisa apresente a este Comitê de Ética relatórios parciais das atividades desenvolvidas no período de 12 meses a contar da data de sua aprovação (item X.1.3.b., da Resolução CNS/MS Nº 466/12). O CEP/CCS/UFPE deve ser informado de todos os efeitos adversos ou fatos relevantes que alterem o curso normal do estudo (item V.5., da Resolução CNS/MS Nº 466/12). É papel do/a pesquisador/a assegurar todas as medidas imediatas e adequadas frente a evento adverso grave ocorrido (mesmo que tenha sido em outro centro) e ainda, enviar notificação à ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária, junto com seu posicionamento.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1602308.pdf	06/09/2021 07:11:34		Aceito
Outros	CARTA_RESPOSTA_PENDENCIAS.do cx	06/09/2021 07:11:07	Sandra Maria Souza da Silva	Aceito
Outros	ANUENCIA_ATUALIZADA.jpg	06/09/2021 07:08:51	Sandra Maria Souza da Silva	Aceito
Outros	Nova_carta_anuencia.pdf	15/06/2021 14:50:52	Sandra Maria Souza da Silva	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	PROJETO.docx	11/01/2021 20:10:04	Sandra Maria Souza da Silva	Aceito
Outros	ANUENCIA_CORRIGIDA.pdf	11/01/2021 13:45:49	Sandra Maria Souza da Silva	Aceito
Outros	Declaracao_vinculo.pdf	28/12/2020 15:00:14	Sandra Maria Souza da Silva	Aceito
Folha de Rosto	Folha_de_rosto.pdf	28/12/2020 12:00:32	Sandra Maria Souza da Silva	Aceito
Outros	lattes_Romildo.pdf	12/11/2020 20:53:44	Sandra Maria Souza da Silva	Aceito
Outros	lattes_Sandra.pdf	12/11/2020 20:52:19	Sandra Maria Souza da Silva	Aceito
Outros	lattes_jacinto.pdf	12/11/2020 20:51:06	Sandra Maria Souza da Silva	Aceito
Outros	lattes_antonio.pdf	12/11/2020 20:49:38	Sandra Maria Souza da Silva	Aceito
Outros	TCLE.pdf	12/11/2020	Sandra Maria Souza	Aceito

Endereço: Av. das Engenhasria, s/n, 1º andar, sala 4 - Prédio do Centro de Ciências da Saúde

Bairro: Cidade Universitária

CEP: 50.740-600

UF: PE

Município: RECIFE

Telefone: (81)2126-8588

E-mail: cephumanos.ufpe@ufpe.br



Continuação do Parecer: 4.964.691

Outros	TCLE.pdf	12:43:38	da Silva	Aceito
Outros	QUESTIONARIO.docx	12/11/2020 12:26:09	Sandra Maria Souza da Silva	Aceito
Outros	CONFIDENCIALIDADE.pdf	12/11/2020 12:21:49	Sandra Maria Souza da Silva	Aceito
Outros	DECLARACAO.pdf	12/11/2020 12:14:39	Sandra Maria Souza da Silva	Aceito
Outros	ANUENCIA_SAME.pdf	25/10/2020 10:04:36	Sandra Maria Souza da Silva	Aceito
Outros	ANUENCIA_PATOLOGIA.pdf	25/10/2020 09:56:39	Sandra Maria Souza da Silva	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

RECIFE, 11 de Setembro de 2021

Assinado por:
LUCIANO TAVARES MONTENEGRO
 (Coordenador(a))

Endereço: Av. das Engenhasria, s/n, 1º andar, sala 4 - Prédio do Centro de Ciências da Saúde
Bairro: Cidade Universitária **CEP:** 50.740-600
UF: PE **Município:** RECIFE
Telefone: (81)2126-8588 **E-mail:** cephumanos.ufpe@ufpe.br

ANEXO B

**Cópia do termo de outorga do projeto guarda-chuva que permite o
financiamento do presente projeto (MS-SECTICS-Decit/CNPq No16/2023 -
SAÚDE DE PRECISÃO/444156/2023-2023-2)**



1742802306091128

TERMO DE OUTORGA

Processo: 444156/2023-2

Vigência: início: 18/12/2023 fim: 31/12/2026

Título: Prospecção de biomarcadores a partir da expressão diferencial de genes de vias pró-inflamatórias e desenvolvimento de uma plataforma digital integrada para prognóstico e classificação de risco do câncer de mama em pacientes HPV-positivos

Instituição de Execução: Universidade Federal de Pernambuco

CNPJ: 24134488000108

Ação: Chamada nº 16/2023 - d) Recém-doutores: projetos de pesquisa coordenados por investigadores com até 5 (cinco) anos da obtenção do título de doutor, que contemplem a realização de pesquisas que se enquadrem em uma das linhas anteriores (linhas a, b e c)

Valor Global: R\$ 310.227,00

Custeio: R\$ 123.027,00

BOLSAS DE LONGA DURAÇÃO: R\$ 187.200,00

Modalidade: Desenvolvimento Tecnológico Industrial - DTI - A

Duração: 36 Meses

Quantidade: 1

O outorgado, Vanessa Emanuelle Pereira Santos, CPF número 007.472.301-45, sabedor de que a presente CONCESSÃO constitui aporte financeiro com encargos em prol do desenvolvimento científico, tecnológico e de inovação do País e, considerando a necessidade de prestar contas do dinheiro público utilizado, conforme legislação vigente, declara e se obriga a:

- a) dedicar-se às atividades pertinentes à proposta aprovada;
- b) conhecer, concordar e atender integralmente às exigências e às normas que regem a CONCESSÃO acima especificada;
- c) ter ciência de que o não cumprimento do pactuado ensejará o ressarcimento parcial ou integral ao CNPq do investimento realizado com a CONCESSÃO, atualizado monetariamente de acordo com a correção dos débitos para com a Fazenda Nacional, acrescido de juros, sob pena de ter seu nome inscrito no Cadastro Informativo de Créditos Não Quitados do Setor Público Federal - CADIN, de submeter-se a Processo Administrativo de Cobrança ou a Tomada de Contas Especial no Tribunal de Contas da União, à inscrição do débito decorrente na Dívida Ativa da União e eventual execução judicial;
- d) ter ciência de que o apoio financeiro poderá ser cancelado ou suspenso em caso de ausência de repasse financeiro de eventual parceiro responsável pelo aporte; e
- e) ter conhecimento de que a aceitação deste TERMO é feita sob pena da incidência nos artigos 297-299 do Código Penal Brasileiro sobre a falsificação de documento público e falsidade ideológica, respectivamente.

Anexo IB

CONDIÇÕES GERAIS PARA AUXÍLIOS

1. DA CONCESSÃO

1.1. Ao aceitar o apoio financeiro, o beneficiário declara formalmente:

- a) observar o disposto na legislação pertinente e nas normas do CNPq;

- b) conhecer o Acordo de Cooperação Técnica (colocar link para o respectivo acordo, se possível, ou ao modelo se não for possível!) firmado entre a instituição de execução do Projeto / Plano de Trabalho e o CNPq, publicado no Diário Oficial da União;
- c) possuir anuência formal da instituição de execução do Projeto / Plano de Trabalho, seja sob a forma de vínculo empregatício ou formal.
- d) dispor das autorizações especiais de caráter ético, legal ou logístico, nos casos em que sejam exigidas, devido às características do projeto;
- e) manter os documentos referidos nas alíneas *ic* e *id* em seu poder até cinco anos após a aprovação final das contas do CNPq, não sendo necessária sua remessa ao CNPq;
- f) estar ciente de que o prazo para utilização dos recursos financeiros começa a vigorar a partir da assinatura do Termo de Outorga e se encerra no término de sua vigência, devendo ser aplicados, tais recursos, exclusivamente para a execução da proposta aprovada;
- g) conhecer e respeitar as diretrizes da Comissão de Integridade na Atividade Científica do CNPq (http://www.cnpq.br/web/guest/view/-/journal_content/56_INSTANCE_0oED/10157/106200).

1.2. O beneficiário compromete-se, ainda, a:

- a) utilizar os recursos financeiros de acordo com os critérios e procedimentos estabelecidos no Manual de Utilização de Recursos Financeiros e Prestação de Contas (http://www.cnpq.br/web/guest/view/-/journal_content/56_INSTANCE_0oED/10157/6122070);
- b) utilizar os recursos financeiros estritamente para o cumprimento do objeto do Projeto/ Plano de Trabalho e exclusivamente com itens financiáveis estabelecidos nas normas do CNPq, na Ação ou no instrumento jurídico de parceria que a ampare;
- c) assumir todas as obrigações legais decorrentes de contratações eventuais necessárias à consecução do objeto, eximindo o CNPq de qualquer responsabilidade que possa advir de tais contratações;
- d) apresentar, nos prazos que lhe forem determinados, informações ou documentos referentes tanto ao desenvolvimento quanto à conclusão do Projeto / Plano de Trabalho aprovado;
- e) propor alterações ao Projeto / Plano de Trabalho para prévia análise e deliberação do CNPq e de entidade co-financiadora, quando for o caso, desde que não se altere o objeto do Projeto;
- f) permitir e facilitar ao CNPq o acesso aos locais de execução do projeto para monitoramento e avaliação;
- g) apresentar relatórios parciais de execução do objeto do Projeto / Plano de Trabalho, para o monitoramento e a avaliação, a cada 12 (doze) meses, via plataforma eletrônica do CNPq;
- h) apresentar o Relatório de Execução do Objeto *REO* do Projeto / Plano de Trabalho, bem como o comprovante de devolução de eventual saldo remanescente, em até 60 (sessenta) dias após o término da vigência do processo, via plataforma eletrônica do CNPq, sob pena de instauração de processo administrativo de cobrança;
- i) apresentar Relatório de Execução Financeira, quando exigido pelo CNPq, conforme disposto no Manual de Utilização de Recursos e Prestação de Contas;
- j) solicitar autorização formal ao CNPq quando pretender remanejar recursos de capital para custeio, e vice-versa, em percentual superior a 20% do valor total do Projeto; e
- k) solicitar prorrogação do projeto, quando necessário, via plataforma eletrônica do CNPq, no prazo mínimo de 30 (trinta) dias antes do término da vigência, acompanhada da devida justificativa.

2. DA PROPRIEDADE INTELECTUAL / CRIAÇÃO PROTEGIDA

Caso o projeto possa resultar em produto, processo ou serviço passível de proteção da Propriedade Intelectual ou que venha a ter valor comercial, a troca de informações e a reserva dos direitos, em cada caso, se darão de acordo com o estabelecido nas legislações específicas nacionais e internacionais, bem como nas normas internas do CNPq sobre propriedade intelectual.

3. DAS PUBLICAÇÕES E DIVULGAÇÃO

3.1. Trabalhos publicados e a divulgação, sob qualquer forma de comunicação ou por qualquer veículo, de resultados obtidos com recursos do Projeto / Plano de Trabalho, deverão, obrigatoriamente, no idioma da divulgação, fazer menção expressa ao apoio recebido do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico *CNPq* *Brasil*, bem como mencionar quaisquer outras entidades/órgãos financiadores, especialmente aqueles que participaram no apoio do Projeto / Plano de Trabalho em conjunto com o CNPq.

3.2. Material de divulgação de eventos, publicações em geral e a publicidade relativa a eles, e de trabalhos e atividades apoiadas ou financiadas pelo CNPq, deverão trazer a logomarca deste em lugar visível, de fácil identificação em escala e tamanho proporcionais à área de leitura. Esclarecimentos a respeito e os padrões a observar devem ser objeto de consulta prévia junto à área de comunicação social do CNPq (comunicacao@cnpq.br).

3.2.1. Os itens anteriormente relacionados, bem como a publicidade relativa a eles, deverão trazer a logomarca de outras entidades/órgãos financiadores, em lugar visível, de fácil identificação, e em escala e tamanho proporcionais à área de leitura.

4. DA DESISTÊNCIA, DA SUSPENSÃO E DO CANCELAMENTO DO BENEFÍCIO

4.1. O beneficiário deverá comunicar, via plataforma eletrônica do CNPq, a desistência do projeto acompanhada da devida justificativa.

4.1.1. No prazo de 60 (sessenta) dias da comunicação da desistência, deverão ser apresentados o relatório de execução do objeto do Projeto / Plano de Trabalho e o relatório de execução financeira, como também deverá ser devolvido ao CNPq eventual saldo financeiro.

4.1.2. A não observância do disposto no item 4.1.1 implicará a devolução do valor devidamente atualizado monetariamente, acrescido de juros, na forma da legislação aplicável aos débitos da Fazenda Nacional.

4.2. A liberação dos recursos do apoio financeiro ao projeto será suspensa quando ocorrer uma ou mais das seguintes irregularidades, constatada(s) por procedimentos de monitoramento e controle realizados pelo CNPq, Ministério da Ciência, Tecnologia, Inovações e Comunicações e MCTIC, Ministério da Transparência e Controladoria-Geral da União e CGU ou Tribunal de Contas da União e TCU:

- a) não comprovação da utilização adequada de parcela anteriormente recebida, na forma da legislação pertinente, quando solicitada;
- b) verificação de desvio de finalidade na utilização dos recursos ou dos bens patrimoniais gerados ou adquiridos no projeto;
- c) atrasos não justificados no cumprimento das etapas do Projeto/Plano de Trabalho; e
- d) quando for descumprida qualquer condição deste instrumento.

4.2.1. A(s) irregularidade(s) verificada(s) deverá(ão) ser corrigida(s) no prazo fixado pelo CNPq.

4.3. Ao término do prazo fixado, mantida uma ou mais irregularidades previstas no item 4.2 o auxílio será cancelado, aplicando-se, no que couber, o disposto nos itens 4.1.1 e 4.1.2.

4.4. Cancelada a concessão do auxílio o beneficiário será considerado inadimplente, terá suspenso o pagamento de todas as concessões vigentes e não poderá concorrer a novas modalidades de apoio financeiro até a regularização de sua situação perante o CNPq, sem prejuízo de outras medidas cabíveis.

4.4.1. O cancelamento do auxílio com fundamento no item 4.3 obrigará o BENEFICIÁRIO a ressarcir integralmente o CNPq de todas as despesas realizadas, atualizadas e acrescidas de juros nos termos da legislação.

5. DAS DISPOSIÇÕES FINAIS

5.1. As propostas financiadas com recursos de outras fontes obrigam, ainda, à observância de eventuais disposições específicas constantes na Ação ou no instrumento jurídico de parceria que a ampare.

5.1.1. Se financiada com recursos de outras fontes, poderão prevalecer ainda disposições específicas constantes na Ação ou no instrumento jurídico de parceria que a ampare.

5.2. Para assinatura do Termo de Outorga a instituição de execução do Projeto / Plano de Trabalho deverá ter Acordo de Cooperação Técnica vigente firmado com o CNPq.

5.3. O apoio financeiro aprovado pelo CNPq não gera vínculo de qualquer natureza ou relação de trabalho.

5.3.1. O pessoal envolvido na execução do projeto não possuirá vínculo de qualquer natureza com o CNPq e deste não poderá demandar quaisquer pagamentos, sendo estes de inteira responsabilidade do beneficiário / instituição de execução do Projeto / Plano de Trabalho que o tiver empregado na sua execução.

5.3.2. Ficam o beneficiário e a instituição de execução do Projeto / Plano de Trabalho responsáveis por ressarcir o CNPq por quaisquer despesas decorrentes de eventuais processos trabalhistas.

5.4. O processo somente será encerrado após as aprovações do relatório de execução do objeto do Projeto / Plano de Trabalho e da Prestação de Contas Financeira, quando exigida, e desde que cumpridas todas as condições previstas neste instrumento e nas normas aplicáveis.

5.5. A inobservância de dispositivos legais aplicáveis implicará no encerramento imediato do apoio financeiro aprovado e obrigará o beneficiário a ressarcir integralmente o CNPq de todas as despesas realizadas, atualizadas e acrescidas de juros nos termos da legislação, sem prejuízo da aplicação de penalidades cabíveis.

5.6. O beneficiário reconhece que ao CNPq compete exercer a autoridade normativa de monitoramento e controle sobre a execução do Projeto / Plano de Trabalho, bem como transferir a responsabilidade pelo projeto, no caso de paralisação ou de fato relevante que venha a ocorrer, de modo a evitar a descontinuidade das atividades.

Declara, ainda, que leu e aceitou integralmente os termos deste documento e as Condições Gerais em anexo, comprometendo-se a cumpri-los fielmente, não podendo, em nenhuma hipótese, deles alegar desconhecimento.

Termo de aceitação registrado eletronicamente por meio da internet junto ao CNPq, pelo agente receptor 10.0.10.60(srv-picc14.cnpq.br) , mediante uso de senha pessoal do Beneficiário em 18/12/2023, originário do número IP 200.130.33.73(200.130.33.73) e número de controle 128198256128198256:1184894979-2894328485.

Para visualizar este documento novamente ou o PDF assinado digitalmente, acesse:
<http://efomento.cnpq.br/efomento/termo?numeroAcesso=1742802306091128>.