

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

MARIANA FERREIRA DOS SANTOS

**O RNA CIRCULAR NÃO CODIFICANTE PVT1 (circPVT1) COMO UM
POTENCIAL BIOMARCADOR DE CÂNCER CERVICAL EM VESÍCULAS
EXTRACELULARES**

CURITIBA

2023

MARIANA FERREIRA DOS SANTOS

**O RNA CIRCULAR NÃO CODIFICANTE PVT1 (circPVT1) COMO UM
POTENCIAL BIOMARCADOR DE CÂNCER CERVICAL EM VESÍCULAS
EXTRACELULARES**

Monografia apresentada ao Curso de Ciências Biológicas, Setor de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial à obtenção do título de Bacharel em Ciências Biológicas.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Danielle Malheiros Ferreira.

Coorientadora: M.^a Ana Cecília Guimarães Alves.

Coorientador: M.^o Henrique Trigo de Castro Junior.

CURITIBA

2023

AGRADECIMENTOS

Neste momento de realização acadêmica, gostaria de expressar minha profunda gratidão a todas as pessoas que contribuíram para a conclusão deste trabalho. Sem o apoio, incentivo e colaboração deles, este trabalho não teria sido possível. Desse modo, é com grande satisfação que dedico este espaço para expressar minha gratidão sincera a todos aqueles que estiveram ao meu lado ao longo desta caminhada.

Primeiramente, gostaria de agradecer à minha orientadora Danielle Malheiros e aos meus co-orientadores Ana Cecília Guimarães e Henrique Trigo de Castro Junior, que me auxiliaram e me orientaram de uma forma espetacular e fundamental durante a realização desta monografia. Sua dedicação, paciência e ensinamentos foram essenciais para o meu amadurecimento e desenvolvimento na pesquisa da genética humana.

A minha família, em especial a minha mãe Margarida Ferreira, que sempre batalhou muito para me proporcionar uma educação de qualidade e sempre acreditou em mim e me encorajou a correr atrás dos meus objetivos e sonhos. Sua constante presença foi de suma importância durante a realização desta pesquisa, principalmente nos momentos difíceis.

Aos meus amigos e colegas, especialmente aos meus amigas (os), Elisa Nonino, Gustavo Gonçalves e Sophia Saletti, que eu acredito que foram colocados a dedo por Deus no meu caminho, pois tive o prazer de conhecê-los no primeiro dia de aula e nunca mais nos separamos. Eles estiveram presentes em toda a minha jornada nesses cinco anos de curso.

Gostaria de agradecer a Bruna Magnabosco, minha companheira de laboratório, por ter participado da realização deste trabalho e ter me ajudado e acompanhado em diferentes situações durante a produção desta monografia.

RESUMO

O câncer cervical (CC) é considerado o terceiro câncer com maior índice de mortalidade (342 mil óbitos por ano) entre as mulheres no mundo. Seu desenvolvimento está atrelado a infecção pelo *Papilomavírus Humano (HPV)*, que pode promover a formação de lesões intraepiteliais escamosas (LIE) de baixo (LIEBG) e alto grau (LIEAG) precursoras do câncer cervical. O diagnóstico precoce, o uso de preservativos e a vacinação contra o HPV são medidas preventivas contra a ocorrência da doença. No entanto, a adesão do público feminino ao preventivo citopatológico (conhecido popularmente como papanicolau) é abaixo do esperado devido a diferentes fatores, o que dificulta o diagnóstico das lesões precursoras. Devido a isso, metodologias alternativas menos invasivas estão sendo pesquisadas, dentre as quais inclui-se a biópsia líquida. Dentro deste contexto, as vesículas extracelulares (VEs) são estruturas presentes em todos os fluidos biológicos, tendo em seu conteúdo diferentes biomoléculas, incluindo RNAs não codificantes como os RNAs circulares (circRNAs). Dentre estes, que podem estar envolvidos com a progressão tumoral, o circRNA translocação variante do plasmocitoma 1 (PVT1), já foi previamente relacionado à tumorigênese do CC. Dessa forma, este trabalho teve como objetivo realizar uma revisão integrativa da literatura, sistematizando e sumarizando o conhecimento atual acerca do circPVT1 como biomarcador de CC na forma de biópsia líquida a partir de exossomos (uma classe de VEs). Para isso, utilizou-se a metodologia de *Bardin* (2011), classificando os trabalhos obtidos para os descritores “circRNA”, “circRNA PVT1”, “circRNA PVT1 *cancer*”, “circRNA PVT1 cervical cancer”, “circRNA PVT1 *vesicles*”, “circRNA PVT1 *cervical cancer vesicles*” e “circRNA *liquid biopsy cervical cancer*”, a partir dos bancos de dados *PubMed*, *ScienceDirect* e *Web of Science*. A revisão integrativa da literatura foi eficaz em expor trabalhos acerca do objetivo proposto, sendo viável a categorização dos estudos. A partir dos estudos avaliados (n = 84) foi possível indicar a aplicabilidade do circPVT1 como um biomarcador de câncer cervical a partir de vesículas extracelulares, incentivando a condução de trabalhos que procurem corroborar tal potencial.

Palavras chaves: câncer de colo de útero; RNA circular não codificante PVT1; exossomos.

ABSTRACT

Cervical cancer (CC) is considered to be the cancer with the third highest mortality rate (342,000 deaths per year) among women worldwide. Its development is linked to infection by the Human Papillomavirus (HPV), which can lead to low- and high-grade precancerous cervical lesions, until cancer is established. Early diagnosis, the use of condoms, and vaccination against HPV are preventive measures against the occurrence of the disease. However, female adherence to pap smears (cytopathology evaluation) is low due to socioeconomic, cultural, and religious factors that make it challenging to diagnose precancerous lesions. Taking this into account, alternative non-invasive methodologies are being implemented (e.g., liquid biopsy using extracellular vesicles). These molecules are found in all biological fluids and contain different biomolecules that may be linked to tumor progression — including non-coding RNAs, such as circular RNAs (circRNAs). For example, the circRNA plasmacytoma variant translocation 1 (PVT1) has been linked to tumorigenesis of CC. Therefore, we aimed to conduct an integrative literature review on the genetic basis of cellular processes involving circPVT1 and its potential applicability on liquid biopsy for CC screening, focusing on circPVT1 in exosomes, a class of EVs. Bardin's (2011) methodology was used to classify the papers selected by the descriptors "circRNA", "circRNA PVT1", "circRNA PVT1 cancer", "circRNA PVT1 cervical cancer", "circRNA PVT1 vesicles", "circRNA PVT1 cervical cancer vesicles", and "circRNA liquid biopsy cervical cancer" in the PubMed, ScienceDirect, and Web of Science databases. This work effectively exposed papers regarding our proposal, and it was feasible to categorize them. Thus, it was possible to measure the applicability of circPVT1 as a biomarker for cervical cancer in extracellular vesicles.

Key words: cervical cancer; circular non-coding RNA PVT1; exosomes.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

FIGURA 1 - PROGRESSÃO DAS LESÕES NO ENDOCÉRVIX	11
GRÁFICO 1 - ANO DE PUBLICAÇÃO DOS ESTUDOS.....	22
GRÁFICO 2 - PERCENTUAL DE TRABALHOS PUBLICADOS POR PAÍS DE PRODUÇÃO DOS ESTUDOS	23
GRÁFICO 3 - ANÁLISE DE TRÊS DIFERENTES TIPOS DE ESTUDOS	26
FIGURA 2 - LOCUS GENÔMICO DO GENE <i>PVT1</i>	28
GRÁFICO 4 - TIPOS DE CÂNCERES EM QUE FOI AVALIADA A EXPRESSÃO DO CIRC <i>PVT1</i>	29
FIGURA 3 - BIOGÊNESE E COMPOSIÇÃO DOS EXOSSOMOS.....	32
FIGURA 4 - HISTOLOGIA DAS LESÕES EPITELIAIS.....	36
FIGURA 5 - PRINCÍPIOS DA BIÓPSIA LÍQUIDA COMO POTENCIAIS BIOMARCADORES	38

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - ESTUDOS TOTAIS DISPONÍVEIS NOS TRÊS BANCOS DE DADOS PARA CADA DESCRITOR	18
TABELA 2 - ESTUDOS RECUPERADOS	18
TABELA 3 - NÚMERO DE ESTUDOS CONSIDERADOS COMO RELEVANTES PARA A REVISÃO.....	19
TABELA 4 - ESTUDOS QUE EXPUSERAM O ESTÁGIO TUMORAL	30
TABELA 5 - TIPO DE FLUIDO BIOLÓGICO ANALISADOS EM ESTUDOS COM VESÍCULAS EXTRACELULARES	33

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ADC	- Adenocarcinoma
CAF	- Cirurgia de Alta frequência
CC	- Câncer Cervical
CCI	- Câncer Cervical Invasivo
CCU	- Câncer de Colo de Útero
circRNA	- Ácido ribonucleico circular não codificante
circPVT1	- Ácido ribonucleico Circular da Translocação de Variante do Plasmocitoma 1
CTCs	- Células Tumorais Circulantes
cfDNA	- <i>Cell free</i> DNA
ctDNA	- Ácido desoxirribonucleico tumoral Circulante
EMT	- Transição Epitélio Mesênquima
HPV	- Papilomavírus Humano
IARC	- Agência Internacional de Pesquisa com Câncer
ICO	- Instituto Catalão de Oncologia
INCA	- Instituto Nacional de Câncer
lncRNAs	- Ácido ribonucleico longo não codificante
ISTs	- Infecções Sexualmente Transmissíveis
LIEAG	- Lesão Intraepitelial Escamosa de Alto Grau
LIEBG	- Lesão Intraepitelial Escamosa de Baixo Grau
MESH	- Medical Subject Headings
miRNA	- microRNA
mRNA	- Ácido ribonucleico mensageiro
NIC	- Neoplasia Intraepitelial Cervical
NIC I	- Neoplasia Intraepitelial Cervical de Grau I
NIC II	- Neoplasia Intraepitelial Cervical de Grau II
NIC III	- Neoplasia Intraepitelial Cervical de Grau III
NK	- <i>Natural Killer</i>
OMS	- Organização Mundial da Saúde
PVT1	- Translocação de Variante do Plasmocitoma 1
qPCR	- Reação em cadeia da Polimerase quantitativa em tempo real
siRNAs	- Pequeno Ácido ribonucleico interferente

SUS	- Sistema Único de Saúde
UFPR	- Universidade Federal do Paraná
VEs	- Vesículas Extracelulares

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	10
2. OBJETIVOS E JUSTIFICATIVA	14
3. MATERIAIS E MÉTODOS	15
3.1 <i>Método de Bardin</i>	16
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	17
4.1 <i>Trabalhos disponíveis</i>	17
4.2 <i>Disposição das publicações por ano</i>	21
4.3 <i>Países de publicação</i>	23
4.4 <i>Tipo de Estudo</i>	26
4.5 <i>circPVT1 em Câncer</i>	27
4.6 <i>Expressão do circPVT1 em vesículas extracelulares</i>	31
4.7 <i>Biópsia líquida e o rastreio por vesículas extracelulares no câncer cervical</i>	35
5. CONSIDERAÇÕES FINAIS	39
REFERÊNCIAS	41

1. INTRODUÇÃO

O câncer cervical (CC), conhecido também como câncer de colo de útero (CCU), está entre um dos principais tumores ginecológicos em mulheres, considerado como sendo o terceiro câncer de maior incidência e letalidade, com 604 mil casos de mulheres diagnosticadas e 342 mil óbitos entre a população feminina por ano, segundo o último senso (OMS, 2020). De acordo com a incidência deste, em países subdesenvolvidos ou em desenvolvimento de certas regiões da África, América Latina e Ásia, o índice ocupa o segundo lugar de prevalência e mortalidade, posteriormente ao câncer de mama (Dantas, 2022).

No Brasil, segundo o Instituto Nacional de Câncer (INCA), foram estimados 16.590 novos casos de câncer cervical por ano, com alterações de incidência entre as regiões brasileiras (Santos *et al.*, 2023). Devido a desigualdades socioeconômicas e culturais entre as regiões nacionais, o acesso aos serviços de saúde de prevenção, tratamento, diagnóstico e rastreamento clínico, são comprometidos, impossibilitando ou dificultando a realização do diagnóstico precoce e tratamento do CC (Barbosa, 2016). As regiões de maior incidência de câncer cervical no Brasil são a região Norte com uma incidência estimada de 26,24 casos a cada 100 mil mulheres (26,24/100 mil) e Nordeste com uma incidência de 17,59 casos para 100 mil mulheres (17,59/100 mil) (INCA, 2023).

O CC é causado principalmente pela infecção persistente pelo *Papilomavírus Humano* (HPV), considerado uma das infecções sexualmente transmissíveis (ISTs) mais frequentes em virtude da alta prevalência desta infecção em diferentes regiões do mundo. Porém na maior parte dos casos (2% a 5%) a infecção não evolui e regride espontaneamente (Ataides *et al.*, 2010; Carvalho *et al.*, 2020). Estima-se que cerca de 80% das pessoas sexualmente ativas, tanto homens como mulheres, serão infectadas pelo vírus em algum momento de sua vida. Apresenta diversos tipos, sendo as variantes oncogênicas HPV-16 e HPV-18 as mais ocorrentes na maioria dos casos diagnosticados (Nunes *et al.*, 2021). O HPV promove a infecção da pele e mucosas, causando a formação de lesões transitórias, no tecido cervical, que podem, por meio de uma alteração celular, desencadear o desenvolvimento do câncer cervical. Ainda, é importante ressaltar que o vírus pode

ser transmitido de outras formas além da transmissão sexual, sendo elas por secreção salivar, contato com objetos (médicos ou odontológicos) contaminados e transmissão vertical durante o parto ou gestação (Santos *et al.*, 2013). As lesões possuem diferentes tipos (verrugas comuns ou condiloma) e texturas (granulares ou verrucosas) e podem ser únicas ou múltiplas (Silva *et al.*, 2018).

Estudos apontam que, no Brasil, cerca de 9 a 10 milhões de pessoas sejam contaminadas pelo HPV e que ocorram cerca de 700 mil novos casos por ano (Silva *et al.*, 2018). Até o presente já foram descritos mais de 200 tipos deste vírus de DNA, sendo estes separados entre potencial oncogênico de baixo (6, 11, 40, 42, 43, 44, 54, 61, 70, 81 e 89 - sendo 6 e 11 responsáveis por 90% dos casos de verrugas genitais) e alto grau (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68, 73 e 82), com os tipos 16 e 18 mais ocorrentes nos casos de CC (Fedrizzi *et al.*, 2011; Carvalho *et al.*, 2020). O principal método de diagnóstico e rastreo da infecção pelo HPV é o exame preventivo Papanicolau (BVSMS, 2011).

As lesões cervicais precursoras (pré-cancerosas) mostram-se em diferentes graus evolutivos, as quais devem ser tratadas de acordo com o seu nível. Denominadas de Neoplasias Intraepitelial Cervical (NIC) e divididas em três níveis - NIC I (baixo grau), NIC II e NIC III (ambas de alto grau) - estas são determinadas pela histopatologia cervical e se apresentam de forma assintomática, na maioria das vezes (FIGURA 1) (INCA, 2016).

FIGURA 1 - PROGRESSÃO DAS LESÕES NO ENDOCÉRVIX

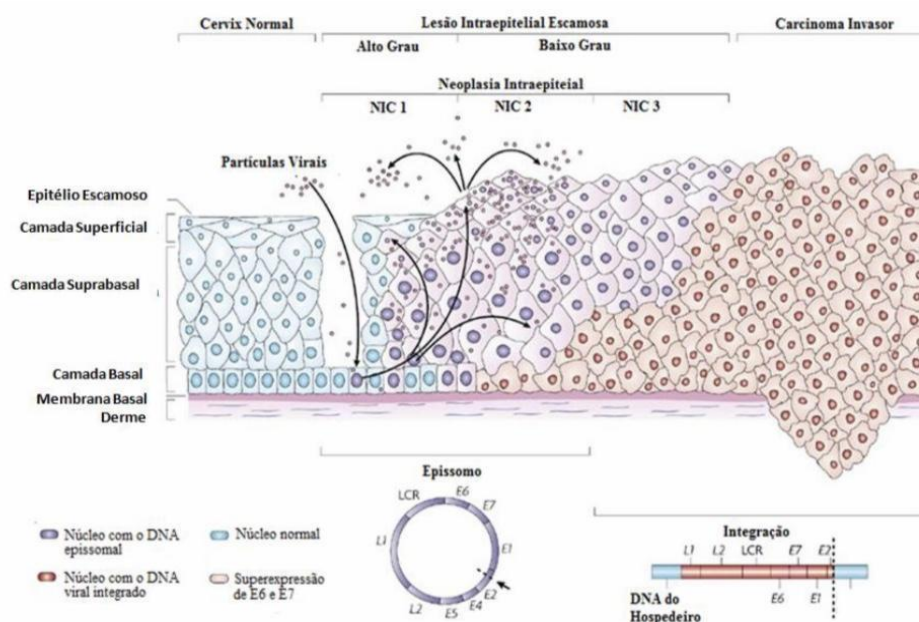


FIGURA 1. Representação esquemática das lesões pré-cancerosas do câncer cervical, ocasionadas pela infecção pelo HPV. O HPV infecta as células basais no epitélio cervical. Após a infecção viral os genes do vírus (E1, E2, E4, E5, E6 e E7) promovem a propagação do HPV. Nas camadas superiores (superficial e suprabasal) os genes virais são replicados mais intensamente, promovendo a expressão dos genes L1 e L2 os quais promovem a montagem e liberam a partícula viral, gerando novas infecções no epitélio. Com a infecção persistente do HPV pode ser potencializada a integração do genoma viral ao núcleo do hospedeiro (células vermelhas) gerando a progressão tumoral. Fonte: Adaptado de WOODMAN (2007); OLIVEIRA (2014).

Em países que incluíram o programa vacinal anti-HPV, as cepas 16 e 18 do HPV diminuíram significativamente em 85% em meninas de 13 a 19 anos e 65% em mulheres de 20 a 24 anos (Drolet *et al.*, 2019). No momento, existem três vacinas para o combate ao HPV: a vacina bivalente (2vHPV), quadrivalente (4vHPV) e nonavalente (9vHPV). No Brasil, a cobertura vacinal contra o HPV é realizada principalmente pela vacina quadrivalente que protege contra os HPVs de baixo risco (6 e 11), que causam verrugas anogenitais, e de alto risco (16 e 18), que causam câncer de colo uterino, de pênis, anal e oral, a qual é oferecida gratuitamente pelo Sistema Único de Saúde (SUS), recomendada para meninas de 9 a 14 anos, meninos de 11 à 14 anos e adultos imunossuprimidos ou pacientes oncológicos de até 45 anos, pacientes adultos sem comorbidade só podem receber a vacina em clínicas particulares (Brasil, 2022). Por outro lado, a vacina bivalente é apenas ofertada em centros particulares de vacinação, para a faixa etária entre 10 a 25 anos de idade. As três vacinas são eficazes no combate às cepas oncogênicas (HPV-16 e HPV-18) (Wendland *et al.*, 2021). Em março de 2023, foi aprovada a aplicação da vacina nonavalente, na proteção contra o HPV, para o público alvo de 9 a 45 anos de idade. No entanto, até o momento apenas algumas clínicas particulares estão aplicando a vacina no país (Blanes, 2023).

A infecção cervical pelo vírus é muito corriqueira, estudos afirmam que cerca de 80% de mulheres sexualmente ativas irão adquirir este vírus em algum momento de suas vidas (INCA, 2023). O câncer decorre de alterações celulares não tratadas, após a infecção persistente por HPV oncogênico. Na maioria dos casos relatados, há a possibilidade de cura, sendo que apenas a contaminação pelo vírus não é autossuficiente para gerar o câncer de colo de útero (INCA, 2023). A forma de identificação destas alterações, que consequentemente indicam a infecção viral, é realizada principalmente pelo exame preventivo citopatológico de colo de útero,

conhecido popularmente como Papanicolau. Deste modo, a avaliação periódica com ginecologista para a realização deste exame é de suma importância (Gomes, 2022).

O exame Papanicolau deve ser realizado de forma rotineira, principalmente entre mulheres de 25 anos a 59 anos de idade. Após a realização de dois exames anuais com resultados negativos, o exame pode ser realizado de três em três anos por qualquer mulher que já tenha tido relações sexuais e possua entre 25 a 59 anos de idade (Santos, 2013; INCA, 2021). É considerado a principal forma de rastreio dos casos de CC, em virtude da sua eficácia significativa de reconhecimento com alta especificidade de citologia (80%) e baixo custo, apresentando uma sensibilidade entre 50% e 65% (INCA, 2006). Este detecta potenciais alterações nas células do colo do útero, que possam prenunciar a existência de lesões precursoras do CC; lesões invasivas se desenvolvem e evoluem a partir das células precursoras de tumor (Castro, 2010). A técnica do preventivo resume-se no esfregaço vaginal, nas áreas da ectocérvice (com o auxílio da espátula de ayre) e endocérvice (com uma escova endocervical) (DB, 2013).

Uma alternativa ao teste citopatológico é a implementação do teste DNA-HPV, o qual apresenta uma eficácia maior quando comparado ao Papanicolau. Esta metodologia possibilita o rastreio de lesões precursoras de CC e estágio inicial do câncer. Segundo a OMS, este teste deve ser implementado como substituto do Papanicolau, em países que apresentarem recursos financeiros significativos para essa troca (OMS, 2013). Em seu estudo, Texeira *et al.* (2022) foram os primeiros a realizar uma investigação comparativa entre a eficácia de rastreio do teste citopatológico (20.284 testes realizados) e do teste DNA-HPV (16.384 testes aplicados) no Brasil. Após quase três anos de estudo, o teste DNA-HPV expôs uma cobertura populacional de rastreio, entre mulheres de 25 a 64 anos, muito superior ao citopatológico, resultando em um percentual de 99,5% contra 78% do Papanicolau. No entanto, é necessário um maior investimento governamental, para a possível aquisição destes testes e implementação destes no SUS (Teixeira *et al.*, 2022).

Outra potencial forma para rastreio e diagnóstico do CC seria através das biópsias líquidas, as quais estão sendo investigadas devido a sua qualidade para serem usadas em diagnósticos e rastreamento do CC (Cafforio *et al.*, 2021). Esta estratégia é um método não ou menos invasivo, com potencial de ressaltar a heterogeneidade presente nos tumores primários e, dessa forma expor

características cancerosas nos diferentes estágios, a partir da utilização de amostras de fluidos como sangue e urina, ou também de amostras de secreção. Estes fluidos podem ser usados para a identificação de potenciais biomarcadores livres circulantes (CTCs, ctDNA) ou em vesículas extracelulares (Cafforio *et al.*, 2021; Wu *et al.*, 2023).

As vesículas extracelulares (VEs) atualmente têm chamado a atenção de pesquisadores em virtude da sua potencial aplicação no diagnóstico pela biópsia líquida, pois estas são liberadas em diferentes tipos de fluidos biológicos e realizam a importante função de comunicação intercelular (Babelman *et al.*, 2018). Estas moléculas possuem diferentes características morfológicas e proteicas entre si, comportam diferentes tipos de biomoléculas como ácidos nucleicos, proteínas e lipídeos e este conteúdo pode diferir, dependendo da sua célula parental, podendo esta ser uma célula parental cancerosa. Logo, RNAs não codificantes (ncRNAs) provenientes de células tumorais, podem ser transportados por exossomos (um tipo de VE) para outros tecidos, aumentando a sua capacidade de metástase, como ocorre em casos de CC (Sánchez *et al.*, 2021).

O RNA longo não codificante PVT1 (Translocação de Variante do Plasmocitoma 1) é um lncRNA que atua na tumorigênese de diferentes tipos de cânceres, incluindo a progressão do CC, após a contaminação pelos tipos oncogênicos HPV-16 e HPV-18 (He *et al.*, 2020). Este lncRNA possui uma variante circular (circPVT1), a qual também opera em processos cancerígenos (Zeng *et al.*, 2021). Devido a sua conformação circular, o circPVT1 é mais resistente a procedimentos deletérios, como degradações, logo estimula de forma ativa o evento de transição epitélio-mesênquima (EMT), pois é transportado com mais facilidade pelas vesículas extracelulares nos fluidos biológicos, aumentando a progressão tumoral do câncer cervical (Bhat *et al.*, 2018; Ran *et al.*, 2022).

2. OBJETIVOS E JUSTIFICATIVA

Revisões bibliográficas integrativas são metodologias utilizadas para avaliar o impacto e a relevância acadêmica de estudos científicos sobre um determinado tema, de uma maneira evidente e acessível. Este método permite a visualização e apuração da evolução da produção científica, de uma temática específica, expondo ao mesmo tempo os campos emergentes sobre esta área. Vários pesquisadores

utilizam a revisão integrativa para diversos objetivos, como encontrar tendências emergentes em estudos recentes, padrões de pesquisas realizadas, entre outros fatores de análises (Donthu *et al.*, 2021). Dessa forma, a revisão bibliográfica integrativa é útil para definir e esquematizar estudos científicos cumulativos, de forma rigorosa e assim promover a construção de bases sólidas e o desenvolvimento de um determinado campo de pesquisa, de forma significativa (Huang *et al.*, 2022).

A partir da hipótese de que o RNA circular não codificante PVT1, preliminarmente correlacionado à proliferação do câncer cervical, pode ser utilizado como um biomarcador de CC, devido a sua capacidade de ser transportado pelos fluídos biológicos a partir do seu empacotamento no interior de vesículas extracelulares (exossomos), foi realizada uma revisão bibliográfica integrativa. O objetivo foi investigar sobre os processos celulares genéticos envolvendo o circPVT1 e os mecanismos de atuação deste RNA na oncogênese, com o intuito de analisar a utilização deste ncRNA como um potencial biomarcador de CC, a partir da investigação de estudos acerca da regulação deste ncRNA na tumorigênese do câncer cervical. Junto a isso, buscou-se avaliar a sua potencialidade de ser encontrado em vesículas extracelulares circulantes (exossomos) de diferentes tipos de fluídos biológicos, de pacientes com CC, em conjunto com a verificação de estudos a respeito da eficácia da implementação da metodologia alternativa de diagnóstico menos invasivos (biópsia líquida).

3. MATERIAIS E MÉTODOS

O material científico associado a verificação do circPVT1 como um potencial biomarcador de câncer cervical foi mapeado (novembro de 2023) por meio de uma revisão integrativa de literatura. A metodologia visa sintetizar a compreensão junto à implementação da aplicabilidade da teoria analisada na prática, a partir da utilização de plataformas de publicações científicas e motores de busca eletrônicos *ScienceDirect* (sciencedirect.com), *Pubmed* (pubmed.ncbi.nlm.nih.gov) e *Web of Science* (webofscience.com). O descritor “circRNA” foi retirado da plataforma *online* de palavras-chaves *MeSH* (*Medical Subject Headings*), voltada para trabalhos da área das Ciências da Saúde. Em seguida, o descritor principal foi incorporado aos epítetos em inglês “PVT1”, “PVT1 cancer”, “PVT1 cervical cancer”, “PVT1 vesicles”,

“PVT1 cervical cancer vesicles” e “liquid biopsy cervical cancer” como descritores secundários, gerando os seguintes termos utilizados “circRNA PVT1”, “circRNA PVT1 cancer”, “circRNA PVT1 cervical cancer”, “circRNA PVT1 vesicles”, “circRNA PVT1 cervical cancer vesicles” e “circRNA liquid biopsy cervical cancer”.

3.1 Método de Bardin

A revisão integrativa foi realizada a partir da técnica da análise de conteúdo, uma metodologia bastante comum no meio científico, por meio da utilização da teoria presente no livro *Análise de Conteúdo* (2011), da professora francesa Laurence Bardin, referência na área das análises qualitativas e quantitativas. Este processo é um agregado de técnicas de análises sistemáticas de materiais, que tem como objetivo avaliar potenciais indicadores quantitativos ou não acerca de variáveis pré-selecionadas para uma determinada temática. O método de Bardin foi efetuado em três fases distintas: pré-análise, fase na qual foi organizado o desenho teórico-experimental da temática a ser pesquisada junto aos procedimentos que seriam efetuados durante a pesquisa; exploração do material, etapa na qual os documentos escolhidos foram dispostos frente a seleção das classificações das variáveis a serem avaliadas e analisadas; e avaliação dos resultados, etapa final na qual os resultados foram interpretados e validados, a partir dos estudos encontrados.

Os materiais encontrados foram escolhidos e classificados em planilhas (*software Microsoft Excel*) com relação ao resumo e textos disponibilizados nos sites eletrônicos de busca científica pré-selecionados, dos quais foram salvos os títulos do trabalho e o endereço digital deles. Estes foram ordenados por grupos, para cada descritor e banco de dados, utilizando-se a plataforma *endNote* (*Thomson Reuters Corporation*, Canadá), para uma melhor organização, identificação e exclusão de todos os trabalhos que possuíam duplicatas ou eram referentes a livros. As propriedades de estudo avaliadas para a variável categórica nominal foram: tipo do estudo, país de estudo, tipo de câncer, tipo de fluido e/ou material biológico analisado e mecanismo de ação do RNA. Já para a variável ordinal: estágio do câncer avaliado. Variável dicotômica: refere-se ao câncer cervical, refere-se ao uso de vesículas extracelulares e é favorável para o objetivo de pesquisa. Por fim, para

a variável contínua foi determinada a seguinte característica: ano de publicação da pesquisa.

Para todos os descritores selecionados foram utilizados e catalogados os 100 primeiros artigos disponibilizados no *site* de busca, não sendo usados livros e citações. No caso de duplicatas, foram selecionados os trabalhos provenientes dos descritores com menos dados encontrados e para a plataforma com menor número de artigos. A partir dos resultados encontrados, foram elegidos os trabalhos considerados úteis para a pesquisa desta monografia.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Trabalhos disponíveis

Revisões integrativas da literatura são importantes ferramentas para verificação das produções científicas de uma determinada área por um período de tempo específico (Huang *et al.*, 2022). Este tipo de metodologia ganhou mais popularidade e reconhecimento devido ao desenvolvimento de diversas tecnologias acessíveis de pesquisa, como *softwares* e os bancos de dados. Junto a isso, a utilização das revisões integrativas promove a possibilidade de trabalhar com grandes volumes de dados científicos, resultando na produção de um alto impacto investigativo (Donthu *et al.*, 2021).

Os artigos científicos relacionados ao mecanismo de ação do circPVT1 em câncer cervical foram estruturados e classificados a partir de uma revisão integrativa da literatura em conjunto com a metodologia de análise semântica de conteúdo de Bardin (2011). A esquematização científica foi efetuada para três plataformas de banco de dados de pesquisas científicas, sendo registrados o número total de trabalhos disponíveis para cada descritor pré-selecionado (TABELA 1), a quantidade de estudos resgatados para a pesquisa (TABELA 2) e o número total de artigos conceituados como úteis para a investigação proposta (TABELA 3), a partir do número inicial total de trabalhos avaliados (100) para cada descritor.

TABELA 1 - ESTUDOS TOTAIS DISPONÍVEIS NOS TRÊS BANCOS DE DADOS PARA CADA DESCRITOR

DESCRITORES	PUBMED	SCIENCEDIRECT	WEB OF SCIENCE	TOTAL
CIRC RNA	22.210	5.003	7.343	34.556
"CIRC RNA" and "PVT1"	75	358	27	460
"CIRC RNA" and "PVT1" and "CANCER"	65	337	23	425
"CIRC RNA" and "PVT1" and " CERVICAL CANCER"	1	97	1	99
"CIRC RNA" and "PVT1" and " VESICLES"	0	148	1	149
"CIRC RNA" and "PVT1" and " CERVICAL CANCER" and " VESICLES"	0	44	0	44
"CIRC RNA" and "LIQUID BIOPSY" and "CERVICAL CANCER"	0	104	0	104

Distribuição total de trabalhos disponíveis, nos três bancos de dados selecionados. Foram encontrados 22.351 trabalhos na plataforma *Pubmed*, 6.091 no *ScienceDirect* e 7.395 estudos no *Web of Science*. Fonte: A autora (2023).

Dos 35.837 trabalhos disponibilizados para cada descritor, nas três plataformas utilizadas, apenas 828 foram recuperados, como é mostrado na TABELA 2. Foram selecionados os 100 primeiros artigos, para os descritores que apresentaram mais de 100 trabalhos. Duplicatas entre os descritores e os bancos de dados foram eliminadas, mantendo o trabalho no banco de dados e descritor que gerou menos resultados. Além disso, capítulos de livros também foram excluídos de todos os descritores.

TABELA 2 - ESTUDOS RECUPERADOS

DESCRITORES	PUBMED	SCIENCEDIRECT	WEB OF SCIENCE	TOTAL
CIRC RNA	100	94	100	294
"CIRC RNA" and "PVT1"	34	57	27	118
"CIRC RNA" and "PVT1" and "CANCER"	49	39	22	110
"CIRC RNA" and "PVT1" and " CERVICAL CANCER"	1	59	1	61
"CIRC RNA" and "PVT1" and " VESICLES"	0	100	1	101
"CIRC RNA" and "PVT1" and " CERVICAL CANCER" and " VESICLES"	0	44	0	44
"CIRC RNA" and "LIQUID BIOPSY" and "CERVICAL CANCER"	0	100	0	100

Distribuição dos 100 primeiros artigos selecionados para cada descritor, em cada plataforma, após a exclusão de duplicatas e livros. Fonte: A autora (2023).

Após a aplicação dos critérios de elegibilidade, foram eliminados artigos que não tratavam sobre investigações sobre o circPVT1, não se referiam a sua potencialidade como biomarcador tumoral ou que não eram a respeito do câncer cervical. Após isso, foram lidos os títulos e resumos das pesquisas para serem selecionadas como “úteis”.

A partir disso, dos 828 estudos recuperados, apenas 84 trabalhos foram categorizados como relevantes (TABELA 3), para o objetivo proposto da pesquisa, e classificados conforme as variáveis de interesses estabelecidas. Foram considerados como relevantes os diferentes trabalhos que abordaram a biogênese e mecanismo de ação dos circRNAs, estudos que expuseram a potencialidade do

circPVT1 como um biomarcador de CC e outras neoplasias e sua expressão em vesículas extracelulares e, por fim, trabalhos que investigaram o uso da implementação da biópsia líquida no câncer cervical, como forma de diagnóstico, a partir da análise com circRNA, incluindo o PVT1. Com base nisso, todos os 84 estudos considerados como relevantes foram lidos na íntegra para execução da revisão.

TABELA 3 – NÚMERO DE ESTUDOS CONSIDERADOS RELEVANTES PARA A REVISÃO.

DESCRIPTOR	PUBMED	SCIENCEDIRECT	WEB OF SCIENCE	TOTAL
CIRC RNA	4	7	4	15
"CIRC RNA" and "PVT1"	4	5	2	11
"CIRC RNA" and "PVT1" and "CANCER"	9	9	8	26
"CIRC RNA" and "PVT1" and "CERVICAL CANCER"	0	6	1	7
"CIRC RNA" and "PVT1" and "VESICLES"	0	7	1	8
"CIRC RNA" and "PVT1" and "CERVICAL CANCER" and "VESICLES"	0	4	0	4
"CIRC RNA" and "LIQUID BIOPSY" and "CERVICAL CANCER"	0	13	0	13

Estudos categorizados como "relevantes" para o presente estudo, após a implementação dos critérios de seleção. Fonte: A autora (2023).

A partir dos bancos de dados utilizados, observou-se que a plataforma *PubMed* foi a que expôs a maior quantidade de trabalhos disponíveis (62,3%), principalmente para o descritor "circRNA" (61,9%), seguida pela plataforma *Web of Science* (20,6%) e *ScienceDirect* (16,9%) (TABELA 1). Em contrapartida, para os estudos recuperados, a plataforma *ScienceDirect* foi a que apresentou a maior disponibilidade de artigos (59,5%), quando comparada com as demais plataformas, *PubMed* (22,2%) e *Web of Science* (18,2%) (TABELA 2).

Além disso, o banco de dados *ScienceDirect* resultou na maior quantidade de estudos considerados relevantes (60,7%), seguido do *PubMed* (20,2%) e *Web of Science* (19,04%) (TABELA 3). Semelhante a isso, Tober (2011) encontrou mais estudos, referente a área das ciências da saúde na plataforma *PubMed*, ressaltando que este banco de dados é fundamental para a realização de pesquisas amplas e aprofundadas em tópicos específicos das ciências médicas. Salientando ainda que o *ScienceDirect* promove uma ordenação dos resultados para cada descritor por ordem de relevância, gerando uma maior quantidade de resultados para tópicos mais específicos, como observado para os dados gerados.

Em relação aos resultados obtidos pela plataforma *Web of Science*, Falagras (2007) menciona que recuperou uma quantidade menor de trabalhos, quando comparada com o *PubMed*, resultado que pode ser explicado devido ao fato de que

este banco de dados é uma plataforma paga, diferentemente da *ScienceDirect* e *PubMed*. O descritor “circRNA” foi gerador da maior quantidade de estudos disponibilizados em todas as plataformas (96,4%) (TABELA 1) e recuperados (35,5%) (TABELA 2), no entanto obteve o segundo maior percentual de artigos “úteis” (17,8%) (TABELA 3). Este fenômeno pode ser explicado pela generalização conceitual deste termo em diferentes áreas de estudo, não somente na área da saúde, como também na botânica e zoologia. Além disso, a elevada ocorrência dele é comprovada pelo banco de dados *MeSH*, visto que o termo “circRNA” está presente nos dados da plataforma, sendo caracterizado como um descritor.

O mesmo ocorreu para o descritor “circPVT1” o qual resultou em 1,28% para trabalhos disponíveis (TABELA 1), 14,2% para recuperados (TABELA 2) e 13,09% para estudos “úteis” (TABELA 3). Em contrapartida o descritor “circRNA PVT1 *cancer*” apresentou o maior percentual de trabalhos relevantes, 30,9% (TABELA 3), porém em relação aos artigos disponíveis e aos recuperados exibiu a terceira maior porcentagem, 1,18% (TABELA 1) e 13,2% (TABELA 2), respectivamente. Para os descritores “circRNA PVT1 *cervical cancer*” (0,27%; 7,36%; 8,3%), “circRNA PVT1 *vesicles*” (0,41%; 12,1%; 9,5%), “circRNA PVT1 *cervical cancer vesicles*” (0,12%; 5,31%; 4,7%) e “circRNA *liquid biopsy cervical cancer*” (0,29%; 12,07%; 15,4%) para os parâmetros disponíveis, recuperados e “úteis”, respectivamente.

Muitos trabalhos foram repetidos em mais de um descritor, principalmente na plataforma *ScienceDirect*, o que explica a elevada quantidade de trabalhos disponíveis nos descritores específicos para análise do circPVT1 como um biomarcador de CC. Tober (2011) explica que o *ScienceDirect* recruta todos os artigos que apresentem os termos de busca depositados na pesquisa, em diferentes áreas como zoologia e botânica, o que gera abundância de trabalhos disponíveis.

Os RNAs circulares (circRNAs), descobertos há 40 anos, caracterizam uma outra categoria específica de ncRNAs, estes desenvolvidos a partir de processos de *back-splicing*, durante a transcrição, provocado por uma estrutura de *stem-loop* (ou grampo), promovida pela presença de repetições de elementos Alu que cercam o exon 2 do gene *PVT1* (Kristensen *et al.*, 2018; Jeck *et al.*, 2013; Traversa *et al.*, 2022). Devido a isso, inicialmente foram julgados como subprodutos de erros de *splicing* de mRNA. A configuração circular se dá pela ligação covalente, entre as fitas longas de RNA simples, logo os circRNAs não apresentam cauda poliA e nem

polaridades 5'-3', devido a formação das alças covalentes fechadas (Holdt *et al.*, 2018; Shen *et al.*, 2021; Li *et al.*, 2021).

A maioria dos circRNAs atua em vários processos biológicos, como a diferenciação celular, homeostase tecidual, metabolismo de glicose das células, formação de esteróides ovarianos e também atuam no desdobramento de doenças, como o câncer, visto que muitos destes ncRNAs são gerados a partir de genes com ação oncogênica (Van Der Steen *et al.*, 2020; Traversa *et al.*, 2022). A variante hsa_circ_0009143 (circPVT1) é a mais expressa no câncer cervical, atuando na estimulação do evento de EMT das células normais, promovendo a progressão tumoral (Wang *et al.*, 2020). Além disso, os RNAs circulares possuem uma maior resistência a procedimentos de clivagem a partir de exonucleases, quando comparados aos RNAs lineares, logo apresentam uma meia vida de 24 horas enquanto o linear não excede 4 horas (Chen *et al.*, 2017). A partir destes atributos, este RNA atua de forma mais eficiente no processo de “esponjamento” molecular de miRNAs, promovendo o silenciamento destes, como também nos eventos de tradução de proteínas (Chen *et al.*, 2020; Zeng *et al.*, 2021).

4.2 Disposição das publicações por ano

Dentre os trabalhos considerados como “úteis”, pode-se observar que estes foram publicados entre os anos de 2014 e 2023, apresentando um aumento no número de publicações a partir de 2019 (GRÁFICO 1). O ano de 2022 expressou a maior quantidade de publicações analisadas com 25%, em contrapartida, o período de 2014 resultou no menor índice de publicações “úteis” com 1,19%. Além disso, pode-se avaliar uma queda no número de publicações no ano de 2020 (10,7%), ocasionado, provavelmente, em virtude da pandemia da Coronavírus.

GRÁFICO 1 - ANO DE PUBLICAÇÃO DOS ESTUDOS

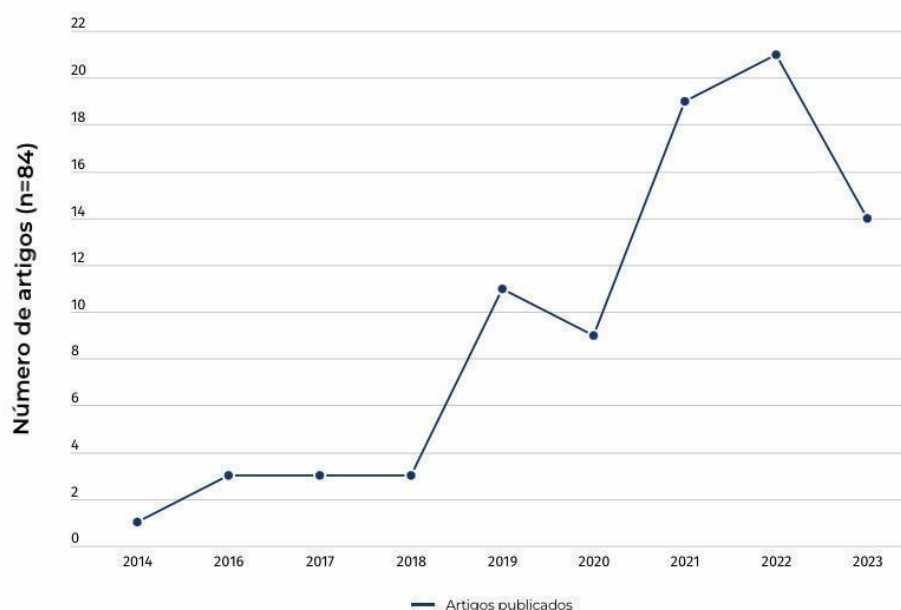


GRÁFICO 1: Distribuição do ano de publicação dos artigos considerados como úteis. O gráfico de linhas expõe a quantidade de artigos avaliados (eixo y) em relação ao ano de publicação (eixo x). Fonte: A autora (2023).

Nos últimos 9 anos, a produção de pesquisas envolvendo os circRNAs e o circPVT1 aumentaram consideravelmente, principalmente dentro da área oncológica. Os trabalhos sobre o mecanismo de ação dos circRNAs cresceram gradativamente de 2014 à 2017, enquanto os trabalhos sobre a atuação do circPVT1 em doenças genéticas começaram a ser desenvolvidos com abundância a partir de 2019. Resultados que demonstram a utilização destes ncRNAs em análises patológicas são extremamente recentes. Apesar dos trabalhos utilizando circRNAs serem consideravelmente reduzidos, há vários aspectos que indicam a qualidade destes como potenciais biomarcadores de cânceres. No seu estudo Chen *et al.* (2016) identificaram pela primeira vez o circPVT1 em tecido de câncer gástrico, por meio da técnica de RT-qPCR seguido de sequenciamento de Sanger. Após este estudo, diversos outros documentos, envolvendo a investigação sobre o circPVT1 em neoplasias como câncer de mama, ovário, cervical, pulmão, além de investigações neurológicas, entre outras doenças, foram publicados, principalmente nos anos de 2021 e 2022. A distribuição das publicações de 2019 até o presente momento (2023) ressalta a quantidade crescente de pesquisadores dispostos a investigar a ação do circPVT1 em diferentes condições.

4.3 Países de publicação

O câncer cervical é prevalente em países de condições socioeconômicas instáveis, em decorrência da instabilidade na área da saúde, resultando na falta de programas de rastreamento e controle da doença (Gomes *et al.*, 2022). Além disso, a falta de adesão de muitas pessoas à vacinação contra o HPV, principalmente de meninas adolescentes, influencia diretamente no agravamento dos dados da prevalência do câncer cervical nestas regiões (Wendland *et al.*, 2021).

As pesquisas consideradas relevantes pertenciam a 12 diferentes países (GRÁFICO 2), sendo a China a maior produtora científica, com 49 documentos publicados (58,3%), seguida pelo Irã (15,4%), Índia (8,3%), Itália (4,7%) e Estados Unidos (3,5%). Países como Israel, Espanha, Turquia, Paquistão, Portugal, Arábia Saudita e Brasil, tiveram apenas um trabalho considerado como relevante (1,19%).

GRÁFICO 2 – PERCENTUAL DE TRABALHOS PUBLICADOS POR PAÍS DE PRODUÇÃO DOS ESTUDOS

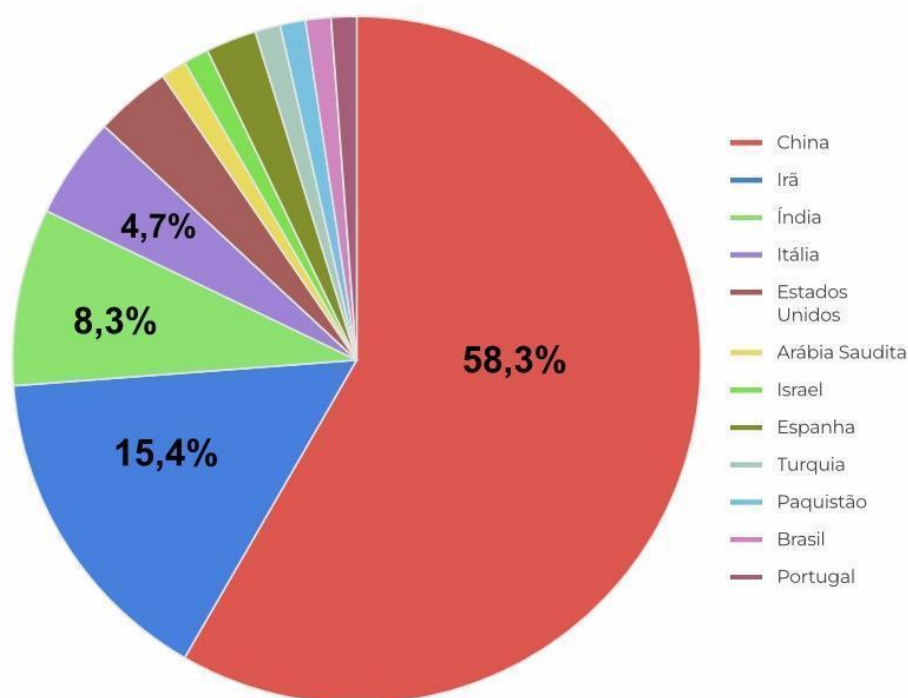


GRÁFICO 2: Pesquisas classificadas como relevantes por país de publicação. O gráfico de setores demonstra os 12 países de produção dos artigos considerados relevantes. Fonte: A autora (2023).

Apesar dos avanços na área, a produção de pesquisas acerca deste alvo circular expõe o desequilíbrio presente entre os diferentes países. A China é a nação que mais produziu trabalhos acerca do circRNAs em geral e do circPVT1. Baseado nisso, Huang *et al.* (2022) explicaram que devido a elevada população do país, os pesquisadores chineses possuem uma determinada vantagem de equipamentos para produzir uma quantidade abundante de investigações. Apesar disso, Huang *et al.* (2022) ressalta que os pesquisadores ocidentais continuam sendo mais influentes na área da oncologia. Segundo a ICO/IARC HPV *Information Center* (2023), este resultado pode estar atrelado à alta incidência de casos de câncer cervical no país por ano (1.097.41 casos por ano - 11,35 por 100.000 mulheres) e de mortalidade por ano (590.60 casos por ano - 3,42 por 100.000 mulheres) resultando no percentual de 17,6% casos na China, dos quais 69,1% são decorrentes das variantes oncogênicas do HPV (HPV-16 e HPV-18). Segundo o último censo da Globocan (2020), o CC é o sexto tipo de câncer mais frequente na população chinesa, sendo o câncer de pulmão o mais recorrente. Junto a isso, Shen *et al.* (2022) menciona que a incidência de casos entre pessoas mais jovens aumentou de forma significativa no país de 1990 a 2019, segundo o autor, devido ao desenvolvimento econômico, que resultou em uma maior exposição de mulheres mais jovens ao HPV, em decorrência da primeira relação sexual mais cedo e sem proteção, atrelado a falta de asseguramento de saúde pelo governo Chinês.

A Índia apresentou o terceiro maior percentual de publicações, o que pode ser explicado devido à alta incidência de CC no país, 18,3%, com uma incidência de 123.907 casos por ano e mortalidade de 77.348 por ano, de acordo com os dados de ICO/IARC HPV *Information Center* (2023). Segundo Sharma *et al.* (2019), o câncer cervical é o segundo maior câncer incidente nas mulheres indianas, dado que expressa a preocupação dos pesquisadores indianos em desenvolver melhores terapias para reduzir essa estatística no país. Essa estimativa está relacionada ao contexto sociocultural de desigualdades na Índia.

Fatores como religião, castas, nível de escolaridade, idade, riqueza familiar, local de moradia e cobertura de saúde governamental são os mais influentes no rastreio do câncer cervical nas mulheres indianas. Segundo Muthuramalingam (2023), o percentual de rastreio no país é de apenas 2%, sendo mais elevado em

mulheres de alta escolaridade e de riqueza familiar. Em seu estudo, é ressaltado também que a faixa etária de diagnóstico no país está nas mulheres de 50 a 59 anos e não 35 a 44 anos como nos demais países, devido ao diagnóstico tardio das mulheres indianas, visto que em 67,2% dos casos de diagnósticos iniciais, o CC já se encontra em outros tecidos (metástase). Devido a isso, muitos estudos de investigação acerca do CC estão sendo realizados, visando a produção de terapias mais acessíveis frente as desigualdades presentes no país.

Dos documentos considerados "relevantes", apenas um foi produzido por cientistas brasileiros. Em seu trabalho, Kulcheski *et al.* (2016) promoveram uma revisão sobre as características gerais dos circRNAs e sua aplicabilidade em terapias clínicas. Não existe até o presente momento (novembro de 2023), nenhum trabalho brasileiro sobre a utilização do circPVT1 como um potencial biomarcador de CC.

No Brasil, as diferentes características econômico-culturais regionais influenciam no índice variado da doença. As diferentes condições de desenvolvimento econômico entre as regiões, afetam o acesso das mulheres ao sistema de prevenção, vacinação, diagnóstico e tratamento. Logo, mulheres com piores condições sociais não conseguem sequer realizar um exame diagnóstico e, conseqüentemente, não terão a oportunidade de fazer um tratamento adequado (Barbosa *et al.*, 2016). As diferenças de rastreio e tratamento são evidentes entre os centros urbanos das regiões Sudeste e Sul, quando comparadas com as regiões Norte e Nordeste, principalmente no interior destas, em decorrência da dificuldade de acesso dos pacientes ao posto de saúde e, conseqüentemente, ao diagnóstico e tratamento (Azevedo, 2011). Apesar de maiores dificuldades econômicas para promover o tratamento adequado, a Região Nordeste possui uma adesão maior aos testes preventivos com 1.460.808 exames realizados em 2021 (25,3%), quando comparados com a Região Sul com 1.062.888 testes (18,4%). Já a Região Sudeste possui o maior índice de adesão (43,2%) totalizando 2.495.435 testes aplicados e a Região Norte, o menor (6,39%), com um total de 382.597 exames efetuados em 2021 (INCA, 2021).

Apesar da alta incidência de casos de câncer cervical, estimados no Brasil — segundo o INCA, 17.010 mil novos casos em 2022 —, não foram encontrados estudos brasileiros sobre essa condição ou qualquer outro estudo sobre a ação deste RNA circular em outras malignidades cancerosas. No Brasil, até o momento,

das poucas pesquisas que investigaram este circRNA, a maioria é referente a estudos envolvendo doenças neurológicas, como o Parkinson (Guerra *et al.*, 2021).

4.4 Tipo de Estudo

Foram avaliados os tipos de estudos aplicados nos trabalhos considerados como relevantes, para cada descritor selecionado (GRÁFICO 3). O descritor “circRNA” apresentou o maior índice de trabalhos no formato de revisão da literatura com 33,3%. Por outro lado, o descritor “circRNA PVT1 *cancer*” expôs uma quantidade elevada de estudos clínicos com 22,9%. No entanto, o descritor “circRNA PVT1 *cervical cancer vesicles*” apontou uma redução em ambas classificações de pesquisas, provavelmente, em virtude da reduzida quantidade de trabalhos resultantes.

GRÁFICO 3 - ANÁLISE DE TRÊS DIFERENTES TIPOS DE ESTUDOS

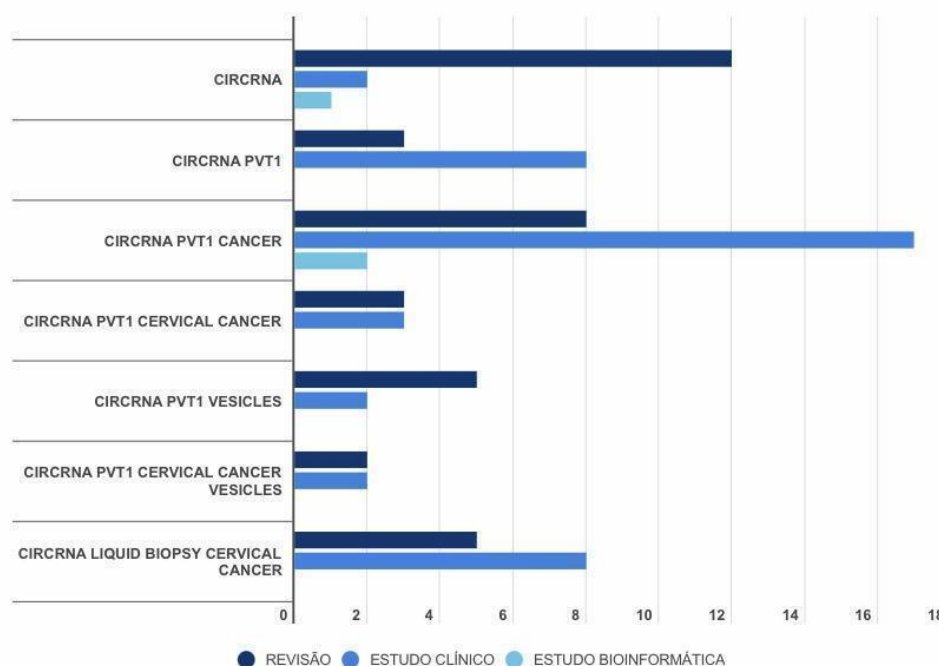


GRÁFICO 3: Amostragem dos diferentes tipos de estudos realizados nos trabalhos considerados “úteis”. A partir do gráfico de barras pode-se avaliar a distribuição de cada tipo de trabalho para cada um dos descritores. Fonte: A autora (2023).

Os estudos clínicos apresentaram o maior percentual dentre os trabalhos “úteis” avaliados, seguidos das revisões de literatura como modelos de estudo. O descritor “circRNA” resultou na maior distribuição de revisões produzidas, fator que

pode ser explicado pela falta de informação sobre a biogênese, ação e funcionamento dos RNAs circulares no meio científico.

Li (2023) discute que a importância dos circRNAs começou a ser reconhecida pelos pesquisadores recentemente. Atualmente, estudiosos estão mais interessados em avaliar a utilização dos diferentes tipos de circRNAs na pesquisa clínica, devido a sua aplicabilidade na produção de vacinas e de terapias. Por outro lado, para os descritores “circRNA PVT1”, “circRNA PVT1 *cancer*”, “circRNA PVT1 *cervical cancer*” e “*Liquid biopsy cervical cancer*” a maioria dos documentos avaliados, foram de natureza clínica, expondo o avanço da investigação deste ncRNA dentro da pesquisa médica e principalmente com foco na oncologia. Adhikary *et al.* (2019) destacaram que, com a ascensão dos circRNAs nas pesquisas, o circRNA PVT1 e o lncRNA PVT1 entraram em foco, como um dos mais potentes ncRNAs oncogênicos a serem estudados no momento e futuramente. Além disso, mais recentemente foram desenvolvidas ferramentas tecnológicas para identificação virtual dos circRNAs, como o *software CircBase* (Rejewsky Lab, Max Delbrück center, Alemanha), que mostra a expressão dos circRNAs em diferentes tipos de amostras biológicas. Em seu trabalho, Bu *et al.* (2020) mostraram a eficiência do *software Starbase* (OpenBench, União Européia) para verificar os locais de ligação do circPVT1 a miRNAs em amostras de câncer.

4.5 circPVT1 em Câncer

O RNA longo não codificador PVT1 (Translocação variante do plasmocitoma 1) é um oncogene localizado no cromossomo 8 (8q24.21), a jusante do proto-oncogene *MYC*. Esta região é bastante estudada dentro da oncogenética, pois é considerada um *hotspot* de ocorrência de alterações cromossômicas e integrações virais para diversos tipos de câncer, além disso engloba diversos *loci* de risco para diferentes tipos da doença (Tolomeo *et al.*, 2021). Este oncogene, o qual origina transcritos circulares e longos (FIGURA 2), é superexpresso em diferentes tipos de câncer, tanto em neoplasias de tumores sólidos como mama, bexiga, próstata, câncer cervical, entre outros e também é expresso em tumores hematológicos, auxiliando a propagação de neoplasias hematológicas, logo, este lncRNA pode ser usado como um potencial biomarcador de câncer (Lu *et al.*, 2017; Ghetti *et al.*, 2020).

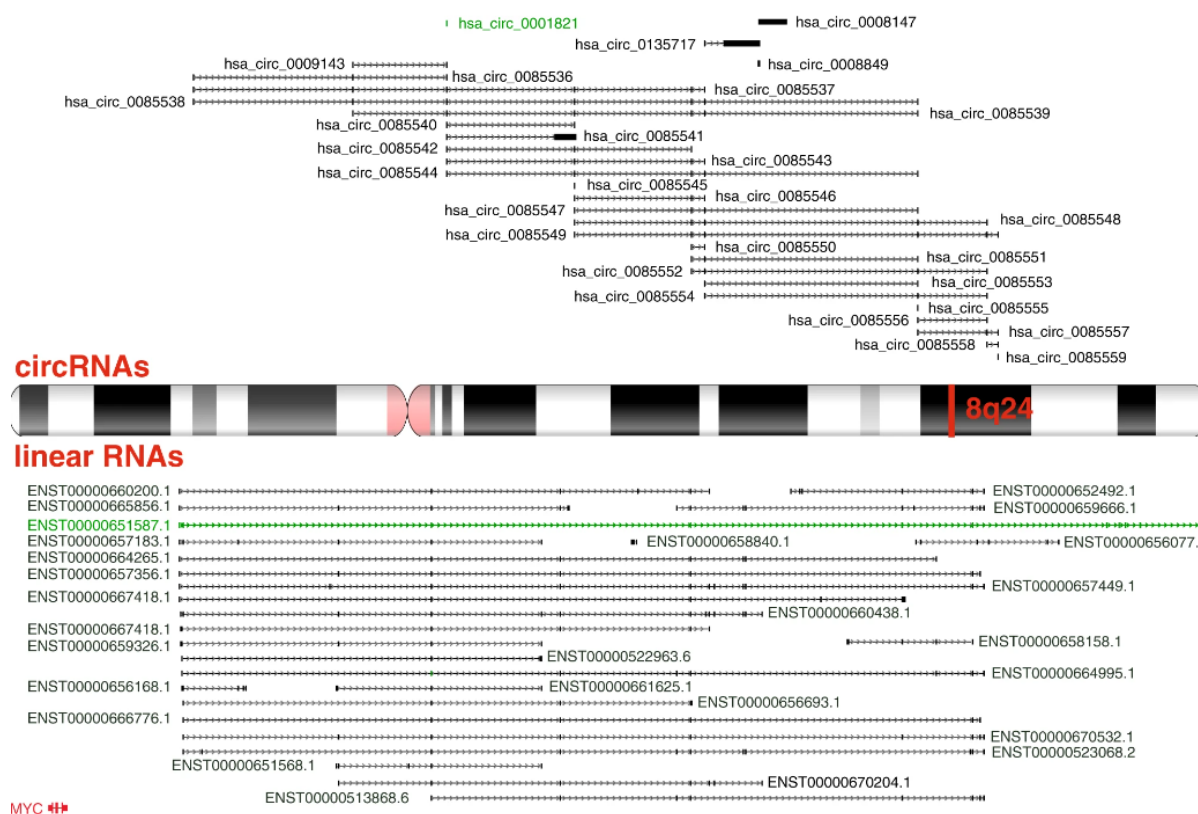
FIGURA 2 - LOCUS GENÔMICO DO GENE *PVT1*

FIGURA 2. Locus genômico do gene *PVT1* e suas isoformas transcritas circulares e lineares, no cromossomo 8. O gene *MYC* também está representado. Fonte: Adaptado de TRAVERSA (2022).

No câncer cervical, o *PVT1* atua como um potencializador tumoral, visto que promove a progressão do tumor, aumenta os índices de metástases por meio do aumento do índice de Transição Epitélio-Mesênquima (EMT), e induz a resistência aos medicamentos utilizados nos tratamentos (Wu *et al.*, 2023). Além disso, o *PVT1* está atrelado ao aumento da expressão da oncoproteína MYC, visto que estes genes realizam interações entre si, logo a ativação da expressão de MYC é dependente da expressão de *PVT1* (Dong *et al.*, 2017). Estas ações são possíveis em virtude da sua atuação como RNA competidor endógeno, ou seja, o *PVT1* compete com os RNAs mensageiros (mRNAs) pela ligação aos microRNAs (miRNAs), pois a partir da ligação deste lncRNA aos miRNAs é realizado o silenciamento de genes alvo, que atuam na repressão da proliferação celular, para que assim o *PVT1* consiga promover a tumorigênese (Durán *et al.*, 2020).

Nos trabalhos selecionados, observou-se a elevada utilização do circPVT1 em estudos referentes a diferentes tipos de neoplasias genéticas, tanto de tumores sólidos como hematológicos (GRÁFICO 4). Foram categorizados 12 tipos distintos de cânceres, sendo o câncer cervical o mais frequente, devido ao objetivo de estudo do trabalho. Seguido de trabalhos sobre a expressão do circPVT1 em amostras de câncer de pulmão e câncer gástrico.

GRÁFICO 4 - TIPOS DE CÂNCERES EM QUE FOI AVALIADA A EXPRESSÃO DO CIRCPVT1

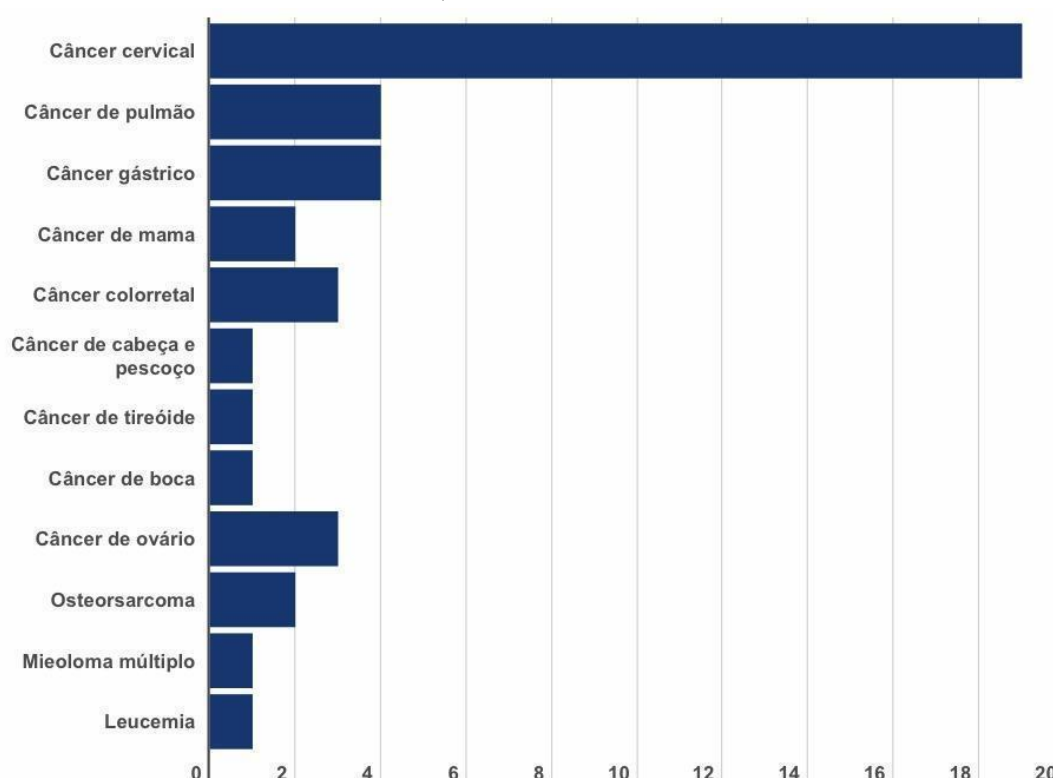


GRÁFICO 4: Avaliação dos diferentes tipos de câncer que apresentam expressão significativa para o circPVT1. O gráfico de barras expõe a quantidade de estudos que avaliaram este RNA não codificante, como um biomarcador em diferentes tipos de câncer. Fonte: A autora (2023).

Diversos estudos ressaltaram a atividade oncogênica do circPVT1, em razão da atribuição primária deste RNA, no desenvolvimento de diversos tumores diferentes responsáveis por originar um câncer, como câncer de pulmão, bexiga, gástrico, de ovário, entre outros (Zeng *et al.*, 2021). Apesar de muitos estudos produzidos recentemente terem ressaltado a ação oncogênica deste ncRNA em diferentes tipos de cânceres, ainda há a necessidade de se aprofundar em relação ao mecanismo de ação deste biomarcador em cada neoplasia.

Nos documentos categorizados como relevantes, apenas 19 estudos utilizaram o câncer cervical como principal agente de investigação, resultado

motivado pelo objetivo principal deste estudo. Porém, nos trabalhos disponibilizados nos três bancos de dados utilizados, a maior parcela de trabalhos clínicos que investigaram a atividade do circPVT1 como um biomarcador eram referentes aos cânceres gástrico e de pulmão. De acordo com Chen *et al.* (2017), o circPVT1 apresenta uma resistência à digestão à exonuclease RNase R devido a sua conformação circular. Além disso, o autor ressalta que este ncRNA é mais estável quando comparado com conformação linear do PVT1, devido a sua alta meia-vida de transcrição (superior a 24 horas), conseguindo assim promover a proliferação cancerosa em células dos tecidos gástricos. Quando este circRNA é silenciado, a partir da implementação de pequenos RNAs interferentes (siRNAs), a proliferação cancerosa é controlada e não se observa o evento de EMT.

A alta concentração de dados referentes à atuação do circPVT1 no câncer de pulmão se dá devido a verificação da expressão significativa deste RNA em diferentes tipos de linhagens celulares. De acordo com Qin *et al.* (2019), o circPVT1 pode ser verificado em cinco linhagens de câncer de pulmão de células não pequenas (H1299, H1650, A549, PC9 e SK-MES-1). Logo, pacientes que apresentaram alta expressão de circPVT1 obtiveram uma sobrevida reduzida quando comparados com pacientes com reduzida expressão de circPVT1.

Apesar de poucos estudos clínicos sobre a expressão deste RNA circular no câncer cervical terem sido realizados até o presente momento, já foi o suficiente para mostrar como o circPVT1 pode ser utilizado como um biomarcador de CC, devido a aceleração da metástase e processo de EMT estimuladas por este RNA (TABELA 4).

TABELA 4 - ESTUDOS QUE EXPUSERAM O ESTÁGIO TUMORAL

ESTÁGIO DA DOENÇA	PERCENTUAL DE ESTUDOS (%)
EMT	26%
METÁSTASE	11,90%

Legenda: EMT: Transição epitélio-mesenquimal. Fonte: A autora (2023).

A maioria dos estudos analisados avaliaram a sua expressão principalmente em linhagens celulares (C33A, HCC-94, HeLa e CASKI), sendo as linhagens C33A e CASKI as que apresentaram os maiores valores de expressão do circRNA, como mostrado no trabalho de Wang *et al.* (2020). Além de investigar o funcionamento deste ncRNA como um biomarcador de câncer cervical, a maioria dos

pesquisadores responsáveis pelos trabalhos de pesquisa clínica, efetuaram um teste de “*knockdown*”, uma espécie de silenciamento do RNA, nas mesmas amostras de células testadas para análise da expressão gênica, com o intuito de examinar uma potencial redução da expressão do circPVT1 nas células.

Em seu estudo Wang *et al.* (2020), mostraram que a técnica de *knockdown* reduziu a viabilidade, das células cancerosas, dessa maneira gerando uma alternativa de inibição do processo de metástase e proliferação para demais tecidos como a EMT de CC. Como a configuração linear, a versão circular do PVT1 também contribui para a resistência celular contra medicamentos quimioterápicos no câncer cervical. Conforme mencionado por Solati *et al.* (2023), o circPVT1 aumenta a resistência tumoral contra o paclitaxel, um dos principais fármacos utilizados no tratamento do câncer cervical, colaborando para a progressão tumoral. Outro fator bastante frequente, tanto nas revisões teóricas como nas pesquisas clínicas, é a investigação do mecanismo de esponjamento realizado pelo circPVT1. Dessa forma, todos os estudos clínicos avaliados, tanto para o CC quanto para outras neoplasias, mostraram que a proliferação cancerosa causada por este ncRNA está totalmente atrelada ao silenciamento de miRNAs supressores de tumor, gerado por este RNA circular.

Ghetti *et al.* (2020) menciona em sua revisão que ambas conformações do PVT1 atuam como esponjas de miRNAs, diferenciando-se apenas qual miRNA será silenciado e dependendo do tipo de câncer. Dessa forma, atuam regulando o metabolismo energético da célula, o metabolismo protéico e a aceleração do ciclo celular. Para o câncer cervical, alguns estudos reportaram que os miR-1286, miR-200b e miR-145 são silenciados em linhagens celulares para que ocorra a proliferação celular. Porém, segundo Tolomeo *et al.* (2021), ainda pouco se sabe sobre o esponjamento promovido pelo circPVT1 no câncer cervical, visto que a maioria dos trabalhos ainda está focalizado em estudar apenas o lncRNA PVT1.

4.6 Expressão do circPVT1 em vesículas extracelulares

Os exossomos são estruturas, com diâmetro de 40 a 160 nm, que atuam na transmissão de informações e funções biológicas. Estes subconjuntos de vesículas extracelulares, com dupla camada lipídica, são liberadas de forma ativa pela maior parte das células do organismo, de forma contínua nos fluidos biológicos (FIGURA

3). Estas estruturas podem ser identificadas por seus marcadores exossomais CD9, CD63, CD81 e ALIX (Li *et al.*, 2020). Os exossomos realizam atividade de transmissão e comunicação intracelular, logo, possuem um papel de suma importância em estudos de avaliação de tumorigênese, pois podem atuar diretamente no processo de metástase e quimiorresistência. Dependendo do conteúdo transportado por estas vesículas, proveniente das células parentais, as quais podem ser células normais ou tumorais, elas podem alterar o processo fisiológico natural tornando este um fenômeno patológico (Kalluri *et al.*, 2020). Em virtude disso, vários procedimentos já foram desenvolvidos ou estão em desenvolvimento para a utilização da biópsia líquida baseada em exossomos como biomarcadores tumorais (McKiernan *et al.*, 2016).

FIGURA 3 - BIOGÊNESE E COMPOSIÇÃO DOS EXOSSOMOS

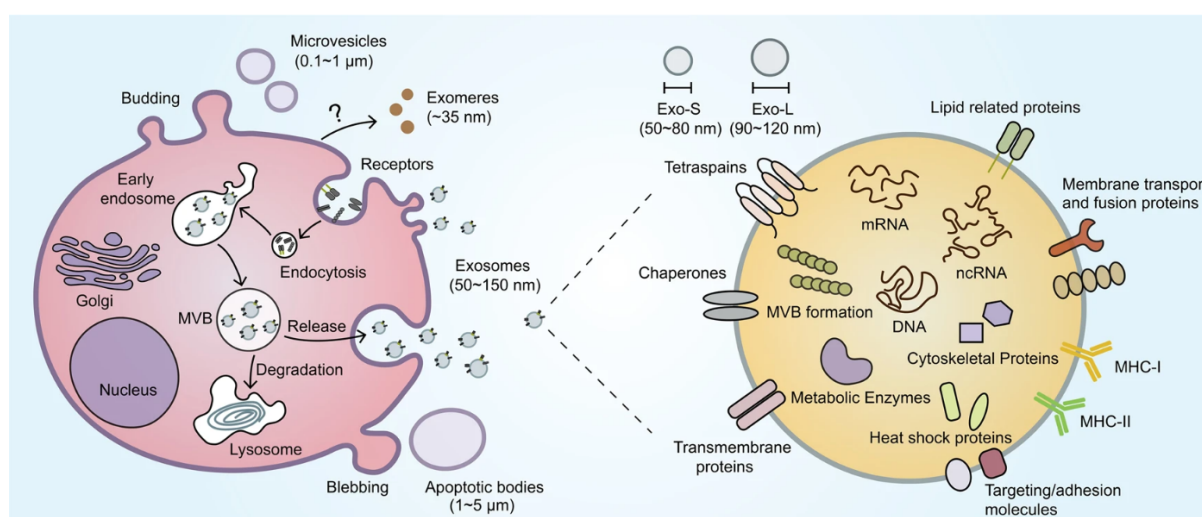


FIGURA 3. Biogênese e composição do exossomo. Por meio de invaginações da membrana plasmática formam-se os endossomos iniciais os quais se unem com outros compartimentos vesiculares e entre si, originando endossomos tardios que seguem pela via secretora ou pela degradativa. Estes quando amadurecidos geram corpos multivesiculares (MVE) junto a vesículas intraluminais. Essas estruturas se fundem aos lisossomos ou a membrana citoplasmática liberando exossomos no citoplasma, os quais contêm RNA mensageiros (mRNA), RNAs não codificantes (ncRNA), DNA, enzimas metabólicas, proteínas de choque térmico (*heat shock proteins*) e proteínas de citoesqueleto. Legenda: *Nucleus*: núcleo; *Budding*: brotamento; *early endosome*: endossomo primário; *endocytosis*: endocitose; *Degradation*: degradação; *Lysosome*: lisossomo; *Exosome*: exossomos; *Microvesicles*: microvesículas; *Exomeres*: exômeros; *Apoptotic bodies*: corpos apoptóticos; *Tetraspains*: tetraspaninas; *Chaperones*: chaperonas; *Transmembrane proteins*: proteínas transmembranas. Fonte: Adaptado de ZHOU (2020).

Exossomos provenientes de câncer cervical podem promover a progressão do câncer, a partir da inibição da atuação das células NK (*natural killers*). Como estas vesículas podem transportar diferentes tipos de cargas de forma intercelular,

dependendo do produto transportado, os exossomos podem aumentar os índices de metástase no câncer cervical em virtude do aumento do nível de EMT (Bebelman *et al.*, 2018; Kalluri *et al.*, 2020). Os exossomos operam como transmissores de informações intercelulares, distribuindo lipídios, circRNAs, lncRNAs, miRNAs, entre outros metabólicos (Zhang *et al.*, 2019). Devido a isso, os exossomos provenientes de células tumorais podem alterar a saúde do organismo, desenvolvendo imunossupressão, fibrose e infecções, induzindo a formação de microambientes pré-metastáticos, estimulando a imunossupressão, logo muitos ncRNAs regulam tumores via exossomos (Wang *et al.*, 2020).

A presença de lncRNA PVT1 em exossomos provenientes de mulheres com lesões precursoras e câncer cervical ainda não foram muito estudadas. Alguns estudos abordam a baixa expressão deste RNA em vesículas, mas o suficiente para promover um prognóstico. Em contrapartida, o circPVT1 apresenta uma elevada expressão em exossomos provenientes de fluidos biológicos de pacientes com câncer cervical, promovendo potenciais processos de invasão e migração e aumentando os índices de EMT (Ran *et al.*, 2022; Sánchez *et al.*, 2021). Essa predominância se dá pois, o circRNA está presente em quantidades significativas no sangue periférico e nos tecidos, em decorrência da sua maior resistência a exonuclease RNase R (Zeng *et al.*, 2021).

A partir dos estudos selecionados, foi possível avaliar a proporção de trabalhos clínicos que utilizaram fluidos biológicos (plasma, urina, secreção e soro) como forma de análise e diagnóstico e prognóstico de cânceres, para desenvolvimento da implementação de metodologias clínicas alternativas, com foco no câncer cervical (TABELA 5).

TABELA 5 - TIPOS DE FLUIDOS BIOLÓGICOS ANALISADOS EM ESTUDOS COM VESÍCULAS EXTRACELULARES

TIPO DE FLUIDO BIOLÓGICO	PERCENTUAL DE ESTUDOS (%)
Plasma	66,60%
Urina	20,80%
Secreção	4,10%
Soro	8,30%

Fonte: A autora (2023).

A utilização de plasma como fluido biológico experimental resultou no maior percentual de estudos com 66,60%, que investigaram a expressão positiva do circPVT1 em CC e outros cânceres. Seguido da urina com 20,8%, e soro com 8,30%. Apenas um estudo com 4,10%, tratou sobre a utilização de secreção vaginal para avaliação da atividade de circRNAs como biomarcadores de câncer cervical.

Análises utilizando vesículas extracelulares como forma de rastreio de doenças ainda são bastante reduzidas, como mostrado no resultado do descritor “circRNA PVT1 *vesicles*” o qual obteve resultados bastante restritos em apenas uma das plataformas utilizadas. Isso provavelmente se dá devido a obtenção de vesículas extracelulares é um processo bastante delicado e laborioso.

Devido a essa limitação, não foram encontrados muitos estudos que abordassem a utilização do circPVT1 em vesículas extracelulares como um potencial biomarcador. No entanto, os estudos encontrados transmitiram resultados instigantes. Na revisão de Zhang *et al.* (2022) ressaltou-se como os circRNAs podem intervir na comunicação intercelular e alterar o microambiente tumoral, quando empacotados, secretados e transportados por meio de vesículas extracelulares. Lin *et al.* (2023) mostraram resultados para a expressão positiva do circPVT1 em amostras de soro de pacientes com câncer gástrico, conferindo resistência tumoral à cisplatina.

Estudos que utilizaram amostras de plasma, para averiguar o circPVT1 como um potencial biomarcador de CC e outras condições, a partir de vesículas extracelulares, têm mostrado a eficiência deste ncRNA no diagnóstico de neoplasias, como o CC, a partir deste tipo de material biológico. Wang *et al.* (2020) isolaram amostras de plasma e urina de pacientes com CC e observou uma expressão positiva para o circPVT1 nas vesículas de ambas as amostras. Além disso, foi verificada a capacidade deste RNA circular não codificante de adentrar em outras células, como a C33A, e promover o EMT por via exosomal. Ran *et al.* (2022) ressaltaram que o circPVT1 pode apresentar mais chances de ser encontrado em vesículas de plasma de CC, quando comparado com a isoforma linear, devido a sua resistência contra mecanismos deletérios. Em suma, os estudos abordaram que a expressão gênica deste ncRNA pode ser verificada, de uma forma significativa, em amostras de plasma e urina de pacientes com CC. Em contrapartida, ainda não há estudos publicados sobre a expressão deste circRNA em vesículas de células de amostras teciduais de CC.

4.7 Biópsia líquida e o rastreo por vesículas extracelulares no câncer cervical

O desenvolvimento do CC está associado ao desenvolvimento de lesões cervicais, causadas principalmente pela infecção persistente por cepas oncogênicas do vírus do HPV (Santos *et al.*, 2023). O rastreamento de potenciais lesões intraepiteliais e a identificação do seu grau pode ser realizada a partir do exame Papanicolau. No entanto, apesar de ser um exame preciso e de baixo custo, a procura para a realização do exame citopatológico é baixa entre as mulheres (INCA, 2023). Foram realizados apenas 5.770.478 testes em 2021, comparados com o número de mulheres brasileiras de 25 a 64 anos (50.217.172) e de testes realizados na população alvo nos anos de 2016 (6.944.756) e 2018 (6.956.725) (INCA, 2022; IBGE, 2022). Muitas pacientes só realizam o preventivo depois de anos do início da atividade sexual, o Ministério da Saúde ressalta que o público prioritário para a realização do teste são principalmente mulheres de idade entre 25 e 64 anos a cada três anos, após dois exames consecutivos com resultados normais (Ferreira, 2009). Muitos fatores estão atrelados a esse índice reduzido, incluindo influências socioeconômicas, que afetam diretamente o acesso da paciente à saúde básica, falta de conhecimento e informações sobre a doença, crenças religiosas, vergonha ou medo de realizar o exame ou simplesmente indiferença por achar que o teste de maneira periódica não é necessário (Lopes *et al.*, 2017).

A lesão intraepitelial escamosa de alto grau (LIEAG) e lesões do tipo adenocarcinoma *in situ*, podem sofrer alterações e potencializar o desenvolvimento do CC. No entanto, não é somente a contaminação viral atrelada a formação das lesões precursoras que podem desenvolver o câncer cervical invasivo (CCI). Fatores como baixa imunidade, tabagismo, relações sexuais contínuas sem proteção, relação sexual precoce, uso de anticoncepcionais orais, multipariedade, junto a fatores intrínsecos ao hospedeiro como, sexo e idade, também podem promover o desenvolvimento do CC (Souza *et al.*, 2015; INCA, 2023). NIC I considerada como a neoplasia de menor grau, é responsável por promover a formação de lesões cervicais em cerca de um terço do colo do útero, na maioria das vezes, estas lesões regredem de forma espontânea. Entretanto, podem progredir

para NIC II se não forem acompanhadas periodicamente por um médico. Assim, é indicado que pacientes com NIC I realizem o exame de colposcopia e, a cada seis meses o exame Papanicolau (Derchain *et al.*, 2005).

A NIC II e NIC III são as neoplasias mais graves, pois geram a alteração de cerca de dois terços do colo do útero (NIC II) e alteração de quase toda a membrana da parede do colo do útero (NIC III), por isso devem ser tratadas imediatamente para que não ocorram alterações celulares que promovam o desenvolvimento de CC (FIGURA 4) (Basu *et al.*, 2018).

FIGURA 4 - HISTOLOGIA DAS LESÕES EPITELIAIS

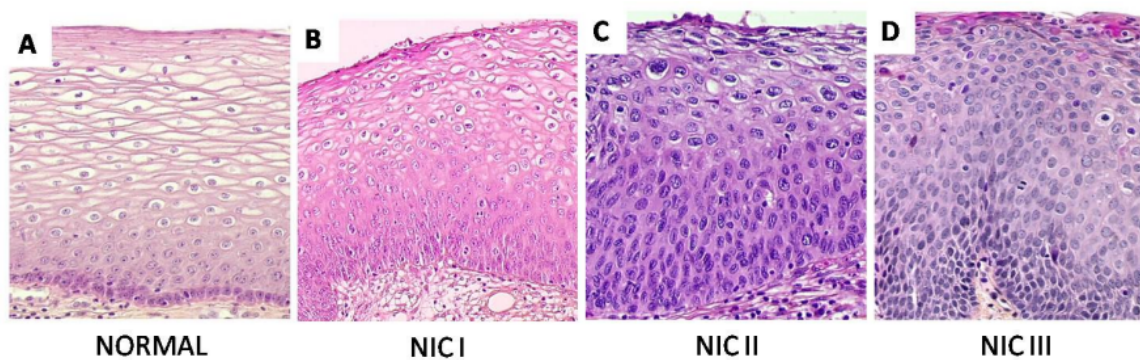


FIGURA 4. Histologia das lesões precursoras do câncer cervical em células escamosas. (A) retrata o tecido do epitélio escamoso normal. (B) neoplasia cervical de grau I, com uma alteração na região basal do epitélio com presença de coilócitos nas camadas superiores. (C) lesão NIC II, com uma maior desorganização basal do tecido (dois terços), já expondo uma determinada malignidade e infecção viral. (D) Reflete a elevada anormalidade celular em todo epitélio, junto a mitoses atípicas e típicas. Coloração de Hematoxilina-eosina (HE), aumento de 400x. Fonte: Adaptado de LOBATO (2011).

Mulheres que apresentem NIC II e NIC III invadindo mais de 1 cm do canal endocervical, devido às lesões extensas, deverão ser submetidas a realização de uma cirurgia de conização para retirada da ectocérvice e canal cervical. A transformação de NIC I a NIC III pode levar até dez anos, caso não seja acompanhada pelo ginecologista, pois todas as fases podem ser identificadas pelo exame citopatológico, caso seja realizado de forma periódica (EBSERH, 2022). As principais condutas para pacientes que apresentem NIC II e NIC III são: realização de colposcopia e preventivo regularmente a cada seis meses, eletrocauterização das lesões ou a realização de cirurgia por ondas de alta frequência (CAF), se as lesões já estiverem invadindo o canal endocervical (Mount *et al.*, 2003; Lobato, 2011). No campo da citologia cervical, são utilizadas para denominar os níveis de

lesão cervical, as nomenclaturas: Lesão Intraepitelial Escamosa de Baixo Grau e de Alto Grau (LIEBG - NIC I e LIEAG - NIC II e NIC III, respectivamente), referência do sistema de terminologia Bethesda atualizadas em 2001.

As infecções cervicais de baixo grau (LIEBG) são caracteristicamente pequenas, com células proliferantes com ausência de atipias significativas, presentes principalmente no terço basal do epitélio cervical, relacionadas a maturação com células com presença de atipias coilocitóticas nas camadas mais superficiais, logo a citologia do tecido é na sua maior parte insensível, assim nem todas as lesões são identificadas e muitas acabam regredindo espontaneamente, devido ao baixo risco biológico (Solomon *et al.*, 2002; Waxman *et al.*, 2014). Por outro lado, se não forem tratadas, podem desenvolver lesões persistentes de alto grau (LIEAG), atuantes na potencial propagação pré-câncer, pois são as lesões que possuem maior potencial para progredirem para o câncer cervical de forma mais rápida, por ser uma lesão proliferativa de células epiteliais de alto índice de desorganização celular, baixa polaridade, alta quantidade de atipias e divisão celular descontrolada, promovendo a perda da maturação epitelial e redução da presença de atipias coilocitóticas (Lima *et al.*, 2012). Por isso, o diagnóstico, tratamento (sendo nestes casos a cirurgia de alta frequência (CAF) a mais recomendada) e acompanhamento rotineiro com o ginecologista é de suma importância para evitar o desenvolvimento do câncer (Ramos *et al.*, 2013).

Apesar da biópsia sólida de tecido ainda ser a metodologia mais utilizada para o diagnóstico do câncer, atualmente muitos estudos apontam algumas limitações desta técnica, visto que esta não demonstra no pequeno fragmento de tecido extraído a heterogeneidade tumoral ou a progressão do câncer. Além disso, é um método invasivo, consequentemente o nível de metástase pode ser aumentado após o procedimento (Li *et al.*, 2020).

Dessa forma, a biópsia líquida atualmente tem se destacado pelas suas vantagens: é um método menos invasivo, de fácil acesso e coleta das amostras (fluidos biológicos como sangue e urina) e permite o monitoramento do câncer mais preciso e dinâmico (Wu *et al.*, 2023). A biópsia líquida fornece acesso às informações genéticas de doenças, a partir da avaliação de células tumorais circulantes (CTCs), DNA tumoral circulantes (ctDNA) e vesículas extracelulares (VEs), neste caso com foco nos exossomos presentes nos fluidos biológicos (Cai *et al.*, 2015) (FIGURA 5). Com isso, esta nova metodologia pode aumentar a adesão

das pacientes para a realização de exames rotineiros, pois muitas delas, por medo ou insegurança do processo, acabam não aderindo ao procedimento da biópsia tecidual favorecendo o desenvolvimento do câncer e dificultando o tratamento (Wu *et al.*, 2023), ainda mais no caso do CC, no qual o exame ginecológico é um dos obstáculos.

FIGURA 5 - PRINCÍPIOS DA BIÓPSIA LÍQUIDA COMO POTENCIAIS BIOMARCADORES

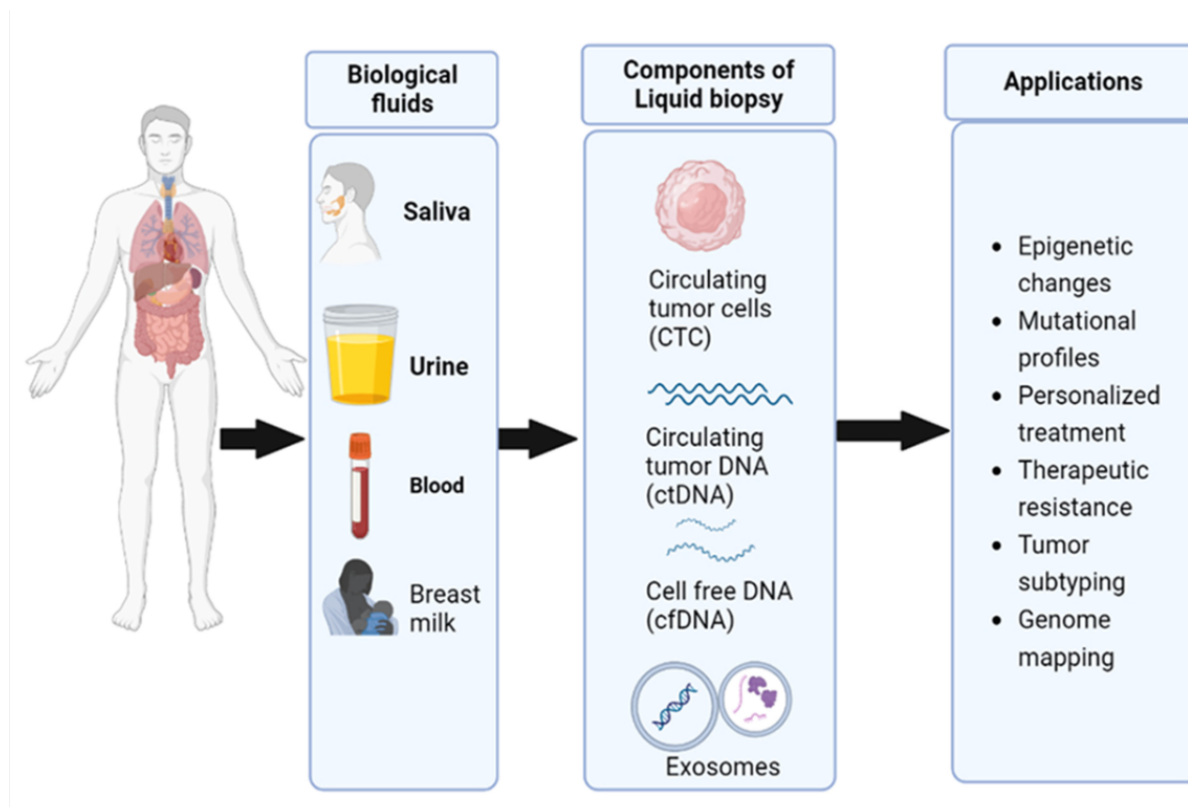


FIGURA 5. Exossomos, CTCs, ctDNA, cfDNA como potenciais biomarcadores de doenças. Exossomos provenientes de vesículas extracelulares podem ser usados no diagnóstico e monitoramento de doenças como o câncer, a partir da análise do material genético (DNA, RNA e micro RNA (miRNA)) e proteínas presentes em fluidos biológicos como plasma, urina, secreções, soro, saliva e leite materno. Legenda: *Urine*: urina; *blood*: sangue; *breast milk*: leite materno; *circulating tumor cells*: células tumorais circulantes; *circulating tumor DNA*: DNA circulante tumoral; *cell free DNA*: DNA livre de células; *exosomes*: exossomos; *epigenetic changes*: mudanças epigenéticas; *mutational profiles*: perfis mutacionais; *personalized treatment*: tratamento personalizado; *therapeutic resistance*: resistência terapêutica; *tumor subtyping*: subtipagem tumoral; *genome mapping*: mapeamento do genoma. Fonte: Adaptado de SISODIYA (2022).

Arruda (2021) discute que o plasma pode substituir o uso dos tecidos, por ser um material que pode conter DNA tumoral livre de células (ctDNA) derivado de um tumor. No presente, muitos estudos já foram produzidos para análise do diagnóstico do HPV e CC utilizando a biópsia líquida, por meio de diferentes biomarcadores. Sharma *et al.* (2019) utilizaram a proteína HMGB1, como biomarcador de CC a

partir de amostras de plasma e verificou a expressão positiva desta no desenvolvimento tumoral. Já Tang *et al* (2020) demonstraram a eficiência do CircFox03a como um biomarcador de CC escamoso, devido à presença significativa deste em amostras de soro. Por outro lado, Wang *et al* (2020) observaram uma expressão positiva do circPVT1 em amostras de urina e plasma periférico de pacientes com CC.

A quantidade de vesículas nos fluidos biológicos é de suma importância para diagnóstico e prognóstico eficientes, alguns autores ressaltam que o número de VEs no sangue pode aumentar durante um câncer (Vasconcelos *et al.*, 2019; Duijvesz *et al.*, 2016). Em seu trabalho Vasconcelos (2019) discutiu que essas estruturas, provenientes de células cancerosas, promovem o aumento da resistência às terapias, desencadeando a propagação tumoral, estimulando o estágio de EMT e gerando estágios pré-metastáticos.

No entanto, os estudos de biópsia líquida acerca do câncer cervical, ainda estão muito focados na identificação de ctDNA das variantes oncogênicas do HPV, devido a eficácia deste método para monitorar a resposta das pacientes à terapia contra o CC. Além disso, análises envolvendo as vesículas extracelulares são bastante limitadas, em decorrência da reduzida quantidade de estudos clínicos publicados, mesmo com a evidência indiscutível da colaboração das VEs derivadas de células cancerosas na progressão tumoral.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Conclui-se que a alta incidência e letalidade do câncer cervical em mulheres sexualmente ativas, principalmente em regiões mais vulneráveis — países subdesenvolvidos ou em desenvolvimento, como o Brasil —, ressaltam a falta de metodologias efetivas de rastreio, acompanhamento e tratamento de pacientes com esta neoplasia. O CC pode ser identificado e tratado com o diagnóstico precoce, a partir do exame preventivo, no entanto, a adesão a este exame pelas pacientes é baixa, devido a diferentes fatores.

A revisão integrativa da literatura foi eficaz em apresentar trabalhos acerca do objetivo proposto, sendo viável a categorização dos estudos. A partir dos estudos avaliados foi possível mensurar a aplicabilidade do circPVT1 como um biomarcador de câncer cervical a partir de vesículas extracelulares.

O gene *PVT1* é bastante investigado devido ao seu papel no câncer. A isoforma circular deste RNA (circPVT1) entrou em foco após a verificação de uma expressão positiva deste em células de câncer gástrico em 2014. Após esse evento, mais estudos clínicos acerca da investigação da atuação deste circRNA em neoplasias foram desenvolvidos. Verificou-se que o circPVT1 atua como uma esponja em diferentes tipos de miRNAs, silenciando-os e consequentemente gerando a proliferação celular e principalmente induzindo o estado de EMT e metástase, resultado também verificado no câncer cervical. Os estudos analisados provaram que o silenciamento do circPVT1 pode ser utilizado para inibir a resistência tumoral aos medicamentos utilizados.

Estudos mostraram que o uso de metodologias alternativas de diagnóstico menos invasivas, como a biópsia líquida, possuem alta eficácia no diagnóstico e prognóstico de neoplasias. As vesículas extracelulares podem ser utilizadas como métodos de monitoramento da evolução tumoral. Até o momento, poucos estudos investigaram o circPVT1 em exossomos provenientes de células tumorais de câncer cervical, no entanto já expuseram o potencial papel de biomarcador deste RNA, principalmente em plasma sanguíneo e urina. Apesar de poucas evidências da sua utilidade como biomarcador de câncer cervical, em amostras teciduais e vesiculares, o circPVT1 tem real potencial para ser utilizado como biomarcador de CC, visto que estes resultados incentivam maiores investigações a respeito desse RNA. Frente a isso, ainda é necessário desenvolver mais pesquisas para averiguar os mecanismos de ação do circPVT1 em vesículas extracelulares de CC e de lesões pré-cancerosas.

REFERÊNCIAS

ALMEIDA, Simoneide de Souza Titze; ALMEIDA, Ricardo Titze. Progress in circRNA-Targeted Therapy in Experimental Parkinson's Disease. **Pharmaceutics**, v. 15, n. 8, p. 2035–2035, 2023.

ADHIKARY, Jayashere; CHAKRABORTY, Sourabrata; DALAL, Subhamita; *et al.* Circular PVT1: an oncogenic non-coding RNA with emerging clinical importance. **Journal of Clinical Pathology**, v. 72, n. 8, p. 513–519, 2019.

ARRUDA, Leticia de Mattos; SIRAVEGNA, Giulia. How to use liquid biopsies to treat patients with cancer. **ESMO Open**, v. 6, n. 2, p. 100060–100060, 2021.

ATAIDES; Monique Cezimbra; MEZZOMO, Lisiane Cerveri; CALIL, Luciane Noal. Infecção pelo HPV na região Sul do Brasil: uma revisão integrativa da literatura. **Revista Baiana de saúde pública**. v. 45, n. 4, p. 206–223, 2023.

BASU, Partha; TAGHAVI, Katayoun; *et al.*, Management of cervical premalignant lesions. **Current Problems in Cancer**. v. 42, n. 2, p. 129–136, 2018.

BARBOSA, Isabelle Ribeiro; *et al.* Desigualdades regionais na mortalidade por câncer de colo de útero no Brasil: tendências e projeções até o ano 2030. **Ciência e Saúde Coletiva**. v. 21, n. 1, p. 253–262, 2016.

BEBELMAN, Maarten P; SMIT, Martine J; D. MICHIEL PEGTEL; *et al.* Biogenesis and function of extracellular vesicles in cancer. **Pharmacology and therapeutics**. v. 188, p. 1–11, 2018.

BLANES, Simone. **Nova vacina para HPV, que chega ao Brasil, garante 90% de proteção**. VEJA. São Paulo, 3 de mar. 2023

BRASIL, Ministério da Saúde. Vacina HPV quadrivalente é ampliada para homens de até 45 anos com imunossupressão. **Gov.br**. Brasília, DF, 2022.

BU, Nan; ZHENG, Dong; ZHANG, Lingfeng; *et al.* CircPVT1 Regulates Cell Proliferation, Apoptosis and Glycolysis in Hepatocellular Carcinoma via miR-377/TRIM23 Axis. **Cancer management and research**, v. Volume 12, p. 12945–12956, 2020.

CAI, Xuyu; JANKU, Filip; ZHAN, Qimin; *et al.* Accessing Genetic Information with Liquid Biopsies. **Cellpress**. v. 31, n. 10, p. 564–575, 2015.

CAFFORIO, Paola; PALMIROTTA, Raffaella; LOVERO, Domenica; *et al.* Liquid Biopsy in Cervical Cancer: Hopes and Pitfalls. **Cancers**, v. 13, n. 16, p. 3968–3968, 2021.

CARVALHO, Newton Sérgio de; SILVA, Roberto José de Carvalho da; VAL, Isabel Cristina do; *et al.* Protocolo Brasileiro para Infecções Sexualmente Transmissíveis

2020: infecção pelo papilomavírus humano (HPV). **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, v. 30, n. spe1, 2021.

CASTRO, Letícia Ferreira. **Exame papanicolau: o conhecimento das mulheres sobre o preventivo e as estratégias do PSF no combate ao câncer de colo de útero**. 2017. 20.f. Trabalho de conclusão de curso. Universidade Federal de Minas Gerais, Minas Gerais, 2017.

CHEN, Jie; LI, Yan; ZHENG, Qiuling; *et al.* Circular RNA profile identifies circPVT1 as a proliferative factor and prognostic marker in gastric cancer. **Cancer Letters**, v. 388, p. 208–219, 2017.

DB, Patologia. **Instruções de coleta para o exame Papanicolau convencional e meio líquido**. 2022

DERCHAIN, Sophie Françoise Mauricette; *et al.* Neoplasia intra-epitelial cervical: diagnóstico e tratamento. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**. v. 27, n. 7, 2005.

DONG, Junxue; SU, Manman; CHANG, Weiqin; *et al.* Long non-coding RNAs on the stage of cervical cancer. **Oncology reports**. v. 38, n. 4, p. 1923–1931, 2017.

DONTHU, Naveen; KUMAR, Satish; MUKHERJEE, Debmalya; *et al.* How to conduct a bibliometric analysis: An overview and guidelines. **Journal of Business Research**, v. 133, p. 285–296, 2021.

DUIJVESZ, Diederick; VERSLUIS, Cees; *et al.* Immuno-based detection of extracellular vesicles in urine as diagnostic marker for prostate cancer. **International Journal of Cancer**, v. 137, n. 12, p. 2869–2878, 2015.

EBSERH. Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Triângulo Mineiro. Unidade de Regulação Assistencial. **Diagnóstico e Conduta na Neoplasia Intraepitelial Cervical**. 2022.

Fedrizzi EN. Epidemiologia da infecção genital pelo HPV. *Revista Bras Pat Trato Gen*; v.1, p.3-8, 2011

FERREIRA, Maria de Lourdes da Silva Marques. Motivos que influenciam a não-realização do exame de papanicolaou segundo a percepção de mulheres. **Escola Anna Nery**. v. 13, n. 2, p. 378–384, 2009.

GHAFOURI-FARD, Soudeh; KHOSHBAKHT, Tayyeb; TAHERI, Mohammad; *et al.* A Concise Review on the Role of CircPVT1 in Tumorigenesis, Drug Sensitivity, and Cancer Prognosis. **Frontiers in Oncology**, v. 11, 2021.

GHETTI, Martina; VANNINI, Ivan; CLELIA TIZIANA STORLAZZI; *et al.* Linear and circular PVT1 in hematological malignancies and immune response: two faces of the same coin. **Molecular Cancer**, v. 19, n. 1, 2020.

GHETTI, Martina; VANNINI, Ivan; BOCHICCHIO, Maria Teresa; *et al.* Uncovering the expression of circPVT1 in the extracellular vesicles of acute myeloid leukemia patients. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 165, p. 115235–115235, 2023.

Gomes LC, Pinto MC, Reis BJ, Silva DS. Epidemiologia do câncer cervical no Brasil: uma revisão integrativa. **J. nurs. health**. 2022.

GUERRA, B.S; LIMA, J D; *et al.* Biogenesis of circular RNAs and their role in cellular and molecular phenotypes of neurological disorders. **Seminars in Cell & Developmental Biology**, v. 114, p. 1–10, 2021.

HE, Jiaying; HUANG, Bingyu; ZHANG, Kun; *et al.* Long non-coding RNA in cervical cancer: From biology to therapeutic opportunity. **Biomedicine & pharmacotherapy**, v. 127, p. 110209–110209, 2020.

HPV INFORMATION CENTRE - ICO/IARC; **Human papillomavirus and Related Diseases Report**. China: ICO/IARC 2023.

HUANG, Xueying; YANG, Zhiping; ZHANG, Jinning; *et al.* A Bibliometric Analysis Based on Web of Science: Current Perspectives and Potential Trends of SMAD7 in Oncology. **Frontiers in Cell and Developmental Biology**, v. 9, 2022.

INSTITUTO NACIONAL DE CâNCER JOSÉ ALENCAR GOMES DA SILVA (INCA). **Câncer do colo do útero**. Rio de Janeiro: INCA, 2023.

INSTITUTO NACIONAL DE CâNCER JOSÉ ALENCAR GOMES DA SILVA (INCA). **Dados e números sobre câncer do colo de útero - Relatório Anual de 2022**. Rio de Janeiro: INCA, 2022.

INCA - Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva. Coordenação de Prevenção e Vigilância. **Diretrizes brasileiras para o rastreamento do câncer do colo do útero** / Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva. Coordenação de Prevenção e Vigilância. Divisão de Detecção Precoce e Apoio à Organização de Rede. 2. ed. rev. atual. Rio de Janeiro, 2016.

INSTITUTO NACIONAL DE CâNCER JOSÉ ALENCAR GOMES DA SILVA (INCA). **Exames Citopatológicos do colo de útero realizados pelo SUS**. INCA, 2022.

LI, Hanlin. circRNA: a promising all-around star in the future. **Epigenomics**, v. 15, n. 12, p. 677–685, 2023.

LI, Shiyu; YI, Ming; DONG, Bing; *et al.* The role of exosomes in liquid biopsy for cancer diagnosis and prognosis prediction. **International Journal of Cancer**. v. 148, n. 11, p. 2640–2651, 2020.

LIMA, Dayse Nunes de Oliveira; *et al.* Caderno de referência 1: Citopatologia Ginecológica. Ministério da Saúde, **CEPESC** 194p. Rio de Janeiro, 2012.

LU, Dapeng; LUO, Peng; WANG, Qi; *et al.* lncRNA PVT1 in cancer: A review and meta-analysis. **Clinica Chimica Acta**, v. 474, p. 1–7, 2017.

KALLURI, Raghu; VALERIE, S LeBleu. The biology, function, and biomedical applications of exosomes. **Science** vol. 367, p. 6478, 2020.

KULCHESKI, Franceli Rodrigues; CHRISTOFF, Ana Paula; MARGIS, Rogério. Circular RNAs are miRNA sponges and can be used as a new class of biomarker. **Journal of Biotechnology**, v. 238, p. 42–51, 2016.

MA, Han-Bo; YAO, Yi-Nan; YU, Jin-Jun; *et al.* Extensive profiling of circular RNAs and the potential regulatory role of circRNA-000284 in cell proliferation and invasion of cervical cancer via sponging miR-506. **American journal of translational research**, v. 10, n. 2, p. 592–604, 2018.

MCKIERNAN, James; DONOVAN, Michael; *et al.* A Novel Urine Exosome Gene Expression Assay to Predict High-grade Prostate Cancer at Initial Biopsy. **Jama Oncology**. v. 2, n. 7, p. 882–882, 2016.

Mount SL, Evans MF, Wong C, Cooper K. Human Papillomavirus-Induced Lesions of cervix. A review and update on the grading of cervical dysplasia. **Pathology Case Review**. 2003; 8(4):145-151.

MUTHURAMALINGAM, M R ; MURALEEDHARAN, V R. Patterns in the prevalence and wealth-based inequality of cervical cancer screening in India. **BMC Women's Health**, v. 23, n. 1, 2023.

OLIVEIRA, Nayara Priscila Dantas; *et al.* Completeness of cervical cancer staging information in Brazil: A national hospital-based study. **Cancer epidemiology**. v. 79, p. 102191–102191, 2022.

QIN, Si; ZHAO, Yue; LIM, Gwanyong; *et al.* Circular RNA PVT1 acts as a competing endogenous RNA for miR-497 in promoting non-small cell lung cancer progression. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 111, p. 244–250, 2019.

RAMOS, E. **A importância do teste de captura híbrida 2 no acompanhamento de pacientes tratadas por lesão intraepitelial cervical de auto grau**. 2013. 71 f. Dissertação (Mestrado em Patologia Humana) - Universidade Federal da Bahia. Centro de Pesquisa Gonçalo Muniz, Salvador, 2013.

RAN, Zihan; WU, Shaobo; MA, Zijng; *et al.* Advances in exosome biomarkers for cervical cancer. **Cancer Medicine** v. 11, n. 24, p. 4966–4978, 2022.

SÁNCHEZ, Victor Acevedo; *et al.*, Extracellular Vesicles in Cervical Cancer and HPV Infection. **Membranes**, v. 11, n. 6, p. 453–453, 2021.

SANTOS, Gerusinete Rodrigues Bastos dos, *et al.*, HPV 18 variants in women with cervical cancer in Northeast Brazil. **The brazilian Journal of infectious diseases**. v. 27, n. 1, p. 102734–102734, 2023.

SHARMA, Alpana; KHAN, Rehan; GUPTA, Nupur; *et al.* EP1130 Clinical significance of autophagy related molecules in liquid biopsy of cervical cancer. **International Journal of Gynecologic Cancer**. 2019.

SHEN, Xiu; CHENG, Yiquan; REN, Fupeng; *et al.* The burden of cervical cancer in China. **Frontiers in Oncology**, v. 12, 2022.

SHEN, Ching-Ju *et al.* “LncRNA PVT1 epigenetically silences miR-195 and modulates EMT and chemoresistance in cervical cancer cells.” **Journal of drug targeting**. v. 25, n.7, p.637-644. doi:10.1080/1061186X.2017.1307379

SILVA, Abreu; SOARES, Angela Maria; DIEMACK, Alle. Conhecimento e percepção sobre o HPV na população com mais de 18 anos da cidade de Ipatinga, MG, Brasil. **Ciência e Saúde coletiva**. v. 23, n. 3, p. 849–860, 2018.

SISODIYA, Sandeep; KASHERWAL, Vishakha; *et al.* Liquid Biopsies: Emerging role and clinical applications in solid tumours. **Translational Oncology**, v. 35, p. 101716–101716, 2023.

SOLATI, Arezoo; THVIMI, Sina; KHATAMI, Seyyed Hossein; *et al.* Non-coding RNAs in Gynecologic Cancer. **Clinica Chimica Acta**, v. 551, p. 117618–117618, 2023.

Solomon D, Davey D, Kurman R, Moriarty A, O'Connor D, Prey M *et al.* The 2001 Bethesda System: terminology for reporting results of cervical cytology. **JAMA**. v.16 2002

SOUZA, Glaucia da Conceição Silva; *et al.* Papilomavírus Humano: biologia viral e carcinogênese. **Femina**. v. 43, n 4. 2015.

TANG, Xiaoyan; LIU, Songping; DING, Yan; *et al.* Serum Circular FoxO3a Serves as a Novel Prognostic Biomarker in Squamous Cervical Cancer. **Cancer management and research**, v. Volume 12, p. 2531–2540, 2020.

TEIXEIRA, Júlio César; VALE, Diama Bhadra; *et al.* Organization of cervical cancer screening with DNA–HPV testing impact on early–stage cancer detection: a population–based demonstration study in a Brazilian city. **The Lancet Regional Health - Americas**, v. 5, p. 100084–100084, 2022.

TOBER, Markus. PubMed, ScienceDirect, Scopus or Google Scholar – Which is the best search engine for an effective literature research in laser medicine? **Medical Laser Application**, v. 26, n. 3, p. 139–144, 2011.

TOLOMEO, Doron; AGOSTINI, Antonio; GRAZIA VISCI; *et al.* PVT1: A long non-coding RNA recurrently involved in neoplasia-associated fusion transcripts. **Gene** v. 779, p. 145497–145497, 2021.

VASCONCELOS, Helena; CAIRES, Hugo; *et al.* Extracellular vesicles as a novel source of biomarkers in liquid biopsies for monitoring cancer progression and drug resistance. **Drug Resistance Updates**, v. 47, p. 100647–100647, 2019.

WANG, Xuemei; GU, Yu; ZHANG, Leichao; *et al.* Long noncoding RNAs regulate intrauterine adhesion and cervical cancer development and progression. **Seminars in cell e developmental Biology**. v.150-151, 2023.

WAXMAN, Alan D; CHELMOW, David; *et al.*, Revised Terminology for Cervical Histopathology and Its Implications for Management of High-Grade Squamous Intraepithelial Lesions of the Cervix. **Obstet Gynecol**. v. 120, n. 6, p. 1465–1471, 2012.

WENDLAND, Eliana Marcia; *et al.* Effectiveness of a universal vaccination program with an HPV quadrivalent vaccine in young Brazilian women. **Vaccine**, v. 39, n. 13, p. 1840–1845, 2021.

WU, Fang; ZHU, Yiping; ZHOU, Caiping; *et al.* Regulation mechanism and pathogenic role of lncRNA plasmacytoma variant translocation 1 (PVT1) in human diseases. **Gene e diseases**, v. 10, n. 3, p. 901–914, 2023.

ZHANG, Xue-Ping; PEI, Jun-Peng; ZHANG, Chundong; *et al.* Exosomal circRNAs: A key factor of tumor angiogenesis and therapeutic intervention. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 156, p. 113921–113921, 2022.