



INSTITUTO SUPERIOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE EGAS MONIZ

MESTRADO INTEGRADO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

VACINAÇÃO CONTRA PAPILOMAVÍRUS: UMA REVISÃO

Trabalho submetido por
Sara Isabel Domingos Guerreiro
para a obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas

novembro de 2016



INSTITUTO SUPERIOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE EGAS MONIZ

MESTRADO INTEGRADO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

VACINAÇÃO CONTRA PAPILOMAVÍRUS: UMA REVISÃO

Trabalho submetido por
Sara Isabel Domingos Guerreiro
para a obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas

Trabalho orientado por
Prof.^a Doutora Perpétua Gomes

novembro de 2016

*“You never fail until
you stop trying.”
(Albert Einstein)*

Agradecimentos

À Prof.^a Doutora Perpétua Gomes, agradeço sinceramente toda a dedicação, orientação e o enorme apoio prestado. Obrigada por ter sempre presente o seu discurso convincente com capacidade de motivar e suscitar o interesse de qualquer um. Obrigada por tudo.

À minha mãe, Marília, é caso para dizer que “Há coisas que nunca se poderão explicar por palavras.” E esta é uma delas. Obrigada simplesmente por seres a mãe que és, por acreditares sempre em mim e por fazeres os possíveis e os impossíveis para eu seguir os meus sonhos. Um gigante obrigada não é suficiente nem nunca será.

Ao meu pai, Luís, por toda a ajuda, confiança, por acreditar sempre no meu sucesso e que a minha educação era uma das maiores prioridades. Estou infinitamente grata.

À Soraia, por todo o companheirismo, por acreditar em mim, nunca me deixar desistir e me fazer ver que eu não era incapaz de nada. Obrigada por me acompanhares sempre, sem qualquer tipo de receios, por todos os teus esforços para que tudo fosse sempre mais fácil, por me aturares, por toda a tua força e apoio incondicional, e por me teres proporcionado os melhores e mais felizes momentos desta fase da minha vida. Obrigada pela pura e genuína amizade!

Ao Ricardo, agradeço toda a paciência e principalmente, por ter sido incansável em quase todas as etapas deste meu percurso. Obrigada pelo carinho, por acreditares e depositares toda a tua confiança em mim e por me fazeres sentir mais forte do que eu, por vezes, penso que sou.

A todos os meus restantes amigos, aos de sempre e aos mais recentes, agradeço toda a força e motivação, e por me incentivarem tanto a nunca baixar os braços.

Resumo

Ao longo dos últimos anos, e devido ao avanço da tecnologia científica, tem-se adquirido cada vez mais conhecimentos acerca do Papilomavírus humano (HPV). É considerado um dos vírus mais influentes da atualidade, tendo em conta a enorme variedade de genótipos que se tem vindo a identificar e caracterizar, já excedendo 150 diferentes, responsáveis por causar infeções tanto benignas como malignas.

Os estudos desenvolvidos ao longo dos últimos anos permitiram sustentar a ideia de que o HPV é o principal responsável pelos casos de cancro do colo do útero existentes, a infeção sexualmente transmissível mais preocupante e mais comum dos últimos tempos.

Posto isto, tornou-se imprescindível procurar um método preventivo, como a vacinação, para diminuir a taxa de incidência das infeções causadas pelo HPV. A vacinação é um tipo de imunização ativa que estimula o sistema imunitário. Aplica princípios imunológicos na medida em que utiliza preparações imunogénicas capazes de induzir respostas imunes em indivíduos, ainda que de modo artificial, sustentada pela criação de uma memória imunológica.

O vírus é composto por proteínas estruturais essenciais de revestimento, das quais a proteína L1 é utilizada para o desenvolvimento das vacinas. Estas vacinas têm por base a formação de pequenas cápsulas que se assemelham a um vírus, chamadas *virus-like particles* (VLPs), que depois são expressas num sistema de expressão utilizando uma tecnologia de DNA recombinante.

Atualmente, existem três vacinas profiláticas disponíveis contra o papilomavírus: a quadrivalente (Gardasil), eficaz contra os tipos HPV6, HPV11, HPV16 e HPV18; a bivalente (Cervarix), que cobre apenas os tipos HPV16 e HPV18; e a 9-valente (Gardasil 9) que abrange os mesmos tipos da vacina quadrivalente, mais o HPV31, HPV33, HPV45, HPV52 e HPV58.

PALAVRAS-CHAVE: Papilomavírus humano, Infeções, Cancro do colo do útero, Vacinação, *Virus-like particles*

Abstract

Over the last years, and due the progression of scientific technology, the knowledge about the Human papillomavirus (HPV) has increased. It is one of the most influential virus in the modern days, having in consideration the huge variety of genotypes which has been identified and characterized, exceeding 150 kinds, and all of them can cause benign or malignant infections.

The studies developed in the last years have shown that HPV is the main cause for cervical cancer, this infection sexually transmitted it is the more worrying and common lately.

For this reason, looking for preventive method is now essential, like the vaccination, to decrease the occurrence of HPV infection rates. Vaccination is a kind of active immunization which stimulate the immune system. It is applied immunological principles which will use immunological preparations with capabilities to induce immune responses in subjects, but in an artificial mode, supported by an immunological memory creation.

The virus is comprised by revetment essential structural proteins, where the L1 protein is used for the vaccination development. Virus-like particles (VLPs) are the small capsules similar to virus that are on the basis of the vaccine, those particles then are expressed by an expression system using a recombinant DNA technology.

At the present time, there are available three prophylactic vaccines against to papillomavirus: the quadrivalente (Gardasil), really effective to HPV6, HPV11, HPV16 and HPV18 types; the bivalent (Cervarix) that cover only HPV16 and HPV18; and the 9-valent (Gardasil 9) that include the same types of quadrivalent vaccine, plus HPV31, HPV33, HPV45, HPV52 and HPV58.

KEYWORDS: Human papillomavirus, Infections, Cervical cancer, Vaccination, Virus-like particles

Índice Geral

Índice de Figuras.....	5
Índice de Tabelas.....	6
Lista de Abreviaturas.....	7
1. INTRODUÇÃO	9
2. O PAPILOMAVÍRUS	13
2.1. Estrutura e características	13
2.2. Taxonomia	15
2.3. Ciclo de replicação viral	18
3. PATOLOGIAS ASSOCIADAS AO HPV.....	21
3.1. Verrugas cutâneas	21
3.1.1. Verrugas plantares	22
3.1.2. Verrugas comuns	22
3.1.3. Verrugas planas e intermédias	23
3.2. Epidermodisplasia <i>verruciformis</i>	23
3.3. Papilomatose respiratória recorrente	24
3.4. Condiloma <i>acuminatum</i>	24
3.5. Cancro da orofaringe	25
3.6. Cancro do ânus ou neoplasia intraepitelial anal (NIA)	25
3.7. Cancro do colo do útero ou neoplasia intraepitelial cervical (NIC).....	26
4. VACINAÇÃO.....	29
4.1. Enquadramento histórico	29
4.2. Resposta imunológica.....	30
4.3. Desenvolvimento de vacinas.....	33
4.4. Vacinação contra papilomavírus	35
4.4.1. Gardasil, a vacina quadrivalente.....	38
4.4.2. Cervarix, a vacina bivalente	39
4.4.3. Gardasil 9, a vacina 9-valente.....	40
4.4.4. Análise crítica	41
5. CONCLUSÃO.....	45
Bibliografia.....	47

Índice de Figuras

Figura 1 – Representação esquemática do genoma do vírus HPV16 contendo as suas três regiões funcionais.....	14
Figura 2 – Tipos de papilomavírus agrupados nos cinco géneros.....	17
Figura 3 – Ciclo de replicação do vírus HPV.....	19
Figura 4 – Progressão do cancro do colo do útero após infeção por HPV.....	26
Figura 5 – Cronologia histórica do desenvolvimento da vacina, com destaque ao aparecimento das primeiras duas vacinas para o HPV, em 2006 e 2009, respetivamente.....	30
Figura 6 – O sistema imunitário e os seus níveis de defesa	32

Índice de Tabelas

Tabela I - Tipos de papilomavírus e associação às doenças respectivas	28
Tabela II – Características das três vacinas contra o papilomavírus humano.....	44

Lista de Abreviaturas

ACIP – *Advisory Committee on Immunization Practices*

AIM – Autorização de Introdução no Mercado

APCs – Células apresentadoras de antígeno (*antigen-presenting cells*)

CDs – Células dendríticas

DNA – Ácido desoxirribonucleico (*deoxyribonucleic acid*)

EMA - *European Medicines Agency*

EUA – Estados Unidos da América

EV – *Epidermodisplasia verruciformis*

FDA – *Food and Drug Administration*

HPV – Papilomavírus humano (*human papillomavirus*)

HSIL – Lesão intraepitelial escamosa de alto grau (*high-grade squamous intraepithelial lesion*)

LSIL – Lesão intraepitelial escamosa de baixo grau (*low-grade squamous intraepithelial lesion*)

NIC – neoplasia intraepitelial cervical

ORFs – Unidades de tradução (*open reading frames*)

RRP – Papilomatose respiratória recorrente (*recurrent respiratory papillomatosis*)

UE – União Europeia

VLP – *Virus-like particle*

1. INTRODUÇÃO

O Papilomavírus humano (HPV) pertence a um grupo de vírus, com informação genética constituída por DNA, que compreende um leque de doenças que causam infeções tanto benignas como malignas, a nível dos tecidos cutâneos e mucosas das membranas. Tendo em conta o grau de poder oncogénico, essas infeções, conforme sejam benignas ou malignas, caracterizam-se respetivamente como sendo de baixo e de alto risco. A maioria das infeções são benignas e autolimitadas, no sentido em que conseguem ser facilmente controladas pelo sistema imunológico, enquanto que as de alto risco compreendem todas as situações mais graves que normalmente causam os cancros, mais especificamente o cancro do colo do útero. O HPV está associado a algumas neoplasias na região anogenital, como o cancro da vagina, da vulva, do pénis e do ânus, e também no trato respiratório superior como por exemplo, o cancro da orofaringe (ACOG, 2015; Cubie, Cuschieri, & Tong, 2012; Doorbar et al., 2012; J. M. Douglas, 2016; Howley, Schiller, & Lowy, 2013; Schiller, Lowy, & Markowitz, 2013; Souto, Falhari, & Cruz, 2005).

Hoje em dia, com base na sequenciação do genoma, sabe-se que existem mais de 150 tipos diferentes de HPV, dos quais aproximadamente 40 são sexualmente transmissíveis e estão associados a infeções genitais e das mucosas, e cerca de 15, no mínimo, são responsáveis por causar o cancro do colo do útero, entre outros (Castellsagué, 2008; Doorbar, Egawa, Griffin, Kranjec, & Murakami, 2015; J. M. Douglas, 2016; Schiller et al., 2013; Van, 2016). O risco de infeção aumenta, naturalmente, não só com o número de parceiros sexuais atuais, mas também com os anteriores, todavia, a infeção já é tão vulgar, que basta uma primeira relação sexual para haver um aumento do risco de infeção. A sua prevalência é mais comum entre mulheres sexualmente ativas mais jovens, porém diminui quando atingem idades entre os 20 e 30 anos (Schiller et al., 2013). No caso dos homens, ainda que menos explorada, a infeção por HPV parece ocorrer associada aos mesmos fatores de risco que as mulheres. Posto isto, o HPV é considerado altamente transmissível e uma das infeções sexualmente transmissíveis mais comuns dos últimos tempos (Castellsagué, 2008; Cavalcanti & Carestiatto, 2006; J. M. Douglas, 2016; Leto, Porro, dos Santos Júnior, & Tomimori, 2011; Nadal & Manzione, 2010).

A grande maioria dos estudos desenvolvidos sobre este tema, tendo em conta o

desenvolvimento de novas tecnologias de detecção viral, revelam que o HPV é praticamente o maior responsável por todos os casos de cancro do colo do útero existentes, uma vez que é detetado em precisamente 99% dos casos (Castellsagué, 2008; J. M. Douglas, 2016; Schiller et al., 2013; Souto et al., 2005). Esta neoplasia é uma das principais causas de morte por cancro entre as mulheres de todo o mundo, particularmente em países desenvolvidos, sendo que o HPV 16 e 18 são os tipos mais oncogénicos, encarregues de provocar cerca de 70% dos cancros do colo do útero (Brotherton & Ogilvie, 2015; J. M. Douglas, 2016; Lowy & Schiller, 2006; Vigue, 2016). Os genótipos 6 e 11 causam normalmente, e em cerca de 90% dos casos, verrugas genitais ou condilomas (Lowy & Schiller, 2006). Perspetivas apontam para uma prevalência da infeção por HPV em mais de 50% das pessoas sexualmente ativas e até 75% das mulheres sexualmente ativas, ao longo de toda a vida (CDC, 2011; Vigue, 2016).

O próprio vírus foi adquirindo cada vez mais visibilidade dado o aumento exponencial e incalculável de diversidade biológica de que se tem vindo a ter conhecimento. Não podendo menosprezar a extrema relevância e impacto que todas estas infeções acarretam para a saúde pública, tornou-se indubitavelmente necessário criar algo que fosse primordial e efetivo na prevenção destas doenças, principalmente as cancerígenas. A vacinação é, sem dúvida, a estratégia mais sensata e adequada, desenvolvendo-se assim vacinas com base em *virus-like particles* (VLPs) direcionadas para os tipos de HPV mais frequentemente encontrados em cancros. A maior parte das vacinas centram-se na prevenção do cancro do colo do útero, devido ao nexo de causalidade existente entre o mesmo e o HPV, e à alta incidência da doença, no entanto, tenciona-se que a vacinação contra o papilomavírus abranja também os cancros do ânus e da orofaringe, de modo a reduzir a sua incidência que tem vindo a aumentar nos últimos tempos (Castellsagué, 2008; Howley et al., 2013; Schiller et al., 2013).

A vacinação é, sem dúvida, um dos grandes avanços da tecnologia científica e uma das maiores contribuições da ciência para a saúde humana. Tem como princípio base fundamentos imunológicos bastante complexos, relacionados com a capacidade de memória imunológica. Em função disso, torna-se no único meio capaz de imunizar indivíduos para agentes patogénicos particulares e de impedir, e até mesmo erradicar, certas doenças infecciosas, obtendo-se uma grande eficiência na redução da mortalidade e morbidade, a longo prazo, questão que importunava em certa parte a população ancestral (Davies, Schmidt, & Sheikh, 2012; Iglesias, Appay, & Moris, 2012; Parslow

& Bainton, 2004; S. L. Plotkin & Plotkin, 2013).

Como tal, esta monografia pretende abordar o que de mais recente existe no campo das vacinas contra o HPV. Frisa-se a sua grande influência na suprema necessidade de prevenção de infeções causadas por este vírus. Tendo em conta essa finalidade, reuniu-se todas as informações acerca do vírus, desde a sua estrutura, ciclo de replicação viral e patologias associadas, às vacinas e seu impacto na comunidade.

2. O PAPILOMAVÍRUS

Os papilomavírus têm vindo a despertar interesse já desde meados dos anos 30, no entanto, esse interesse tem sido um tanto ou quanto inconstante ao longo do tempo, visto que à partida, se julgava que o vírus causava maioritariamente doenças benignas sem grande relevância e que, dificilmente evoluiria para transformações malignas. Por volta dos anos 70 e 80, essa perspetiva atingiu outras escalas, pois com o desenvolvimento científico e a evolução das técnicas moleculares permitiu-se identificar o HPV como o principal responsável pelo cancro do colo do útero. Diante disso, e tratando-se, neste caso, de uma doença de extrema relevância e de grande impacto para a sociedade, o papilomavírus voltou a tornar-se alvo de intensa investigação científica. Ao longo dos últimos anos, com o aumento do conhecimento científico acerca da diversidade do HPV, constatou-se que o vírus tem adquirido capacidades exímias de se propagar em diversas espécies, sobretudo humanos (Doorbar et al., 2015; Lowy, 2007).

Os papilomavírus pertencem à família *Papillomaviridae* e classificam-se assim desde 1999, segundo o sétimo relatório do Comité Internacional de Taxonomia de Vírus (ICTV), sendo que depois se dividem em géneros e em tipos (Bernard et al., 2010; J. M. Douglas, 2016).

2.1. Estrutura e características

Os papilomavírus são pequenos vírus que, embora o seu genoma viral possa variar ligeiramente entre os vários tipos de HPV, normalmente contêm aproximadamente 7900 pares de base, DNA de cadeia dupla circular e um tamanho entre os 50-55nm de diâmetro (Doorbar, 2006; J. M. Douglas, 2016). São caracterizados por não possuírem invólucro, mas sim uma cápside com simetria icosaédrica, constituída por 72 capsómeros/pentâmeros e por duas proteínas estruturais essenciais de revestimento: proteína L1 e a proteína L2 (Kirnbauer & Lenz, 2012). A proteína L1 é considerada a proteína principal, tem um peso molecular de cerca de 56,000 *daltons* e corresponde a cerca de 80% das proteínas totais da cápside com um total de 360 cópias (Bonnez, 2015; Doorbar et al., 2015). As 360 moléculas da proteína L1 são responsáveis por formar e se organizar nos capsómeros que constituem a cápside, pois têm a capacidade

de se dobrar espontaneamente, revestindo assim o vírus. A proteína L2 é uma proteína secundária de peso molecular a rondar os 76,000 *daltons* que existe em menor quantidade. No entanto, não deixa de ser importante, uma vez que auxilia a proteína L1 na incorporação do DNA viral dentro das células. Ambas as proteínas são importantes pois intervêm na eficácia e na aptidão do vírus em provocar uma infecção (Bonnez, 2015; Buck, Day, & Trus, 2013; Doorbar, 2006; Doorbar et al., 2012).

O genoma do vírus é formado a partir de três regiões funcionais (Figura 1): a região E (*early*) e a região L (*late*), que compõem as estimadas oito unidades de tradução ou ORFs (*open reading frames*), e uma região reguladora (LCR). A região E é composta por seis genes (E1, E2, E4, E5, E6 e E7) considerados precoces relativamente à sua expressão, que permitem a transcrição, replicação viral, proliferação celular e interagem com o genoma do hospedeiro; a região L é composta por dois genes (L1 e L2) que se expressam tardiamente e são responsáveis por codificar as proteínas estruturais essenciais da cápside; a região reguladora pode ser denominada de LCR (*long control region*), NCR (*non-coding region*) ou URR (*upstream regulatory region*) e controla a replicação e transcrição dos genes que constituem as regiões E e L (Bonnez, 2015; Doorbar et al., 2012; J. M. Douglas, 2016; Ledwaba, Dlamini, Naicker, & Bhoola, 2004; Leto et al., 2011).

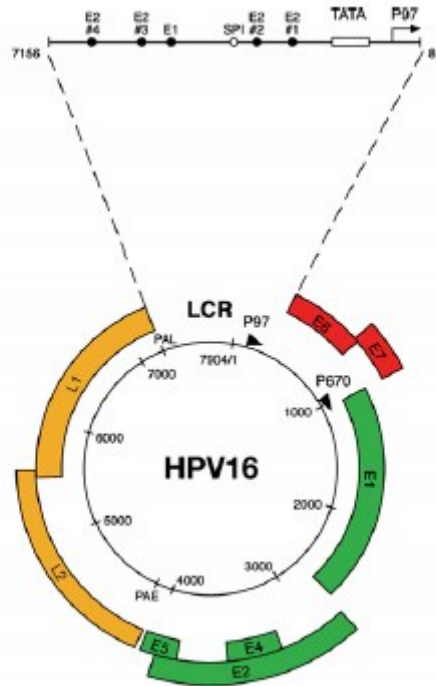


Figura 1 – Representação esquemática do genoma do vírus HPV16 contendo as suas três regiões funcionais. Adaptado de Doorbar (2006).

2.2. Taxonomia

Conforme foram sendo isolados, e tendo em conta a diversidade e quantidade abrupta de HPV que foram sendo descobertos, tornou-se imprescindível a sua classificação biológica. Atribuíram-se-lhes géneros designados por letras gregas e dentro dos géneros fixou-se uma classificação numérica, de modo a organizá-los ordeiramente, de acordo com o seu aparecimento ao longo do tempo. No entanto, essa classificação é evidentemente condicionada pelas sequências de nucleótidos de regiões específicas do genoma do vírus e obtida por comparações filogenéticas entre os diferentes isolados do HPV. Normalmente, são classificados por **tipos**, ou segundo proposta do ICTV, por **estirpes**, e são considerados de tipos diferentes quando a sequência de nucleótidos do seu gene L1 é diferente de todos os outros tipos e varia em pelo menos 10% (Bernard, 2007; Bernard et al., 2010; Bravo, de Sanjosé, & Gottschling, 2010; Doorbar et al., 2012).

A taxonomia do papilomavírus organiza-se segundo a identificação de genótipos, sendo que os tipos de HPV já descritos se incorporam filogeneticamente em cinco grandes géneros (Figura 2), tendo em conta as diferentes sequências de DNA do gene que codifica a proteína principal da capsíde, a L1, o ciclo de replicação e as doenças associadas: **alfapapilomavírus** (que incluem maioritariamente tipos que causam infeções a nível das mucosas e também algumas lesões cutâneas), **betapapilomavírus** e **gamapapilomavírus** (que incluem principalmente tipos responsáveis por lesões cutâneas), e ainda **mupapilomavírus** e o **nupapilomavírus**. No geral, aquando da comparação de regiões do genoma dos vários géneros, percebe-se que há diversas homologias entre as mesmas, o que leva a crer que ocorreram mutações em pequenas porções do genoma em vez de recombinação entre os tipos de papilomavírus. Apesar de partilharem uma organização genética muito semelhante, os diferentes géneros variam ligeiramente em aspetos, como por exemplo o tamanho ou posição das principais ORFs, ou até mesmo em pequenas particularidades, como é o caso dos betapapilomavírus, que nem sequer possuem o gene E5, gene esse que no género alfapapilomavírus ajuda a otimizar a eficiência de amplificação do genoma em conjunto com E6 e E7; ou ainda como o caso dos tipos de HPV101, HPV103 e HPV108 pertencentes ao género gamapapilomavírus que não apresentam a proteína E6 (Cubie et al., 2012; Doorbar et al., 2012, 2015; J. M. Douglas, 2016; Howley et al., 2013; Leto et al., 2011; Schiller et al., 2013).

Atendendo a esta classificação, deduz-se que os tipos de HPV identificados se podem agrupar conforme o seu tropismo seja cutâneo ou mucoso. Os tipos cutâneos evidentemente causam lesões como, por exemplo, verrugas cutâneas e plantares e epidermodisplasia *verruciformis*. Os tipos mucosos estão relacionados com lesões benignas e malignas que se manifestam sobretudo na região anogenital (Castellsagué, 2008).

Como se pode observar na Figura 2, denota-se que os géneros: alfa, beta e gamapapilomavírus representam a grande maioria dos tipos de HPV.

Os **alfapapilomavírus** inserem-se em três grupos diferentes que dizem respeito aos tipos cutâneos de baixo risco (a cinzento), que causam normalmente verrugas; tipos mucosos de baixo risco, como o HPV6 e HPV11 (a laranja), associados a lesões benignas e verrugas genitais, e tipos de alto risco, como o HPV16 e HPV18 (a cor-de-rosa) que são os que maioritariamente incluem lesões das mucosas e que estão relacionados com o cancro do colo do útero. Nessa região cor-de-rosa, a vermelho destacam-se os tipos de alto risco que já foram identificados como cancerígenos, e os restantes são apenas possivelmente cancerígenos, carecendo ainda de confirmação acerca disso. Dentro dos tipos de alto risco, a oncogenicidade também varia, sendo o HPV16 considerado o mais oncogénico e com um nível de progressão maior, quando comparado com outros. Imediatamente a seguir, estão os tipos HPV18, HPV31 e HPV33. Dos tipos cutâneos de baixo risco, destacam-se o HPV7 associado a verrugas comuns em manipuladores de carne, aves e peixe, e o HPV2, HPV27, HPV57, HPV3 e HPV10 associados a verrugas vulgares (Tabela 1). Ainda assim, apesar dos alfapapilomavírus se poderem dividir em três grupos diferentes, alguns tipos pertencentes a este género podem ser detetados em lesões das mucosas e cutâneas simultaneamente, porém são mais predominantes num tropismo ao qual têm uma suposta preferência (Doorbar et al., 2012, 2015; Leto et al., 2011; Schiller et al., 2013).

Os **betapapilomavírus** contêm tipos cutâneos de alto e de baixo risco. Em indivíduos imunocompetentes, geralmente causam infeções subtis, inaparentes ou assintomáticas. No entanto, apesar dos tipos cutâneos não serem normalmente associados a cancros, no género beta existem indícios de que estejam relacionados com cancros de pele em pessoas imunodeprimidas ou com epidermodisplasia *verruciformis* (EV), mais propriamente os tipos HPV5 e HPV8 (Doorbar et al., 2012, 2015; Leto et al., 2011; Schiller et al., 2013).

O género **nupapilomavírus** inclui sobretudo lesões cutâneas benignas, tal como os **gamapapilomavírus**, com alguns tipos de HPV detetados na região oral, e os **mupapilomavírus**, que normalmente estão associados a lesões em locais palmares e plantares. Contudo, os nupapilomavírus já foram encontrados em cancros de pele, enquanto que pelo contrário, os gamapapilomavírus raramente são encontrados em cancros de pele e os mupapilomavírus nunca foram associados a cancros. Como já referido anteriormente, os géneros mu e nupapilomavírus representam uma minoria dos tipos de HPV, sendo que ao género mupapilomavírus pertencem apenas os tipos HPV1 e HPV63 e o género nupapilomavírus é classificado unicamente com o tipo HPV41 (Doorbar et al., 2012, 2015; Leto et al., 2011).

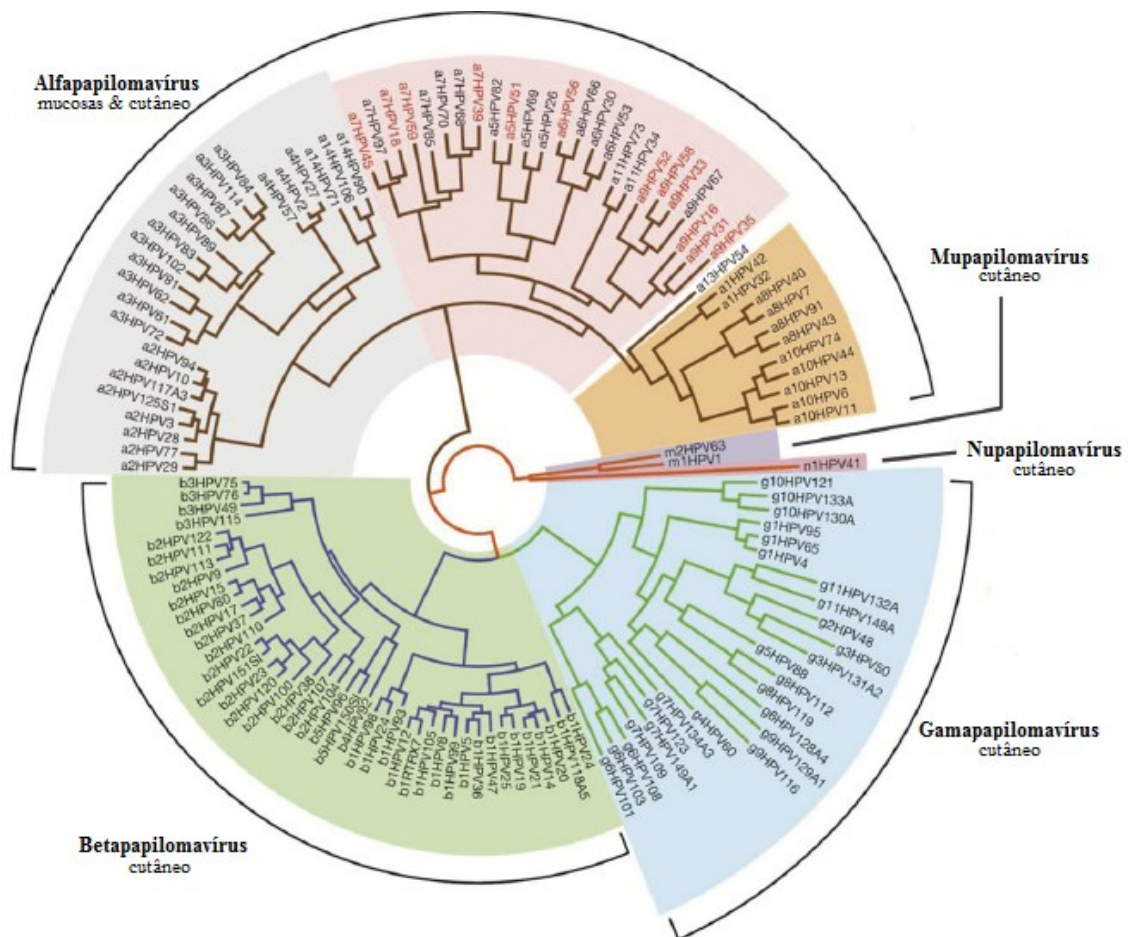


Figura 2 – Tipos de papilomavírus agrupados nos cinco géneros. Adaptado de Doorbar et al. (2015)

2.3. Ciclo de replicação viral

O papilomavírus humano tem a capacidade infectar o tecido epitelial sendo que o seu ciclo de replicação é bastante complexo e está, por si só, relacionado com a diferenciação dos queratinócitos. Tendo um genoma de DNA pequeno, e sendo por isso limitado quanto à sua capacidade de codificação, o vírus inicia a infecção utilizando o hospedeiro e os seus mecanismos próprios de replicação celular, através de possíveis microferidas existentes, que permitem por si só, não só a exposição das células da camada basal do epitélio, como facilitam também a entrada das partículas do vírus devido à abertura desta “porta” de acesso. A proliferação celular é limitada a estas células basais. As partículas virais, compostas por DNA e pelas duas proteínas estruturais da cápside (L1 e L2) vão ser reconhecidas através de recetores, capazes de reconhecer o vírus, para conseguirem entrar nas células. O vírus entra na célula através de um endossoma. Embora ainda haja contestações quanto ao carácter e propriedades destes recetores de entrada, que permitem a instalação do vírus, supõe-se que há uma interação com os proteoglicanos do sulfato de heparina, e que este é o responsável pela fixação das partículas virais às células facilitando a alteração conformacional ao vírus (Andrei, Clercq, & Snoeck, 2009; Cubie et al., 2012; Doorbar et al., 2012; Longworth & Laimins, 2004; Schiller et al., 2013).

Após provocar infecção, o ciclo de replicação do papilomavírus pode dividir-se em três fases: manutenção do genoma viral, produção dos componentes das partículas virais e constituição das partículas virais (Figura 3). A fase de manutenção ocorre nas células basais, onde os genomas virais são mantidos como epissomas (elemento de DNA extracromossómico que atua como um plasmídeo e que consegue replicar-se independentemente do DNA cromossomal do hospedeiro) num número de cópias baixo. Neste processo, os genes virais E1, E2, E6 e E7 desempenham funções importantes pois elevam a sua expressão. Posteriormente, na fase de amplificação do genoma viral, ocorre replicação dos genomas virais conjuntamente com o DNA celular, e após divisão celular, há migração de células a partir da camada basal que começam a sofrer diferenciação. É a partir daqui, quando há a integração viral no genoma do hospedeiro, que o vírus se aproveita do mesmo e dos seus mecanismos próprios de replicação. Sucede-se a rutura do gene E2 e as proteínas E6 e E7 exibem uma expressão aumentada. Esta expressão aumentada desregula todo o ciclo celular e obriga a direcionar a diferenciação das células para a fase S, permitindo a amplificação do genoma viral em

células, que provavelmente numa situação funcional normal, eram eliminadas do ciclo celular. O gene E1 codifica uma helicase específica do DNA e auxilia na replicação do genoma viral e o gene E2 é responsável pela regulação da transcrição e pela modificação das funções normais celulares em prol do vírus. A proteína E6 liga-se à proteína supressora de tumor p53, inativando-a através da indução da sua degradação a partir da ubiquitina, e a proteína E7 tem a capacidade de inativar a proteína supressora de tumor pRb (proteína do retinoblastoma). Ambas, p53 e pRb, são proteínas importantes para as funções celulares, sendo que a p53 é a específica para ficar encarregue da estimulação de reparação normal do DNA danificado (com mutações aleatórias). Assim, através desta ligação às proteínas supressoras de tumor, E6 e E7 são consideradas proteínas com atividade oncogénica, ou mais propriamente, oncoproteínas, devido às suas funções de transformação, possível interação com proteínas celulares do hospedeiro e aptidão para afetar o normal crescimento celular, induzindo anomalias cromossómicas e, conseqüentemente, a capacidade de impedir a apoptose de células comprometidas e manipular a regulação do ciclo celular (Cubie et al., 2012; Doorbar, 2006; Doorbar et al., 2015; J. M. Douglas, 2016; Ferraz, Santos, & Discacciati, 2012; Moody & Laimins, 2010; Schiller et al., 2013; Souto et al., 2005; Stubenrauch & Laimins, 1999; Venkatesan, Pine, & Underbrink, 2012).

Na fase final do ciclo, as proteínas L1 e L2 permitem a constituição das partículas virais através da formação das suas cápsides, levando à libertação do vírus, em camadas superiores do epitélio (Moody & Laimins, 2010; Schiller et al., 2013).

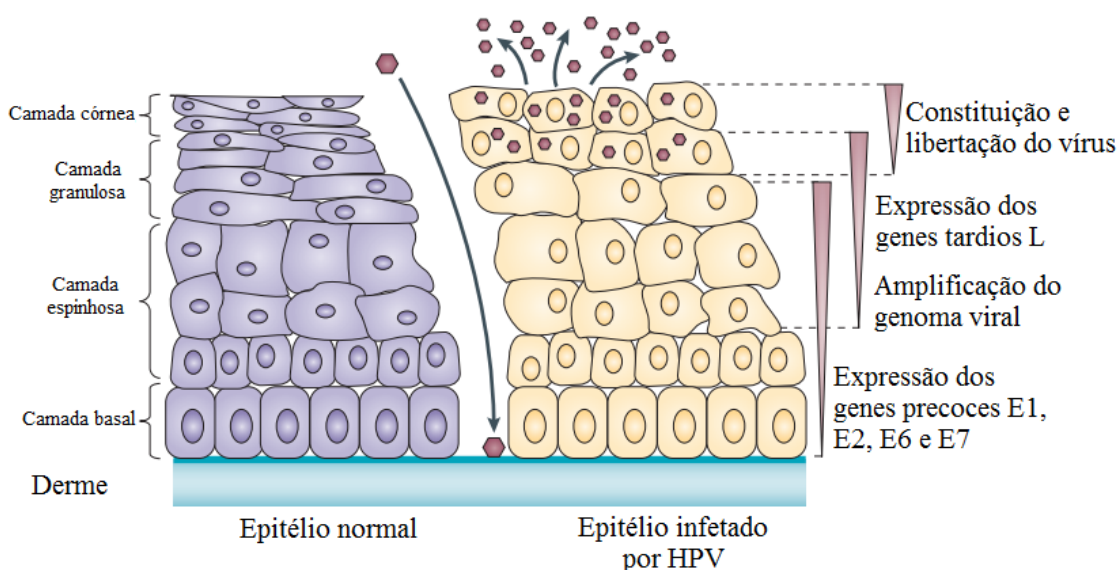


Figura 3 – Ciclo de replicação do vírus HPV. Adaptado de Moody & Laimins (2010)

3. PATOLOGIAS ASSOCIADAS AO HPV

Como já referido anteriormente, os papilomavírus são reconhecidos pela enorme variedade de genótipos existentes e pelo grande número de patologias aos quais estão associados.

A infecção persistente por determinados tipos oncogénicos de HPV é o principal fator responsável por diversos cancros epiteliais das mucosas, sendo o cancro do colo do útero um dos mais significantes, também conhecido por neoplasia intraepitelial cervical (NIC). Os papilomavírus estão envolvidos em muitos outros cancros na região anogenital, que incluem a maioria dos cancros do ânus (NIA) e uma fração relevante de lesões neoplásicas da vulva (NIV), vagina (NIVa), pénis (NIP), orofaringe e laringe, e ainda cerca de metade dos cancros da cabeça e pescoço. Contudo, o risco de lesões na região anogenital progredirem para transformações malignas não está tão distintamente definido como no caso do colo do útero. Inclusive, os tipos de HPV de baixo risco, apesar de não estarem associados a doenças cancerígenas, causam lesões epiteliais benignas, como verrugas anogenitais (*condiloma acuminatum*), verrugas comuns, plantares e papilomas da laringe, mas que conduzem, por exemplo, a papilomatose respiratória recorrente (RRP) ou a epidermodisplasia *verruciformis* (EV), e causam outras doenças que podem ser de grande relevância, difíceis de tratar e até debilitantes para certos indivíduos (Castellsagué, 2008; Doorbar, 2015; Doorbar et al., 2015; J. M. Douglas, 2016; Gillison, Chaturvedi, & Lowy, 2008; Howley et al., 2013; Markowitz et al., 2014; Schiller et al., 2013).

3.1. Verrugas cutâneas

Os tipos de HPV cutâneos compreendem um grupo de vírus que infetam a pele, manifestam-se de vários tipos e desenvolvem **verrugas plantares** (*verrucae plantaris*), **verrugas comuns** (*verrucae vulgaris*) e **verrugas planas e intermédias** (*verrucae planae*). Esta classificação das verrugas cutâneas tem por base a sua morfologia, histologia e localização anatómica. Normalmente, as verrugas cutâneas são assintomáticas, mas em alguns casos podem causar prurido, dor ou até sangramento, principalmente se estiverem localizadas em superfícies mais propícias. É raro que

evoluam para carcinomas, tendo uma tendência natural para desaparecerem espontaneamente dentro de um período de 1-2 anos, contudo, muito ocasionalmente, resistem ao tratamento, implicando que haja uma persistência do vírus na pele em volta das verrugas originais. Há uma prevalência de verrugas cutâneas em escolas (20%) e em indivíduos que possuam agregados maiores, devido ao aumento do contato e da transmissão indivíduo-indivíduo (Bonnez, 2015; Cubie et al., 2012; Kirnbauer & Lenz, 2012).

3.1.1. Verrugas plantares

As verrugas plantares (*verrucae plantaris*) são também denominadas de *myrmecia*, nome que provém da língua grega e que significa “formigueiro”, pois causam uma sensação semelhante ao formigueiro. Apesar da sua localização ser maioritária nos pés, também podem encontrar-se nas palmas das mãos. São verrugas endofíticas espessas que causam geralmente muita dor principalmente ao andar, devido ao seu crescimento para um interior mais profundo. Assemelhando-se a pequenos feixes de fibras suaves com tamanho compreendido entre os 2mm e 1 cm de diâmetro, e quando aglomeradas, tornam-se verrugas em mosaico (Bonnez, 2015; J. M. Douglas, 2016; Kirnbauer & Lenz, 2012).

3.1.2. Verrugas comuns

As verrugas comuns (*verrucae vulgaris*) traduzem-se em hiperqueratoses que são normalmente pápulas exofíticas, ao contrário das plantares, e estão bem delineadas podendo ser ásperas. São caracterizadas por pontos pretos puntiformes que representam trombose e sangramento dos vasos capilares, que aparecem após normalmente após fricção da superfície. Estão mais frequentemente localizadas nas mãos, nas palmas, no dorso, entre os dedos, em volta das unhas, denominando-se nesse caso de verrugas periungueais, mas podem também afetar a pele genital, como detalhado no subcapítulo 3.4. Podem atingir um tamanho até cerca de 1 cm de diâmetro. No entanto, em casos mais progressivos, podem atingir tamanhos bem superiores, pois adquirem outro tipo de morfologias, formam aglomerados e as verrugas têm forma de mosaico ou paralelepípedos. Os tipos mais associados a este tipo de verrugas são o HPV1, HPV2,

HPV4, HPV27 e HPV57. Indivíduos que contactem e manipulem diariamente com carne, aves e peixe, são propensos para o desenvolvimento destas verrugas comuns, devido à frequente exposição à água e à facilidade de maceração da pele que propicia a entrada do vírus. Neste caso, o HPV7 está particularmente envolvido e as verrugas são geralmente filiformes e hiperproliferativas (Tabela I) (Bonnez, 2015; Cubie et al., 2012; J. M. Douglas, 2016; Kirnbauer & Lenz, 2012).

3.1.3. Verrugas planas e intermédias

As verrugas planas (*verrucae planae*) são múltiplas pequenas pápulas achatadas, de contorno e distribuição irregular, de vão de uma cor mais rosada ou cor-de-pele até um tom ligeiramente castanho, relativamente salientes. Atingem maioritariamente crianças, de um modo geral manifestam-se na face, pescoço, mãos e pernas e são causadas pelos tipos HPV3, HPV10, HPV28, HPV38, HPV49, HPV75 e HPV76 (Tabela I). Quando se tornam extremamente salientes, mais do que o usual, passam a chamar-se verrugas intermédias (Bonnez, 2015; J. M. Douglas, 2016; Kirnbauer & Lenz, 2012).

3.2. Epidermodisplasia *verruciformis*

A epidermodisplasia *verruciformis* (EV) é uma doença autossómica recessiva rara, com mutações nos genes TCM6/EVER1 ou TCM8/EVER2, que tornam os seus portadores mais suscetíveis a infeções pelo HPV e, conseqüentemente, a cancro de pele. As lesões apresentam-se de várias formas, desde verrugas planas a lesões semelhantes à pitíriase versicolor que se manifestam sobretudo no tronco e extremidades superiores. Estas lesões estão associadas a inúmeros tipos de HPV (Tabela I), principalmente betapapilomavírus, sendo que o mais frequente é o tipo 5 pois é específico desta patologia. Não obstante, em conjunto com o HPV 5, o HPV 8 e 14 também são de extrema importância visto que são os principais genótipos associados a transformações malignas de EV. Normalmente, as lesões aparecem com mais frequência em idades mais jovens e têm tendência a aumentar ao longo do tempo. No entanto, em idades mais avançadas e em cerca de 30 a 70% da população, podem progredir e desenvolver carcinomas particularmente em áreas expostas ao sol, pois supõe-se que deve existir uma combinação de infeção entre um tipo de HPV oncogénico presente na EV e os

efeitos cancerígenos da luz UV para tal ocorrência (Bonnez, 2015; J. M. Douglas, 2016; Howley et al., 2013; Patel, Morrison, Rady, & Tyring, 2010; Ramoz et al., 2002).

3.3. Papilomatose respiratória recorrente

A papilomatose respiratória recorrente (RRP) é uma doença benigna rara, embora sem cura aparente, do trato respiratório superior causada pelo HPV, mais especificamente pelos tipos 6 e 11 (Tabela I) e manifesta-se mais comumente na laringe, particularmente nas cordas vocais, com mais frequência em crianças e jovens adultos. O HPV 6, de um modo regular, está mais associado a verrugas genitais comparativamente ao HPV 11, contudo, no caso da RRP, os casos originários do HPV 11 tendem a ser mais severos que os provenientes do HPV 6. O tratamento baseia-se em cirurgias, normalmente repetitivas devido à natureza recorrente da doença, que consistem na remoção das lesões, que podem ser únicas ou múltiplas, para desobstruir as vias aéreas. Apesar de rara, é a neoplasia benigna da laringe mais comum entre crianças e a segunda causa mais frequente de rouquidão na infância, e eventualmente, pode proliferar e originar metástases na parte inferior das vias respiratórias e pulmões. Julga-se que a origem principal da RRP é por transmissão através da mãe com infecção genital por HPV, para o filho, durante o parto. No caso de um adulto, a taxa de transmissão é baixa e é realizada a partir do contato orogenital com um parceiro sexual infetado. Os principais sintomas são normalmente ténues, caracterizam-se por rouquidão, ruídos agudos ao inspirar, dispneia, tosse crónica, infeções respiratórias recorrentes e uma alteração anormal no choro em crianças mais pequenas. A evolução da doença é normalmente muito inconstante, podendo tanto persistir ao longo de toda a vida como ter alguns períodos intermitentes de remissão (Cubie et al., 2012; Derkay & Wiatrak, 2008; Doorbar et al., 2015; Howley et al., 2013; Schiller et al., 2013; Tasca & Clarke, 2006; Venkatesan et al., 2012; Wangu & Hsu, 2016).

3.4. Condiloma *acuminatum*

O condiloma *acuminatum* é uma doença sexualmente transmissível, altamente contagiosa e uma das patologias mais comuns do HPV na área genital (vulva, vagina e

útero), sendo o condiloma vulvar o mais comum dos três. Também pode estar localizada na região perianal e peniana. É mais habitual observar-se em idades compreendidas entre os 16 e os 25 anos, podendo também afetar indivíduos fora deste intervalo. As lesões são verrugas genitais em género de pápulas ou nódulos suaves e filiformes, que se manifestam desde uma cor acastanhada a uma mais rosada. O seu tamanho é ligeiramente incerto, oscilando desde alguns milímetros a muitos centímetros, porém o tamanho padrão é cerca de 2-3mm de diâmetro e 10-20mm de comprimento. As lesões tanto se apresentam sozinhas como em aglomerados, daí o seu tamanho poder variar numa larga escala. Normalmente são assintomáticas, mas em alguns casos causam prurido, dor e sangramento. Cerca de 90% das verrugas genitais são causadas pelos tipos de baixo risco 6 ou 11, no entanto, o condiloma *acuminatum* também pode estar associado a muitos outros genótipos (Tabela I) (Brinster, Liu, Diwan, & McKee, 2011; Doorbar et al., 2015; Patterson, 2016).

3.5. Cancro da orofaringe

Têm-se estabelecido certos pressupostos acerca do cancro da orofaringe, que justificam a sua aparência a partir de múltiplas e persistentes infeções a longo prazo nesta região. Números elevados de parceiros sexuais e a prática de sexo oral com muitos parceiros estão relacionados a um aumento do risco de cancro da orofaringe provocado por infeção do HPV. O tabaco e o álcool em excesso são fatores de risco para cancro da orofaringe, no entanto, nestes casos, não costumam estar associados ao HPV, e pelo contrário, até são fatores inexistentes em carcinomas da orofaringe derivados do papilomavírus (J. M. Douglas, 2016; Gillison et al., 2008; Schiller et al., 2013).

3.6. Cancro do ânus ou neoplasia intraepitelial anal (NIA)

O cancro do ânus ou neoplasia intraepitelial anal (NIA) é bastante comum, ainda que seja, por vezes, menosprezado relativamente às lesões malignas da vagina e do colo do útero. O HPV é detetado em cerca de 80% a 96% das infeções da NIA, sendo que os tipos mais prevalentes são o HPV16, HPV18 e HPV33. A frequência da prática de sexo anal está diretamente relacionado com o aumento do risco de infeção por HPV na região anal (Leto et al., 2011; Schiller et al., 2013).

3.7. Cancro do colo do útero ou neoplasia intraepitelial cervical (NIC)

O cancro do colo do útero ou neoplasia intraepitelial cervical (NIC) é classificado segundo a sua gravidade em diferentes graus (1, 2 ou 3), que estão relacionados com a sua evolução ou progressão ao longo do tempo. Como já referido anteriormente, no subcapítulo 2.3, o HPV ultrapassa a derme e acede às células basais através de microferidas existentes, no epitélio cervical, neste caso, e a partir daí desenvolvem-se lesões neoplásicas. A partir do momento em que o HPV infeta o epitélio, os genes precoces são expressos e há replicação do DNA viral (núcleos a roxo), e conforme evolução da infeção, há integração do genoma do HPV no hospedeiro (núcleo a vermelho) (Figura 4) (Doorbar et al., 2015; Schiller et al., 2013; Woodman, Young, & Young, 2007).

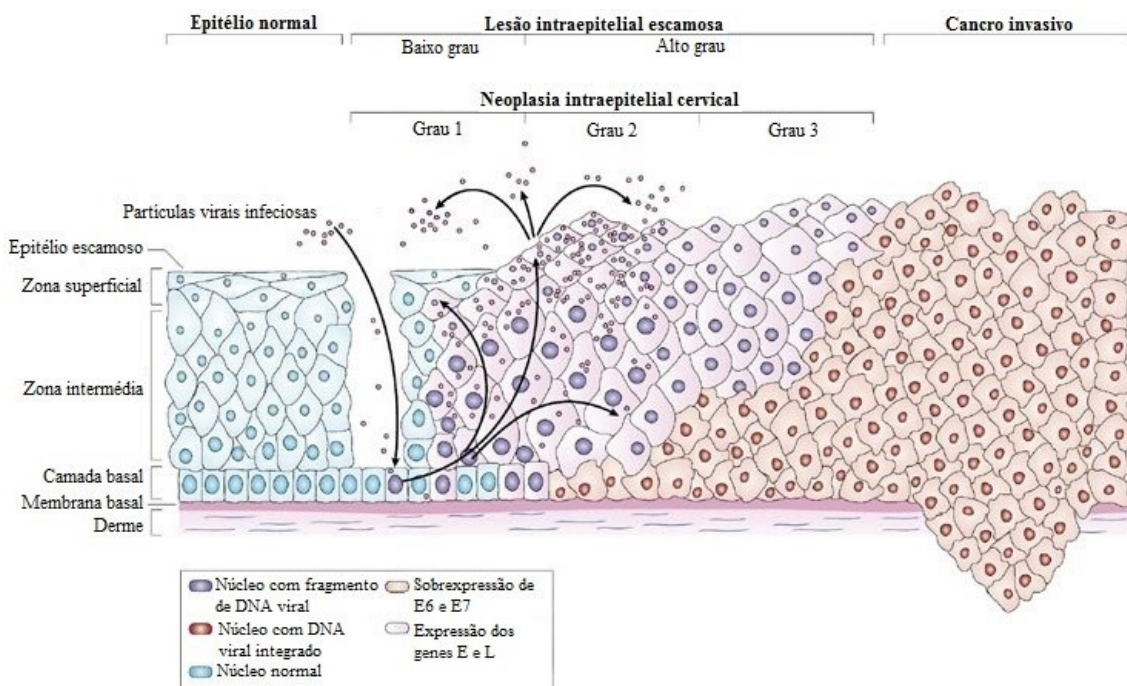


Figura 4 – Progressão do cancro do colo do útero após infeção por HPV. Adaptado de Woodman et al. (2007)

Primeiramente, as lesões começam por ser, de um modo geral, carcinomas *in situ* e só depois se tornam malignas. De princípio, são maioritariamente consideradas lesões intraepiteliais escamosas de baixo grau (LSIL) e incluem a NIC de grau 1, mas tendem a

progredir para lesões intraepiteliais escamosas de alto grau (HSIL) que incluem a NIC de grau 2 e 3 até se tornar completamente invasivo, processo que pode demorar entre uma a três décadas. Essa tendência é explicada pela capacidade de persistência do vírus, pois normalmente, ainda que provocadas por tipos de HPV de alto risco, como por exemplo o HPV16 ou HPV18, estas infecções corrigem-se espontaneamente, mas no caso do vírus persistir por deveras infecções consecutivas, o organismo já não o consegue eliminar do local (Doorbar et al., 2015; Schiller et al., 2013; Woodman et al., 2007).

Tabela I - Tipos de papilomavírus e associação às doenças respectivas. Adaptado de Bonnez (2015).

Tipos de HPV		
Doença	Associação frequente	Associação menos frequente
Verrugas plantares	1, 2	4, 26, 27, 29, 41, 57, 63, 65, 77,
Verrugas comuns	1, 2, 4	117, 125, 128, 129, 130, 131, 132, 133, 148, 149
Verrugas comuns de manipuladores de carne, aves e peixe	2, 7	1, 3, 4, 10, 28
Verrugas planas e intermediárias	3, 10	26, 27, 28, 38, 41, 49, 75, 76, 126
Epidermodisplasia verruciformis	5, 8, 9, 12, 14, 15, 17	19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 36, 37, 38, 47, 49, 50, 93
Condiloma acuminatum	6, 11	16, 18, 31, 35, 40, 42, 43, 44, 45, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 58, 66, 68, 70, 153
Neoplasia intraepitelial, não específica		26, 30, 34, 39, 40, 53, 57, 59, 61, 62, 67, 68, 69, 71, 81, 83
Alto risco	6, 11	16, 18, 31, 33, 35, 42, 43, 44, 45, 51, 52, 54, 61, 70, 72, 74
Baixo risco	16, 18	6, 11, 31, 33, 34, 35, 39, 42, 44, 45, 51, 52, 54, 61, 70, 72, 74
Carcinoma cervical	16, 18	31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 67, 68, 73, 82
Papilomatose respiratória recorrente	6, 11	16, 18, 31, 33, 35, 39
Hiperplasia epitelial focal de Heck	13, 32	18, 33, 45
Papilomas/carcinomas da conjuntiva	6, 11, 16	
Outras lesões cutâneas		36, 37, 38, 41, 48, 60, 72, 88, 92, 93, 94, 95, 96, 107, 110, 111, 155, 174
Outras lesões genitais		30, 84, 85, 86, 87, 89, 90, 91, 97, 101, 102, 103, 106, 175, 180
Tecido cutâneo ou mucoso saudável		80, 114, 115, 116, 118, 119, 120, 121, 122, 123, 124, 127, 134, 135, 136, 137, 138, 139, 140, 141, 142, 143, 144, 145, 146, 147, 150, 151, 156, 161, 162, 163, 164, 165, 166, 167, 168, 169, 170, 171, 172, 173

4. VACINAÇÃO

4.1. Enquadramento histórico

Não há muito tempo que surgiram as primeiras tentativas de utilização da vacinação como método preventivo. Criou-se a necessidade de proteger os seres humanos contra doenças perigosas, que se alastravam em pragas e, na maioria das vezes, se tornavam mortíferas (Figura 5). Há cerca de 200 anos atrás, Jenner foi o precursor da primeira vacina, que foi utilizada contra o vírus da varíola. Apesar de ter sido uma descoberta com alguma falta de ciência no que toca a noções de vírus em si, de imunologia e virologia no geral, foi a base para definir um conceito amplo de vacina, tendo em conta a sua capacidade de prevenir o aparecimento ou propagação de uma doença infecciosa, uma vez que denotou o princípio da utilização de um agente patogénico menos perigoso, oriundo de uma doença menos virulenta (a varíola bovina, neste caso) para a proteção, através da criação de respostas imunes, contra um patogénico mais virulento, proveniente de uma doença mais grave (varíola humana) (Davies et al., 2012; Kroger et al., 2015; Male, Brostoff, Roth, & Roitt, 2013; S. L. Plotkin & Plotkin, 2013).

Só no século XX, com a descoberta das funções dos linfócitos B e T, se começou a entender a definição de memória imunológica, que é o principal fundamento explicativo do modo de ação de uma vacina como profilaxia de doenças. A vacinação é considerada um dos melhores métodos onde se empregam conhecimentos profundos de imunologia, pois as vacinas são compostas por preparações imunogénicas de um agente patogénico, com o intuito de provocar uma resposta imune em indivíduos saudáveis, mas sem causar doença aparente. As vacinas são produzidas e utilizadas como método preventivo, daí serem essencialmente administradas em pessoas saudáveis. Sendo assim, as vacinas induzem artificialmente imunidade, e de um modo ativo conseguem estimular o sistema imunitário a desenvolver defesas contra os agentes infecciosos. São, sem dúvida, uma das mais notáveis conquistas, considerando a sua extrema importância, na medida em que previnem, em média, mais de três milhões de mortes por ano, tendo obviamente um grande impacto económico. Bem como, são também, em grande parte, responsáveis pelo aumento da esperança média de vida, em cerca de 30

anos, durante o século XX (Davies et al., 2012; Gomez, Robinson, & Rogalewicz, 2013; Kroger et al., 2015; Male et al., 2013; Ulmer, Valley, & Rappuoli, 2006).

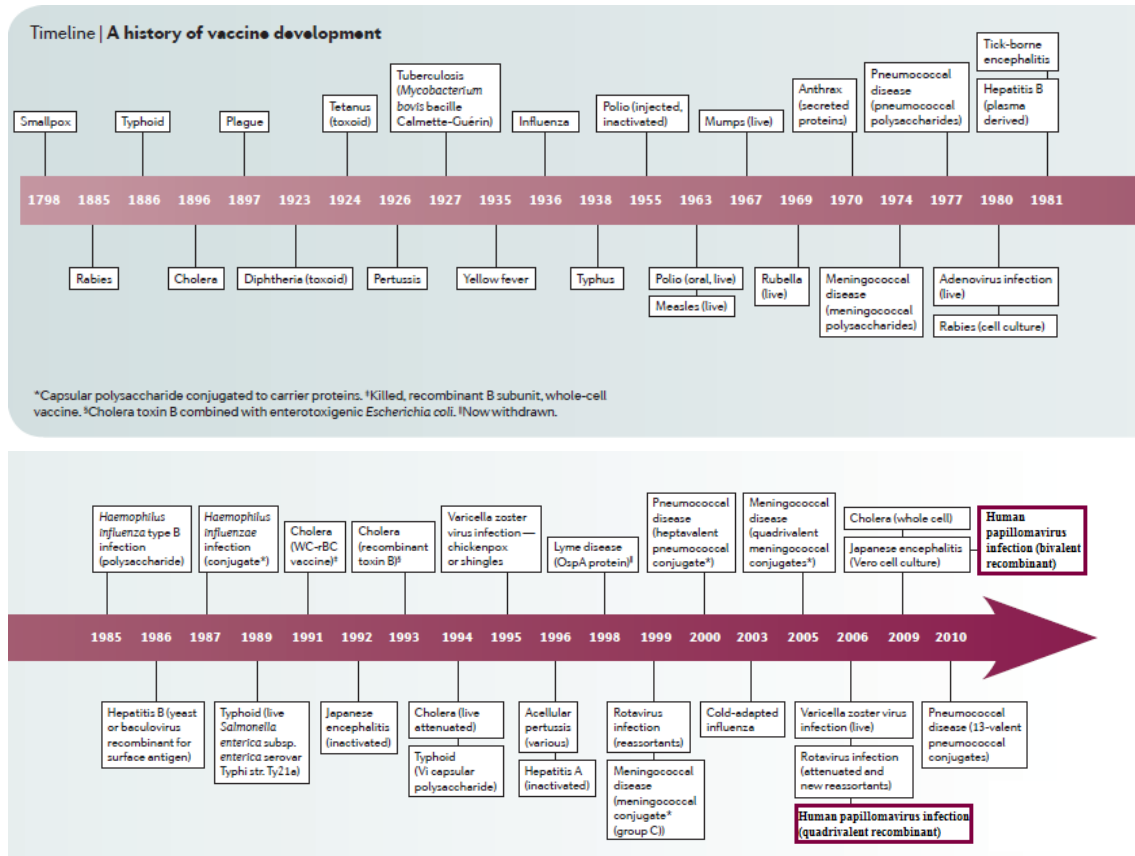


Figura 5 – Cronologia histórica do desenvolvimento da vacina, com destaque ao aparecimento das primeiras duas vacinas para o HPV, em 2006 e 2009, respetivamente. Adaptado de S. A. Plotkin & Plotkin (2011).

4.2. Resposta imunológica

O sistema imunitário é constituído por células e moléculas que têm a capacidade de criar uma resposta imune defensiva quando do reconhecimento, *a priori*, de algo estranho e irreconhecível ao organismo (Abbas, Lichtman, & Pillai, 2015).

Esta função fisiológica permite assim expulsar, principalmente, quaisquer organismos infecciosos (como bactérias, toxinas e vírus) que tentem perturbar o estado de imunidade com o intuito de causar alguma doença. O reconhecimento do agente patogénico é o princípio base deste mecanismo, dado que um segundo encontro com o mesmo implica uma resposta imunológica mais rápida, eficaz e poderosa do que num

encontro anterior, e tem tendência a tornar-se cada vez mais vigorosa (Gracie & Farrell, 2014; Iglesias et al., 2012).

Pode-se afirmar que existem três principais níveis de defesa do organismo (Figura 6). O primeiro constitui as barreiras físicas, como a pele e outras superfícies do corpo, que oferecem uma resistência primária à possível entrada de agentes patogénicos (Parslow & Bainton, 2004). Nos níveis subsequentes, a imunidade é capaz de se demonstrar a partir de duas formas, através de uma resposta inata ou natural (não específica), ou através de uma resposta adquirida ou adaptativa (específica) (Delves, Martin, Burton, & Roitt, 2011; Gracie & Farrell, 2014; Kumar, Abbas, & Aster, 2015).

A **imunidade inata** diz respeito aos mecanismos pré-existentes, que ocorrem sempre do mesmo modo e de uma forma imediata e natural, ou seja, que reagem rapidamente aos agentes infecciosos, logo a partir do momento em que eles entram no organismo e conseguem atravessar as barreiras físicas. Não há uma necessidade de haver uma exposição prévia ao agente infeccioso, no entanto, este tipo de resposta imune não tem uma evolução ao longo do tempo nem desenvolve nenhum tipo de aprimoramento. Aqui, os principais responsáveis pelo combate às infeções são: os fagócitos, como macrófagos, neutrófilos e células dendríticas (CDs), que ingerem microrganismos e substâncias estranhas; células *natural killer*, que reconhecem e matam as células infetadas com vírus; e ainda, proteínas plasmáticas, como por exemplo proteínas do sistema do complemento. Por vezes, não conseguem ser totalmente efetivos devido à complexidade e meios de manobra do agente infeccioso para escapar aos ataques, e quando isso acontece, as respostas por meio da imunidade adaptativa são imediatamente estimuladas, para cumprirem e tentarem resolver o que as defesas inatas não conseguiram. Em suma, a imunidade inata funciona sobretudo através de três principais etapas: reconhecimento de agentes infecciosos e células danificadas, ativação de mecanismos e eliminação de substâncias indesejadas (Delves et al., 2011; Gracie & Farrell, 2014; Kroger et al., 2015; Kumar et al., 2015).

A **imunidade adaptativa** é uma imunidade adquirida que requer a estimulação de mecanismos para haver um reconhecimento do agente patogénico após um primeiro contacto com o mesmo. Não é tão imediata nem estacionária como a imunidade inata, só é desenvolvida posteriormente, mas é capaz de se tornar ainda mais eficaz, pois tem uma evolução ao longo do tempo e adapta-se especialmente ao patogénico. A resposta imune adaptativa depende de células apresentadoras de antígenos (APCs) como as CDs para ativação. O reconhecimento do agente patogénico deve-se à capacidade de criação

de uma memória imunológica que está subjacente ao conceito de vacinação, e ao facto das células mediadoras (os linfócitos) utilizarem recetores altamente específicos capazes de reconhecerem uma ampla e diversificada quantidade de organismos estranhos ou antigénios (Delves et al., 2011; Gracie & Farrell, 2014; Kroger et al., 2015; Kumar et al., 2015).

A imunidade adquirida pode ainda dividir-se em dois tipos: na imunidade humoral e na imunidade celular (ou mediada por células). A **imunidade humoral** consiste na proteção contra os organismos extracelulares e as suas toxinas. Os respetivos intervenientes são os linfócitos B, derivados da medula óssea e responsáveis pela produção de anticorpos. Por sua vez, a **imunidade celular** é mediada por linfócitos T, derivados do timo, e está relacionada com a defesa contra organismos intracelulares, como vírus e bactérias, que possam desencadear infeções por sobreviverem em células hospedeiras e não serem de fácil acesso para os anticorpos em circulação (Abbas et al., 2015; Kumar et al., 2015).

Todas as vacinas se baseiam numa ligação entre o antigénio e os recetores dos linfócitos B e T, em que o antigénio induz a expansão dos linfócitos B e T, sendo que estes são as principais células envolvidas na resposta imunológica adquirida mediando a criação da tal memória imunológica. As células B e T têm assim um papel crucial, na medida em que induzem anticorpos com elevada afinidade para combater a infeção e são responsáveis pela imunidade celular, respetivamente (Davies et al., 2012; Male et al., 2013).

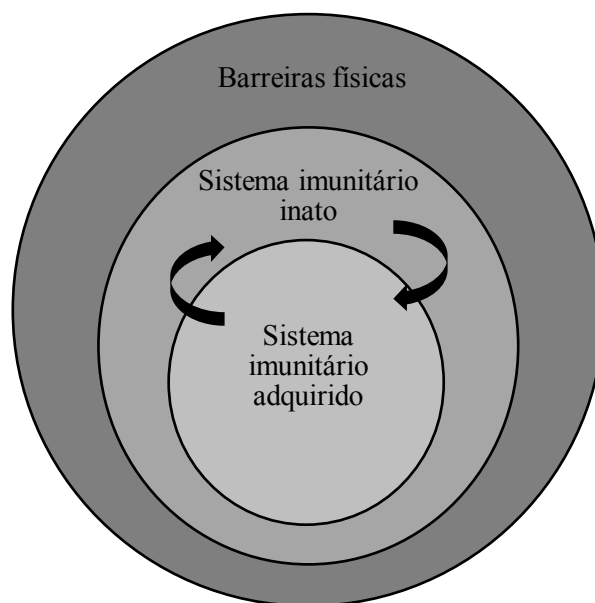


Figura 6 – O sistema imunitário e os seus níveis de defesa. Adaptado de Delves et al. (2011).

A vacina atua como se fosse o primeiro encontro do organismo com o agente patogénico, para que num encontro posterior, a resposta imune seja muito mais rápida e eficaz (Male et al., 2013).

4.3. Desenvolvimento de vacinas

O processo de produção de uma vacina é bastante complexo, arriscado e dispendioso e engloba uma série de exigências, que vão desde a investigação por base, ao desenvolvimento de processos, ensaios pré-clínicos e clínicos até à sua aprovação. Muitas das vezes, os candidatos à vacina não obtêm sucesso nos ensaios pré-clínicos e clínicos, exigindo um recomeço de tentativas. Há aspetos relativamente importantes a considerar, como o baixo custo e acessibilidade, fácil conservação e administração, e acima de tudo, a sua total segurança e eficácia, induzindo o tipo correto de imunidade. A eficácia depende sobretudo do facto da imunização ser prolongada, atuando nos locais específicos do corpo e contra os antigénios específicos, impedindo qualquer risco de contrair a doença. Acredita-se que a elevada eficácia das vacinas contra o papilomavírus se deva sobretudo à estimulação da imunidade humoral, vincando mais uma vez, a importância dos anticorpos na proteção contra a infeção (J. M. Douglas, 2016; R. G. Douglas & Samant, 2013; Gomez et al., 2013; Male et al., 2013; Parslow & Bainton, 2004).

Para que a imunização seja prolongada, é necessário que haja persistência dos anticorpos e que as células responsáveis pela memória imunológica sejam fácil e rapidamente reativadas, para combater e reagir eficazmente a uma exposição do agente patogénico (Siegrist, 2013).

Para uma fácil acessibilidade, o baixo custo é um elemento essencial para o sucesso e financiamento de uma vacina. Ainda que a população tenha preferência por vacinas com baixos preços, não se pode menosprezar o carácter das mesmas, uma vez que evitam custos a longo prazo, e devem ser por isso valorizadas, no sentido em que reduzem custos relacionados com a saúde, aliviam dores e sintomas e previnem infeções complicadas, inclusive a morte. A consciencialização de que os custos de fabricação são bastante elevados é um fator importante a ter em conta. Contudo, quando há competição entre empresas, normalmente, os preços das vacinas diminuem, apesar da rentabilidade ser menor. Para ser bastante influente e poderosa, uma empresa ou indústria responsável

pela produção de vacinas, exige uma certa quantidade de requisitos, tais como: um bom ambiente de pesquisa, com bons patrocínios/ajudas e recheado de ideias criativas; leis de patentes fortes; liberdade de preços e boas práticas de imunização (R. G. Douglas & Samant, 2013).

Aquando do desenvolvimento de uma vacina, são necessários estudos/ensaios que demonstrem e comprovem o efeito das vacinas, tendo em conta a sua segurança e eficácia e o já citado anteriormente. Estes ensaios dividem-se por fases (R. G. Douglas & Samant, 2013):

- Fase 1, onde se testa primeiramente a segurança básica e a imunogenicidade, numa pequena amostra;
- Fase 2, onde se testa a segurança, a dose e a imunogenicidade, num número limitado de participantes ainda que em cerca de 200-400 indivíduos e, por vezes, testa-se a eficácia em modelos animais ou humanos;
- Fase 3, onde se realizam testes de segurança e eficácia decisivos.

Deste modo, para que uma nova vacina seja aprovada, é indispensável ultrapassar várias etapas decisivas. Inicialmente, há uma preparação prévia e são realizados testes em modelos animais e feitas análises toxicológicas, seguido da submissão da nova molécula com potencial atividade terapêutica às entidades reguladoras. Posteriormente, são realizados os tais testes de segurança e eficácia através de ensaios clínicos divididos por fases e, por fim, há uma exposição de todos os dados clínicos obtidos às entidades reguladoras, para revisão final e possível introdução no mercado (Gomez et al., 2013).

Resumidamente, o desenvolvimento de vacinas e a sua segurança dependem sobretudo do processo de fabrico, da conformidade da organização responsável pelo mesmo, do ensaio do produto e outras operações e da autorização regulamentar para introdução do produto no mercado (Gomez et al., 2013).

A vacinação tem como princípios a indução da expansão dos linfócitos e da população de células de memória; a utilização de partículas imunogénicas sem atividade patogénica; a utilização de adjuvantes para aumentar a resposta imunológica e a produção de vacinas seguras, eficazes e acessíveis (Male et al., 2013).

Existem entidades reguladoras, responsáveis por toda a regulamentação de vacinas e pela sua aprovação e lançamento no mercado. Essas entidades são a Food and Drug Administration (FDA) nos Estados Unidos e a European Medicines Agency (EMA) na União Europeia (Gomez et al., 2013).

4.4. Vacinação contra papilomavírus

Nos últimos anos, tem havido um enorme investimento na tentativa da prevenção de muitas doenças que têm como origem o HPV. Estudos nesta área indicam que, até à data, não há propriamente métodos que sejam eficazes na prevenção de verrugas cutâneas, a não ser evitando o contacto com áreas/lesões infecciosas e que, preservativos masculinos conferem proteção contra a aquisição de infeção por HPV nas mulheres, ainda que ambígua, pois a infeção pode ocorrer para além da área coberta pelo preservativo. Assim sendo, a única maneira mais segura de prevenir a infeção pelo HPV é a abstinência de qualquer atividade sexual ou contacto genital com outra pessoa. Contudo, a circuncisão masculina revela um risco menor de transmissão do papilomavírus, e conseqüentemente, de cancro do colo do útero. A realização periódica do exame citológico Papanicolau nas mulheres, é crucial para o diagnóstico e prevenção do mesmo. O facto do vírus ter sido identificado como um dos principais responsáveis por causar inúmeras doenças cancerígenas, conduz à extrema relevância de se prevenir a infeção e conseqüentemente o cancro por vacinação (Bonnez, 2015; Castellsagué et al., 2002; Markowitz et al., 2014; Petrosky et al., 2015; Vigue, 2016; Winer et al., 2006).

Com isto, e devido ao enorme desenvolvimento a nível científico, atualmente existem três tipos de vacinas profiláticas, aprovadas pela FDA e EMA, contra o papilomavírus: a **quadrivalente** (Gardasil), a **bivalente** (Cervarix) e a **9-valente** (Gardasil 9) (Van, 2016). As vacinas são essencialmente utilizadas com o intuito de prevenir infeções por HPV, contra os tipos que se têm vindo a demonstrar serem mais cancerígenos. Estas vacinas não têm a capacidade de tratar nem são utilizadas para esse efeito (ClinicalKey, 2014b).

Usualmente, as vacinas profiláticas são produzidas a partir de partículas virais atenuadas ou inativadas, e têm sido muito bem sucedidas para outros vírus. Mas no caso do papilomavírus, esse processo seria de todo inviável devido ao risco de induzir carcinogénese através de uma vacina com oncogenes, ser demasiado grande, considerando os minuciosos cuidados a ter para evitar a propagação do vírus, e tendo em conta que a população alvo da vacinação contra o HPV seria sobretudo jovens saudáveis. Para além disso, a maioria do conhecimento aprofundado sobre o vírus não tem sido alcançado recorrendo-se a técnicas virológicas convencionais mas sim a técnicas biológicas moleculares e até culturas com modelos mais complexos. Isto aplica-se à dificuldade de crescimento do HPV em cultura de tecidos ou em laboratório,

não permitindo assim a sua produção em larga escala (Bonnez, 2015; Schiller et al., 2013).

As vacinas atenuadas garantem uma proteção permanente, produzindo imunidade praticamente durante toda a vida, em oposição às vacinas inativadas, que geralmente não são tão duradouras, induzem uma resposta imunitária subótima e necessitam, na maior parte das vezes, de um reforço de dose. Deve-se ao facto de, apesar de inicialmente a quantidade de antigénio introduzido nas vacinas inativadas ser maior, o microrganismo não ter capacidade de se multiplicar no hospedeiro devido à total ausência de poder infeccioso. Tal capacidade verifica-se no caso das vacinas atenuadas e a produção de antigénios aumenta logaritmicamente, fazendo com que, a longo prazo, a quantidade de antigénios seja superior, e de certa forma, constante. A quantidade de antigénios é que determina, em grande parte, a resposta imunitária, sendo que uma quantidade insuficiente pode implicar uma ausência da mesma. As vacinas recombinantes, por sua vez, podem tornar-se exceção a esta regra geral, dado que normalmente utilizam um componente bastante imunogénico do vírus, com uma menor capacidade de mutação e de alteração das suas características, considerando também alguns exemplos práticos que demonstram que a memória imunológica neste tipo de vacinas pode perdurar por imensos anos (Buck et al., 2013; Kroger et al., 2015; Male et al., 2013).

Contudo, hoje em dia, a tendência tem sido o desenvolvimento de vacinas inativadas e recombinantes, uma vez que este tipo de vacinas não acarretam riscos de reversibilidade e/ou transmissão do vírus (Davies et al., 2012).

Deste modo, as três vacinas desenvolvidas e disponíveis no mercado são vacinas recombinantes. A primeira vacina recombinante surgiu em meados de 1986 (Hepatite B) e têm por base a expressão/produção do antigénio recorrendo a um sistema de expressão. Este método de tecnologia de DNA recombinante tem sido um método promissor no desenvolvimento de vacinas, pois reforça a sua eficácia e segurança, trazendo progressos significativos na primeira década do século XXI e um grande número de novas vacinas. Há uma manipulação direta da informação genética do vírus e esse material genético modificado é expresso posteriormente em sistemas de expressão, como por exemplo bactérias, leveduras, células animais e células de inseto. A partir daí, são produzidas partículas imunogénicas semelhantes ao vírus mas que não são patogénicas (Cavalcanti & Carestiatto, 2006; Gomez et al., 2013; Male et al., 2013; S. A. Plotkin & Plotkin, 2011; S. L. Plotkin & Plotkin, 2013).

Assim, a sua conceção tem como princípio a utilização de *virus-like particles* (VLPs). As VLPs são produzidas a partir da proteína principal da cápside, a L1, e são purificadas por cromatografia em coluna. A purificação consiste sobretudo na dissociação da proteína em pentâmeros para uma posterior remontagem em VLPs. Como já referido no capítulo 2, a proteína L1 é responsável por formar os 72 pentâmeros que revestem o vírus, e *in vitro*, é capaz de se reunir exatamente em 72 subunidades. As VLPs são partículas não-infeciosas e não-oncogénicas, apesar de partilharem as mesmas propriedades morfológicas e imunológicas que os viriões infecciosos. As VLPs não têm ácido nucleico e isso implica que a vacina não seja propícia a transmitir o vírus tornando-se muito mais segura. As VLPs são capazes de induzir anticorpos neutralizantes numa quantidade suficientemente elevada para impedir a infeção por HPV, e de produzir respostas imunitárias celulares e humorais devido à sua capacidade de criar e estabelecer interações com as *antigen-presenting cells* (APCs) e as células B (Bonnez, 2015; Buck et al., 2013; Chackerian & Schiller, 2012; Gomez et al., 2013; Male et al., 2013; Roldão, M, Castilho, Carrondo, & Alves, 2010; Schiller et al., 2013).

Numa fase posterior, as VLPs são expressas a partir de várias células. Normalmente, quando utilizam apenas uma ou duas proteínas do virião, são expressas em bactérias ou leveduras. No caso do papilomavírus, utilizou-se a levedura *Saccharomyces cerevisiae*, mas também células de inseto da espécie *Trichoplusia ni* infetadas com baculovírus. Neste último sistema, que depende de duas fases, primeiro as células de inseto são cultivadas até uma concentração ótima e depois são infetadas com baculovírus. Apesar de ambos os métodos serem eficazes e atingirem objetivos similares, este sistema bifásico é bastante mais complexo porque consegue utilizar até cinco proteínas (Roldão et al., 2010; Schiller et al., 2013).

O desenvolvimento de vacinas com base em VLPs denuncia inúmeras vantagens em relação a outros tipos de vacinas, tais como (Ulmer et al., 2006; Wang & Roden, 2013):

- Maior segurança comparativamente a vacinas atenuadas ou inativadas, para além de não conterem ácidos nucleicos que lhes permite não se replicarem;
- Elevada eficiência, devido à matriz de repetição com muitas cópias de antigénio, e à semelhança com a estrutura de superfície viral;
- Facilidade de produção em bactérias, leveduras, células de insetos, não sendo necessário recorrer a células de mamíferos;

- Estrutura organizada que lhes permite ser altamente imunogénicas, até mesmo na ausência de adjuvantes;
- Flexibilidade e boa adaptação às condições de fabrico tendo em conta as especificidades do produto;
- Enorme potencial no ramo da biologia molecular, entre outros.

A *Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP)* e o *Centers for Disease Control and Prevention (CDC)* recomendam a vacinação contra o HPV como vacinação de rotina, tanto para meninos como meninas. Apesar de inicialmente, as vacinas terem sido designadas com o principal objetivo de prevenir o cancro do colo do útero nas mulheres, os homens também podem beneficiar das propriedades preventivas da vacina contra doenças como o cancro da orofaringe e no pénis (ACOG, 2015; Brotherton & Ogilvie, 2015).

Recomenda-se que a vacina contra o HPV seja administrada antes da exposição ao vírus, ou seja, antes do início da atividade sexual, para garantir uma maior eficácia. Contudo, não há qualquer entrave na administração da vacina se já tiver existido uma exposição prévia, ou caso se seja sexualmente ativo, pois a vacina ainda consegue ser eficaz. Dados indicam que não há perda de proteção das vacinas contra o HPV após 8-10 anos da administração (ACOG, 2015; ClinicalKey, 2014b; Kroger et al., 2015; Markowitz et al., 2014; Nadal & Manzione, 2010; Targonski, Ovsyannikova, Tosh, Jacobson, & Poland, 2009)

4.4.1. Gardasil, a vacina quadrivalente

A vacina quadrivalente (Gardasil) abrange uma eficácia contra os tipos de HPV 6, 11, 16 e 18 e foi aprovada pela FDA em junho de 2006 (Tabela II). Em setembro do mesmo ano, a Comissão Europeia autorizou a sua introdução no mercado em toda a União Europeia (Baylor, 2006; ClinicalKey, 2014b; EMA, 2014; Kash et al., 2015).

O desenvolvimento da Gardasil marca uma conquista de extrema significância no universo histórico das vacinas, uma vez que é a segunda vacina de prevenção de um cancro humano. A vacina contra a hepatite B foi a primeira (S. L. Plotkin & Plotkin, 2013).

É produzida através da expressão da proteína L1 dos genótipos anteriormente referidos, na levedura *Saccharomyces cerevisiae* e os seus titulares de produção são a Merck and Co, Inc. nos EUA e a Sanofi Pasteur MSD na UE. Foi desenvolvida com o propósito de prevenir as principais infeções causadas por estes tipos de HPV, que incluem, respetivamente, para os tipos de alto risco 16 e 18, o cancro do colo do útero, cancro vulvar, genital e anal; para os tipos de baixo risco 6 e 11, as verrugas genitais (condiloma acuminado) e as seguintes lesões pré-neoplásicas (Baylor, 2006; Bonnez, 2015; ClinicalKey, 2014b; Kash et al., 2015; Merck&Co., 2011; Petrosky et al., 2015):

- Adenocarcinoma cervical *in situ* (AIS),
- Neoplasia intraepitelial cervical (NIC) de grau 2 e 3,
- Neoplasia intraepitelial vulvar (NIV) de grau 2 e 3,
- Neoplasia intraepitelial vaginal (NIVa) de grau 2 e 3,
- Neoplasia intraepitelial cervical (NIC) de grau 1.

Primeiramente, foi indicada exclusivamente para o sexo feminino em idades compreendidas entre os 9 e os 26 anos (Baylor, 2006; CDC, 2010b; ClinicalKey, 2014b; Kash et al., 2015; Petrosky et al., 2015). Mais tarde, em outubro de 2009, a FDA estendeu a utilização da vacina para o sexo masculino dentro da mesma faixa etária anteriormente referida para as mulheres, para prevenção das verrugas genitais causadas pelos tipos de HPV 6 e 11. Cerca de um ano depois, em dezembro de 2010, expandiu-se mais uma vez a aprovação da Gardasil para a prevenção de cancro anal (causado pelos tipos 16 e 18) e prevenção dos graus 1, 2 e 3 de neoplasia intraepitelial anal (6, 11, 16 e 18) tanto no sexo feminino como masculino para o mesmo intervalo de idades (CDC, 2010b; ClinicalKey, 2014b; FDA, 2009b).

4.4.2. Cervarix, a vacina bivalente

A vacina bivalente (Cervarix) foi aprovada pela FDA em outubro de 2009, mas desde 20 de setembro de 2007 que a Comissão Europeia concedeu uma AIM válida para toda a UE. Foi desenvolvida com o intuito de prevenir as infeções causadas pelos tipos de HPV 16 e 18, em mulheres com idades compreendidas entre os 10 e os 25 anos (Tabela II). Em julho de 2011, estendeu-se esta indicação, passando-se a incluir também no grupo de prevenção, os 9 anos de idade, alargando assim a faixa etária anterior, no entanto não está aprovado o seu uso no sexo masculino, uma vez que os tipos acima

referidos são mais específicos do colo do útero (CDC, 2010a; ClinicalKey, 2014a; EMA, 2016a; FDA, 2009a; GlaxoSmithKline, 2016; Miller, 2011).

Ao contrário da vacina quadrivalente, a Cervarix é produzida a partir de VLPs da proteína L1 utilizando a expressão de baculovírus, que utiliza células de insetos da espécie *Trichoplusia ni* (Bonnez, 2015; CDC, 2010a; EMA, s.d.; Petrosky et al., 2015).

A vacina confere proteção contra doenças como o cancro do colo do útero e as seguintes lesões pré-neoplásicas características dos tipos de HPV 16 e 18 (FDA, 2009a; GlaxoSmithKline, 2016):

- Neoplasia intraepitelial cervical (NIC) de grau 2 ou superior,
- Adenocarcinoma *in situ*,
- Neoplasia intraepitelial cervical (NIC) de grau 1.

4.4.3. Gardasil 9, a vacina 9-valente

A vacina 9-valente (Gardasil 9), como assim o indica, é eficaz contra 9 tipos de HPV, incluindo os presentes na vacina quadrivalente, ou seja, os tipos 6, 11, 16 e 18, e em adição inclui mais os tipos 31, 33, 45, 52 e 58 (Tabela II). Estes últimos são responsáveis por ainda causar uns modestos 20% dos cancros do colo do útero. Esta maior cobertura de tipos faz com que se estime uma eficácia de prevenção dos cancros do colo do útero, vulvar, vaginal e anal, a rondar os 90% (Bonnez, 2015; FDA, 2014).

A sua prevenção abrange, em mulheres, doenças como o cancro do colo do útero, da vulva, da vagina e do ânus, causadas pelos tipos de HPV 16, 18, 31, 33, 45, 52 e 58; verrugas genitais (condiloma acuminado) provenientes dos tipos 6 e 11, e ainda, todas as seguintes lesões pré-neoplásicas causadas pelos 9 tipos constituintes da vacina (EMA, 2016b; Gruber, 2014; Neuhauser, 2015):

- Neoplasia intraepitelial cervical (NIC) de grau 2/3 e adenocarcinoma cervical *in situ* (AIS),
- Neoplasia intraepitelial cervical (NIC) de grau 1,
- Neoplasia intraepitelial vulvar (NIV) de grau 2 e 3,
- Neoplasia intraepitelial vaginal (NIVa) de grau 2 e 3,
- Neoplasia intraepitelial anal (NIA) de grau 1, 2 e 3.

No sexo masculino, tem a capacidade de prevenir o cancro do ânus causado pelos tipos de HPV 16, 18, 31, 33, 45 e 58; verrugas genitais (condiloma acuminado)

causadas pelos tipos 6 e 11, e também as lesões pré-neoplásicas que digam respeito aos 9 tipos, incluindo a neoplasia intraepitelial anal (NIA) de grau 1, 2 e 3 (Gruber, 2014; Neuhauser, 2015).

A sua aprovação pela FDA realizou-se em meados de dezembro de 2014. Em fevereiro de 2015, a ACIP, responsável pelo desenvolvimento de recomendações sobre o uso de vacinas nos EUA, recomendou a utilização da Gardasil 9 como uma das três vacinas de rotina para o HPV. Foi recomendada para mulheres com idades entre os 9 e os 26 anos, tal como a Gardasil quadrivalente, e para homens entre os 9 e os 15 anos. Posteriormente, em 10 de junho de 2015, a Comissão Europeia lançou uma AIM válida para toda a União Europeia, e nesse mesmo ano, em dezembro, a sua utilização estendeu-se para os homens dentro da mesma faixa etária anteriormente referida para as mulheres. Em outubro de 2016, foi aprovado um regime de apenas duas doses para crianças e adolescentes entre os 9 e 14 anos (Bonnez, 2015; ClinicalKey, 2016; EMA, 2016b; FDA, 2014; Gruber, 2014; Neuhauser, 2015; Petrosky et al., 2015).

4.4.4. Análise crítica

Apesar de se basearem nos mesmos princípios e se igualem em inúmeras características, as três vacinas, para além de diferirem nos tipos de HPV para os quais são eficazes, diferem em muitos aspetos.

Em relação aos adjuvantes, a vacina Gardasil e Gardasil 9 utilizam o sulfato de hidroxifosfato de alumínio amorfo, enquanto que a Cervarix contém o AS04, uma combinação de hidróxido de alumínio e lípido A 3-O-desacetilo-4'-monofosforilo. Adjuvantes são caracterizados por auxiliarem no aumento da estimulação do sistema imunitário e os sais de alumínio são os mais frequentemente utilizados (Kroger et al., 2015; Petrosky et al., 2015; Siegrist, 2013)

O número de doses de administração é igual para todas, contudo, a segunda dose é dada no mês seguinte à primeira, no caso da Cervarix, ao passo que para as restantes é administrada dois meses depois (Bonnez, 2015; CDC, 2010a; EMA, s.d.; Petrosky et al., 2015; Van, 2016).

Os preços também diferem entre as três vacinas, variando entre 72,47€ e 145,34€ (Tabela II). No que diz respeito à comercialização das três vacinas, em Portugal, apesar de já ter sido lançada uma AIM, a Gardasil 9 sendo a mais recente, é a única que ainda

não é comercializada. No entanto, já existe preço de mercado válido disponível (Infarmed, s.d.-a, s.d.-b, s.d.-c).

Ensaio clínico evidenciam uma impressionante eficácia das vacinas, que têm demonstrado um excelente perfil de segurança, são altamente imunogénicas e têm conferido a proteção específica completa e adequada contra as infeções pelo papilomavírus. As vacinas quadrivalente e 9-valente têm-se relevado seguras e eficazes, partilhando de um perfil de segurança semelhante. A vacina bivalente também tem demonstrado segurança e eficácia, sem grandes efeitos adversos relatados relacionados com a sua administração (Brotherton & Ogilvie, 2015; Kash et al., 2015; Lowy & Schiller, 2006; Van, 2016).

Estudos comprovam a eficácia da vacina quadrivalente em homens na prevenção das infeções causadas pelos genótipos constituintes da vacina e o desenvolvimento de lesões genitais externas. No caso da Cervarix, estudos em mulheres revelaram a sua capacidade de reduzir a taxa de infeção em mais de 90%, para além de terem conseguido demonstrar que ao longo do tempo, essa eficácia poderia perdurar até alcançar os 100% de eficácia, num tempo previsto de 46 meses. Em relação à Gardasil 9, foi testada a sua eficácia em mulheres, obtendo-se uma estimativa de 96,7% (Giuliano et al., 2011; Hawkes, Lea, & Berryman, 2013).

Foram também realizados estudos comparando a vacina Gardasil e a Gardasil 9, que indicam uma incidência de efeitos adversos no local da administração, nomeadamente, dor, inchaço, eritema e prurido, numa maior proporção nos indivíduos aos quais foi administrado a Gardasil 9 (90,7%) comparativamente à Gardasil (84,9%). Efeitos adversos de intensidade mais severa também foram mais comuns na Gardasil 9, embora não sejam de todo preocupantes. Este resultado já era expectável dado que a vacina 9-valente contém uma maior quantidade de antigénios e adjuvante que a quadrivalente. O perfil de segurança das duas vacinas é, no entanto muito semelhante, ainda que a probabilidade de vermelhidão e inchaço seja maior na Gardasil 9 (Hawkes et al., 2013; Joura et al., 2015).

Outros estudos revelam que a adição dos tipos HPV31, HPV33, HPV45, HPV52 e HPV58 na nova vacina profilática, a Gardasil 9, pode aumentar a proteção contra o cancro do colo do útero, mais especificamente, em cerca de 14,7% (Saraiya et al., 2015). Joura et al., (2015) refere que a vacina Gardasil 9 tem um enorme potencial dado que pode aumentar a prevenção do cancro do colo do útero de 70% para 90%.

Relativamente à Cervarix, foram relatados alguns efeitos adversos ligeiros que se resolvem espontaneamente. No local da injeção, dor, vermelhidão ou inchaço e para além disso, febre, dores de cabeça e fadiga, alterações gastrointestinais, dores abdominais e dores musculares (CDC, 2011).

Quando comparamos as três vacinas, na minha opinião, ainda é relativamente cedo para afirmar se vão ser completamente efetivas, a longo prazo, tendo em vista se vão ou não reduzir significativamente o aparecimento de infeções causadas pelo papilomavírus. Sendo uma temática ainda bastante recente, é normal que esses dados ainda não sejam evidentes, uma vez que são necessários alguns anos para se fazer estudos e retirar estatísticas e conclusões. Neste momento, estamos no patamar em que apenas testamos quão a eficácia da vacina vai conseguir reduzir taxas de incidência de doenças, resultados que só saberemos num futuro próximo. No entanto, considero que a nova vacina, a Gardasil 9, uma vez que é eficaz contra mais genótipos de HPV, tenha um grande potencial para prevenção de inúmeras patologias e uma maior eficácia, comparativamente com as outras.

Tabela II – Características das três vacinas contra o papilomavírus humano. Adaptado de Bonnez (2015), CDC (2010), EMA (s.d.), Infarmed (s.d.-a, s.d.-b, s.d.-c), Petrosky et al. (2015) e Van (2016).

	Gardasil	Cervarix	Gardasil 9
Característica	Quadrivalente	Bivalente	9-valente
VLPs	6, 11, 16, 18	16, 18	6, 11, 16, 18, 31, 33, 45, 52, 58
Adjuvantes	Sulfato de hidroxifosfato de alumínio amorfo	AS04 (hidróxido de alumínio + lípido A 3-O-desacetilo-4'-monofosforilo)	Sulfato de hidroxifosfato de alumínio amorfo
Sistema de expressão	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Células de inseto da espécie <i>Trichoplusia ni</i> (a partir da expressão de baculovírus)	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
Data de autorização (FDA)	08/06/2006	16/10/2009	10/12/2014
Data de autorização (EMA)	20/09/2006	20/09/2007	10/06/2015
Titular	Sanofi Pasteur MSD* e Merck and Co, Inc.†	GlaxoSmithKline Biologicals	Sanofi Pasteur MSD* e Merck and Co, Inc.†
Forma farmacêutica	Suspensão injetável		
Administração	Via intramuscular		
Volume por dose	0,5mL		
Nº de doses	3 (0, 2 e 6 meses)	3 (0, 1 e 6 meses)	3 (0, 2 e 6 meses)
Armazenamento	Sob refrigeração		
Preço (em Portugal)	119,81€	72,47€	145,34€
Comparticipação	0%	37%	0%

*Titular de produção em Portugal

†Titular de produção nos EUA

5. CONCLUSÃO

O papilomavírus atingiu o seu maioritário destaque aquando do estabelecimento duma relação direta causal com o cancro do colo do útero, tornando-se num assunto de extrema importância para a saúde pública, dado as suas estratégias para persistir na população.

Sendo o HPV uma das doenças sexualmente transmissíveis mais comuns, é necessário, uma vez mais, inculcar e reforçar a ideia, sobretudo nos jovens, da importância da utilização de métodos de proteção contra doenças sexualmente transmissíveis, nomeadamente o preservativo. Ressalve-se que esta advertência não é apenas importante para prevenção do HPV, mas para tantas outras doenças sexualmente transmissíveis de extrema relevância. No entanto, também é realmente importante a prevenção da infeção a partir da realização regular do exame Papanicolau, uma vez que as vacinas são eficazes contra certos tipos de HPV mas não contra muitos outros que podem causar inúmeras lesões.

Deste modo, a tendência é tentar diminuir taxas de incidências de doenças e até mesmo erradicá-las quando se começam a tornar, de certo modo, pandémicas. As vacinas, seguramente, diminuem taxas de incidência de doenças e sem dúvida que a vacina contra o HPV teve e terá um impacto bastante significativo nas taxas de infeção pelo HPV. O sucesso e eficácia das vacinas contra o papilomavírus são capazes de suscitar interesse na produção de outras vacinas baseadas em VLPs e provenientes da mesma engenharia genética.

Podem ser levantadas questões como, por exemplo: “Qual seria a melhor maneira de criar uma vacina para prevenir as infeções causadas pelo papilomavírus?”. Obviamente que o mais indicado seria produzir uma vacina que abrangesse o maior número de tipos possível de HPV. Daí, a Gardasil 9 (a mais recente) possuir enorme potencial tendo em conta que das três disponíveis, é a que cobre mais genótipos, e por isso, seja também a de maior valor. Visto existirem mais de 150 tipos diferentes de HPV, pelo menos, isto seria de todo praticamente impossível. Por esse motivo, houve necessidade de criar vacinas com os tipos de HPV mais oncogénicos, mais infecciosos e mais preocupantes. Uma vez que os genótipos de HPV diferem todos no mínimo em 10% do seu gene L1, em termos utópicos, o ideal seria encontrar a maior porção comum

da proteína L1 entre todos e produzir uma vacina com esse componente. Deste modo, teríamos a vacina provavelmente mais eficaz contra o maior número de genótipos de HPV possível.

Concluo assim, afirmando que a vacinação é indubitavelmente a melhor estratégia de prevenção e traz enormes benefícios do ponto de vista da saúde pública. Contudo, há sempre que ter em conta questões económicas, políticas de saúde pública e atitudes sociais que a influenciam inquestionavelmente. Relativamente às vacinas produzidas exclusivamente para o papilomavírus, deve ser revista regularmente a sua eficácia e, durante os próximos anos, é necessário um acompanhamento controlado dos progressos que vão sendo feitos e alcançados.

Presumo que, a longo prazo, sejam obtidos bons resultados, mas creio que para isso, também é necessário continuar a insistir num maior número de crianças vacinadas, alertar a população para a sua real importância, dependendo sobretudo de um esforço na educação, para que num futuro próximo, as vacinas conduzam à diminuição das doenças cancerígenas e inclusive, mortes associadas.

Dado ser uma temática bastante atual, sujeita a evoluções constantes, com a disponibilidade de novas tecnologias e o progresso do conhecimento científico acerca de princípios imunológicos subjacentes a vacinas, cada vez mais é possível produzir novas vacinas, mais seguras e mais eficazes. Portanto, é inevitável que não se imagine um futuro bastante promissor no desenvolvimento de vacinas, inclusive no desenvolvimento de novas vacinas concretamente para o papilomavírus. E até mesmo, em novas vacinas contra o HPV para indivíduos já infetados, neste caso, o desenvolvimento de vacinas terapêuticas.

Bibliografia

- Abbas, A. K., Lichtman, A. H., & Pillai, S. (2015). Properties and Overview of Immune Responses. *Cellular and Molecular Immunology* (8th ed., pp. 1–12). Philadelphia: Elsevier Inc.
- ACOG. (2015). Committee Opinion No. 641: Human Papillomavirus Vaccination. *The American College of Obstetricians and Gynecologists*, 126(3), e.38-e.43. <http://doi.org/10.1097/AOG.0000000000001052>
- Andrei, G., Clercq, E. De, & Snoeck, R. (2009). Viral DNA Polymerase Inhibitors. In *Viral Genome Replication* (pp. 481–526). Springer Science+Business Media. <http://doi.org/10.1007/b135974>
- Baylor, N. W. (2006). Approval Letter - Human Papillomavirus Quadrivalent (Types 6, 11, 16, 18) Vaccine, Recombinant. Consultado a 31/08/2016. Disponível em <http://www.fda.gov/BiologicsBloodVaccines/Vaccines/ApprovedProducts/ucml11283.htm>
- Bernard, H.-U. (2007). Phylogeny and Typing of Papillomaviruses. *The Papillomaviruses* (pp. 29–44). New York: Springer Science+Business Media.
- Bernard, H.-U., Burk, R. D., Chen, Z., Doorslaer, K. van, Hausen, H. zur, & Villiers, E.-M. de. (2010). Classification of Papillomaviruses (PVs) Based on 189 PV Types and Proposal of Taxonomic Amendments. *Virology* (Vol. 401, pp. 70–79). Elsevier Inc. <http://doi.org/10.1016/j.virol.2010.02.002>
- Bonnez, W. (2015). Papillomaviruses. *Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases* (8th ed., p. 1794–1806.e4). Elsevier Inc.
- Bravo, I. G., de Sanjosé, S., & Gottschling, M. (2010). The clinical importance of understanding the evolution of papillomaviruses. *Trends in Microbiology*, 18(10), 432–438. <http://doi.org/10.1016/j.tim.2010.07.008>
- Brinster, N. K., Liu, V., Diwan, A. H., & McKee, P. H. (2011). Condyloma Acuminatum. *Dermatopathology: High-Yield Pathology* (p. 207). Elsevier Inc.
- Brotherton, J. M. L., & Ogilvie, G. S. (2015). Current status of human papillomavirus vaccination. *Current Opinion in Oncology*, 27(5), 399–404. <http://doi.org/10.1097/CCO.0000000000000211>
- Buck, C. B., Day, P. M., & Trus, B. L. (2013). The papillomavirus major capsid protein L1. *Virology* (Vol. 445, pp. 169–174). Elsevier Inc. <http://doi.org/10.1016/j.virol.2013.05.038>
- Castellsagué, X. (2008). Natural history and epidemiology of HPV infection and cervical cancer. *Gynecologic Oncology*, 110(3 Suppl 2), S4–S7. <http://doi.org/10.1016/j.ygyno.2008.07.045>

- Castellsagué, X., Bosch, F. X., Muñoz, N., Meijer, C. J. L. M., Shah, K. V., Sanjosé, S. de, ... Franceschi, S. (2002). Male Circumcision, Penile Human Papillomavirus Infection, and Cervical Cancer in Female Partners. *The New England Journal of Medicine*, 346(15), 1105–1112. <http://doi.org/10.1056/NEJMoa011688>
- Cavalcanti, S. M. B., & Carestiato, F. N. (2006). Infecções Causadas Pelos Papilomavírus Humanos Atualização Sobre Aspectos Viroológicos, Epidemiológicos E Diagnóstico. *DST - Jornal Brasileiro de Doenças Sexualmente Transmissíveis*, 18(1), 73–79.
- CDC. (2010a). FDA Licensure of Bivalent Human Papillomavirus Vaccine (HPV2, Cervarix) for Use in Females and Updated HPV Vaccination Recommendations from the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP). *MMWR. Morbidity and Mortality Weekly Report*, 59, 626–629.
- CDC. (2010b). FDA Licensure of Quadrivalent Human Papillomavirus Vaccine (HPV4, Gardasil) for Use in Males and Guidance from the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP). *MMWR. Morbidity and Mortality Weekly Report*, 59, 630–631.
- CDC. (2011). HPV (Human Papillomavirus) Cervarix® VIS. Consultado a 09/09/2016. Disponível em <http://www.cdc.gov/vaccines/hcp/vis/vis-statements/hpv-cervarix.html>
- Chackerian, B., & Schiller, J. T. (2012). Virus-like Particles as Antigen Scaffolds. *Vaccinology Principles and Practice* (pp. 196–208). West Sussex: Wiley-Blackwell.
- ClinicalKey. (2014a). Human Papillomavirus Bivalent Vaccine. Consultado a 28/09/2016. Disponível em https://www.clinicalkey.com/#!/content/drug_monograph/6-s2.0-3510
- ClinicalKey. (2014b). Human Papillomavirus Quadrivalent Vaccine. Consultado a 28/09/2016. Disponível em https://www.clinicalkey.com/#!/content/drug_monograph/6-s2.0-3968?scrollTo=#References
- ClinicalKey. (2016). Human Papillomavirus 9-Valent Vaccine. Consultado a 28/09/2016. Disponível em https://www.clinicalkey.com/#!/content/drug_monograph/6-s2.0-3967?scrollTo=#References
- Cubie, H. A., Cuschieri, K. S., & Tong, C. Y. W. (2012). Papillomaviruses and polyomaviruses. *Medical Microbiology* (18th ed., pp. 452–463). Elsevier Ltd. <http://doi.org/10.1016/B978-0-7020-4089-4.00060-3>
- Davies, D. H., Schmidt, C. S., & Sheikh, N. A. (2012). Concept and Scope of Modern Vaccines. *Vaccinology Principles and Practice* (pp. 3–11). West Sussex: Wiley-Blackwell.

- Delves, P. J., Martin, S. J., Burton, D. R., & Roitt, I. M. (2011). Innate immunity. *Roitt's Essential Immunology* (12th ed., pp. 3–34). Oxford: Blackwell.
- Derkay, C. S., & Wiatrak, B. (2008). Recurrent Respiratory Papillomatosis: A Review. *The Laryngoscope*, *118*(7), 1236–1247. <http://doi.org/10.1097/MLG.0b013e31816a7135>
- Doorbar, J. (2006). Molecular biology of human papillomavirus infection and cervical cancer. *Clinical Science*, *110*(5), 525–541. <http://doi.org/10.1042/CS20050369>
- Doorbar, J. (2015). Model systems of human papillomavirus-associated disease. *Journal of Pathology*, *238*(2), 166–179. <http://doi.org/10.1002/path.4656>
- Doorbar, J., Egawa, N., Griffin, H., Kranjec, C., & Murakami, I. (2015). Human papillomavirus molecular biology and disease association. *Reviews in Medical Virology*, *25*, 2–23. <http://doi.org/10.1002/rmv>
- Doorbar, J., Quint, W., Banks, L., Bravo, I. G., Stoler, M., Broker, T. R., & Stanley, M. A. (2012). The biology and life-cycle of human papillomaviruses. *Vaccine*, *30*(Suppl 5), F55–F70. <http://doi.org/10.1016/j.vaccine.2012.06.083>
- Douglas, J. M. (2016). Papillomavirus. *Goldman-Cecil Medicine* (25th ed., p. 2219–2223.e3). Elsevier Inc.
- Douglas, R. G., & Samant, V. B. (2013). The vaccine industry. *Vaccines* (6th ed., pp. 33–43). Elsevier Inc. Disponível em <http://dx.doi.org/10.1016/B978-1-4557-0090-5.00018-5>
- EMA. (s.d.). Resumo das Características do Medicamento (RCM) - Cervarix. Consultado a 09/09/2016. Disponível em www.ema.europa.eu/docs/pt_PT/document_library/.../WC500024632.pdf
- EMA. (2014). Gardasil. Consultado a 09/09/2016. Disponível em http://www.ema.europa.eu/ema/index.jsp?curl=pages/medicines/human/medicines/000703/human_med_000805.jsp&mid=WC0b01ac058001d124
- EMA. (2016a). Cervarix. Consultado a 09/09/2016. Disponível em http://www.ema.europa.eu/ema/index.jsp?curl=pages/medicines/human/medicines/000721/human_med_000694.jsp&mid=WC0b01ac058001d124
- EMA. (2016b). Gardasil 9. Consultado a 09/09/2016. Disponível em http://www.ema.europa.eu/ema/index.jsp?curl=pages/medicines/human/medicines/003852/human_med_001863.jsp&mid=WC0b01ac058001d124
- FDA. (2009a). Approval Letter - Cervarix. Consultado a 29/08/2016. Disponível em <http://www.fda.gov/BiologicsBloodVaccines/Vaccines/ApprovedProducts/ucm186959.htm>
- FDA. (2009b). FDA Approves New Indication for Gardasil to Prevent Genital Warts in Men and Boys. Consultado a 01/09/2016. Disponível em

<http://www.fda.gov/NewsEvents/Newsroom/PressAnnouncements/ucm187003.htm>

- FDA. (2014). FDA approves Gardasil 9 for prevention of certain cancers caused by five additional types of HPV. Consultado a 01/09/2016. Disponível em <http://www.fda.gov/NewsEvents/Newsroom/PressAnnouncements/ucm426485.htm>
- Ferraz, L. de C., Santos, A. B. R., & Discacciati, M. G. (2012). Ciclo celular, HPV e evolução da neoplasia intraepitelial cervical: seleção de marcadores biológicos. *Journal of the Health Sciences Institute*, 30(2), 107–111.
- Gillison, M. L., Chaturvedi, A. K., & Lowy, D. R. (2008). HPV Prophylactic Vaccines and the Potential Prevention of Noncervical Cancers in Both Men and Women. *Cancer*, 113(10 Suppl), 3036–3046. <http://doi.org/10.1002/cncr.23764>
- Giuliano, A. R., Palefsky, J. M., Goldstone, S., Jr., E. D. M., Penny, M. E., Aranda, C., ... Guris, D. (2011). Efficacy of Quadrivalent HPV Vaccine against HPV Infection and Disease in Males. *The New England Journal of Medicine*, 364(5), 401–411. <http://doi.org/10.1056/NEJMoa0909537>.Efficacy
- GlaxoSmithKline. (2016). CERVARIX® [Human Papillomavirus Bivalent (Types 16 and 18) Vaccine, Recombinant]. Consultado a 06/09/2016. Disponível em <https://www.gsksource.com/cervarix>
- Gomez, P. L., Robinson, J. M., & Rogalewicz, J. A. (2013). Vaccine manufacturing. *Vaccines* (6th ed., pp. 44–57). Elsevier Inc. Disponível em <http://dx.doi.org/10.1016/B978-1-4557-0090-5.00019-7>
- Gracie, J. A., & Farrell, A. (2014). The Immune Response. *Medical Biochemistry* (pp. 496–512). Elsevier Ltd.
- Gruber, M. F. (2014). Approval Letter -GARDASIL 9. Consultado a 01/09/2016. Disponível em <http://www.fda.gov/BiologicsBloodVaccines/Vaccines/ApprovedProducts/ucm426520.htm>
- Hawkes, D., Lea, C. E., & Berryman, M. J. (2013). Answering human papillomavirus vaccine concerns; a matter of science and time. *Infectious Agents and Cancer*, 8(22), 1–8. <http://doi.org/10.1186/1750-9378-8-22>
- Howley, P. M., Schiller, J. T., & Lowy, D. R. (2013). Papillomaviruses. *Fields Virology Volume II* (6th ed., pp. 1662–1703). Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins.
- Iglesias, M. C., Appay, V., & Moris, A. (2012). Immunologic Memory: T Cells in Humans. *Vaccinology Principles and Practice* (pp. 61–78). West Sussex: Wiley-Blackwell.
- Infarmed. (s.d.-a). Infomed - Cervarix. Consultado a 30/09/2016. Disponível em http://www.infarmed.pt/infomed/detalhes.php?med_id=42367&dci=&nome_comer

=Y2VydmFyaXg=&dosagem=&cnpem=&chnm=&forma_farmac=&atc=&disp=&estado_aim=&pesquisa_titular=&cft=&grupo_produto=&pagina=1

Infarmed. (s.d.-b). Infomed - Gardasil. Consultado a 30/09/2016. Disponível em http://www.infarmed.pt/infomed/detalhes.php?med_id=41244&dci=&nome_comer=Z2FyZGFzaWw=&dosagem=&cnpem=&chnm=&forma_farmac=&atc=&disp=&estado_aim=&pesquisa_titular=&cft=&grupo_produto=&pagina=1

Infarmed. (s.d.-c). Infomed - Gardasil 9. Consultado a 30/09/2016. Disponível em http://www.infarmed.pt/infomed/detalhes.php?med_id=596502&dci=&nome_comer=Z2FyZGFzaWw=&dosagem=&cnpem=&chnm=&forma_farmac=&atc=&disp=&estado_aim=&pesquisa_titular=&cft=&grupo_produto=&pagina=1

Joura, E. A., Giuliano, A. R., Iversen, O.-E., Bouchard, C., Mao, C., Mehlsen, J., ... Luxembourg, A. (2015). A 9-Valent HPV Vaccine against Infection and Intraepithelial Neoplasia in Women. *The New England Journal of Medicine*, 372(8), 711–23. <http://doi.org/10.1056/NEJMoa1405044>

Kash, N., Lee, M. A., Kollipara, R., Downing, C., Guidry, J., & Tyring, S. K. (2015). Safety and Efficacy Data on Vaccines and Immunization to Human Papillomavirus. *Journal of Clinical Medicine*, 4(4), 614–633. <http://doi.org/10.3390/jcm4040614>

Kirnbauer, R., & Lenz, P. (2012). Human Papillomaviruses. *Dermatology* (3rd ed., pp. 1303–1319). Elsevier Ltd.

Kroger, A. T., Pickering, L. K., Wharton, M., Mawle, A., Hinman, A. R., & Orenstein, W. A. (2015). Immunization. *Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases* (8th ed., p. 3516–3553.e5). Elsevier Inc.

Kumar, V., Abbas, A. K., & Aster, J. C. (2015). Diseases of the Immune System. *Robbins and Cotran Pathologic Basis of Disease* (9th ed., pp. 185–264). Elsevier Inc.

Ledwaba, T., Dlamini, Z., Naicker, S., & Bhoola, K. (2004). Molecular genetics of human cervical cancer: Role of papillomavirus and the apoptotic cascade. *Biological Chemistry*, 385(8), 671–682. <http://doi.org/10.1515/BC.2004.083>

Leto, M. das G. P., Porro, A. M., dos Santos Júnior, G. F., & Tomimori, J. (2011). Infecção pelo papilomavírus humano: Etiopatogenia, biologia molecular e manifestações clínicas. *Anais Brasileiros de Dermatologia*, 86(2), 306–317. <http://doi.org/10.1590/S0365-05962011000200014>

Longworth, M. S., & Laimins, L. A. (2004). Pathogenesis of Human Papillomaviruses in Differentiating Epithelia. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 68(2), 362–372. <http://doi.org/10.1128/MMBR.68.2.362-372.2004>

Lowy, D. R. (2007). History of Papillomavirus Research. *The Papillomaviruses* (pp. 13–28). New York: Springer Science+Business Media.

- Lowy, D. R., & Schiller, J. T. (2006). Prophylactic human papillomavirus vaccines. *The Journal of Clinical Investigation*, 116(5), 1167–1173. <http://doi.org/10.1172/JCI28607>
- Male, D., Brostoff, J., Roth, D. B., & Roitt, I. M. (2013). Vaccination. *Immunology* (8th ed., pp. 289–291). Elsevier Ltd.
- Markowitz, L. E., Dunne, E. F., Saraiya, M., Chesson, H. W., Curtis, C. R., Gee, J., ... Unger, E. R. (2014). Human Papillomavirus Vaccination Recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP). *MMWR. Morbidity and Mortality Weekly Report*, 63(1), 1–30. Disponível em <http://www.scopus.com/inward/record.url?eid=2-s2.0-484907813308&partnerID=tZOtx3y1>
- Merck&Co. (2011). GARDASIL® [Human Papillomavirus Quadrivalent (Types 6, 11, 16, and 18) Vaccine, Recombinant] Suspension for intramuscular injection. Consultado a 05/09/2016. Disponível em https://www.merck.com/product/usa/pi_circulars/g/gardasil/gardasil_pi.pdf
- Miller, N. B. (2011). Clinical Review of Human Papillomavirus Bivalent (Types 16 and 18) Vaccine, Recombinant, Biologics License Application Efficacy Supplement. Consultado a 06/09/2016. Disponível em <http://www.fda.gov/downloads/BiologicsBloodVaccines/Vaccines/ApprovedProducts/UCM275246.pdf>
- Moody, C. A., & Laimins, L. A. (2010). Human papillomavirus oncoproteins: pathways to transformation. *Nature Reviews Cancer*, 10(8), 550–560. <http://doi.org/10.1038/nrc2886>
- Nadal, S. R., & Manzione, C. R. (2010). Vacina Contra o Papilomavirus Humano. O Que é Preciso Saber? *Revista Brasileira de Coloproctologia*, 30(2), 237–240. <http://doi.org/10.1590/S0101-98802010000200018>
- Neuhauser, M. (2015). Human Papillomavirus 9-valent Vaccine (Gardasil 9 ®). Consultado a 05/09/2016. Disponível em www.pbm.va.gov/?clinicalguidance/?drugmonographs/?hvp9_vaccine_monograph.pdf
- Parslow, T. G., & Bainton, D. F. (2004). Imunidade Inata. *Imunologia Médica* (10th ed., pp. 16–33). Rio de Janeiro: Guanabara Koogan.
- Patel, T., Morrison, L. K., Rady, P., & Tying, S. (2010). Epidermodysplasia verruciformis and susceptibility to HPV. *Disease Markers*, 29(3–4), 199–206. <http://doi.org/10.3233/DMA-2010-0733>
- Patterson, J. W. (2016). Viral diseases. *Weedon's Skin Pathology* (4th ed., Vol. 26, p. 717–746.e15). Elsevier Ltd. [http://doi.org/10.1016/S1040-0486\(00\)90049-8](http://doi.org/10.1016/S1040-0486(00)90049-8)
- Petrosky, E., Jr, J. A. B., Hariri, S., Chesson, H., Curtis, C. R., Saraiya, M., ... Markowitz, L. E. (2015). Use of 9-Valent Human Papillomavirus (HPV) Vaccine:

- Updated HPV Vaccination Recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices. *MMWR. Morbidity and Mortality Weekly Report*, 64(11), 300–304.
- Plotkin, S. A., & Plotkin, S. L. (2011). The development of vaccines: how the past led to the future. *Nature Reviews Microbiology*, 9(12), 889–893. <http://doi.org/10.1038/nrmicro2668>
- Plotkin, S. L., & Plotkin, S. A. (2013). A short history of vaccination. *Vaccines* (6th ed., pp. 1–13). Elsevier Inc. Disponível em <http://dx.doi.org/10.1016/B978-1-4557-0090-5.00017-3>
- Ramoz, N., Rueda, L.-A., Bouadjar, B., Montoya, L.-S., Orth, G., & Favre, M. (2002). Mutations in two adjacent novel genes are associated with epidermodysplasia verruciformis. *Nature Genetics*, 32, 579–581. <http://doi.org/10.1038/ng1044>
- Roldão, A., M., M. C. M., Castilho, L. R., Carrondo, M. J., & Alves, P. M. (2010). Virus-like particles in vaccine development. *Expert Reviews Vaccines*, 9(10), 1149–1176. <http://doi.org/10.1586/ERV.10.115>
- Saraiya, M., Unger, E. R., Thompson, T. D., Lynch, C. F., Hernandez, B. Y., Lyu, C. W., ... Goodman, M. T. (2015). US Assessment of HPV Types in Cancers: Implications for Current and 9-Valent HPV Vaccines. *Journal of the National Cancer Institute*, 107(6), 1–12. <http://doi.org/10.1093/jnci/djv086>
- Schiller, J. T., Lowy, D. R., & Markowitz, L. E. (2013). Human papillomavirus vaccines. In *Vaccines* (6th ed., pp. 235–256). Elsevier Inc. Disponível em <http://dx.doi.org/10.1016/B978-1-4557-0090-5.00006-9>
- Siegrist, C. (2013). Vaccine immunology. In *Vaccines* (6th ed., pp. 14–32). Elsevier Inc. <http://doi.org/10.1016/B978-1-4557-0090-5.00004-5>
- Souto, R., Falhari, J. P. B., & Cruz, A. D. da. (2005). O Papilomavírus Humano: um fator relacionado com a formação de neoplasias. *Revista Brasileira de Cancerologia*, 51(2), 155–160.
- Stubenrauch, F., & Laimins, L. A. (1999). Human papillomavirus life cycle: active and latent phases. *Seminars in Cancer Biology*, 9(6), 379–386. <http://doi.org/10.1006/scbi.1999.0141>
- Targonski, P. V., Ovsyannikova, I. G., Tosh, P. K., Jacobson, R. M., & Poland, G. A. (2009). Vaccines. *Pharmacology and Therapeutics: Principles to Practice* (1st ed., pp. 1247–1268). Elsevier Inc.
- Tasca, R. A., & Clarke, R. W. (2006). Recurrent respiratory papillomatosis. *Archives of Disease in Childhood*, 91(8), 689–691. <http://doi.org/10.1136/adc.2005.090514>
- Ulmer, J. B., Valley, U., & Rappuoli, R. (2006). Vaccine manufacturing: challenges and solutions. *Nature Biotechnology*, 24(11), 1377–1383. <http://doi.org/10.1038/nbt1261>

- Van, L. B. (2016). Human Papillomavirus Vaccines: A practical review. Consultado a 03/09/2016. Disponível em <http://www.insidepatientcare.com/issues/2016/january-2015-vol-4-no-1/362-human-papillomavirus-vaccines>
- Venkatesan, N. N., Pine, H. S., & Underbrink, M. P. (2012). Recurrent Respiratory Papillomatosis. *Otolaryngol Clinics of North America*, 45(3), 1–28. <http://doi.org/10.1016/j.otc.2012.03.006.Recurrent>
- Vigue, C. L. (2016). Human papillomavirus (HPV). Consultado a 28/08/2016. Disponível em <http://eds.a.ebscohost.com/eds/detail/detail?sid=20ff7088-bd69-49f6-a171-a0aa5e4b4c81%40sessionmgr4008&vid=1&hid=4105&bdata=JkF1dGhUeXBIPWlwLGNvb2tpZSxzaGliLHVpZCZsYW5nPXBLWJyJnNpdGU9ZWRzLWxpdmUmMc2NvcGU9c2l0ZQ%3d%3d#AN=86194189&db=ers>
- Wang, J. W., & Roden, R. B. S. (2013). Virus-like particles for the prevention of human papillomavirus-associated malignancies. *Expert Reviews Vaccines*, 12(2), 1–22. <http://doi.org/10.1586/erv.12.151.Virus-like>
- Wangu, Z., & Hsu, K. K. (2016). Impact of HPV vaccination on anogenital warts and respiratory papillomatosis. *Human Vaccines & Immunotherapeutics*, 12(6), 1357–1362. <http://doi.org/10.1080/21645515.2016.1172754>
- Winer, R. L., Hughes, J. P., Feng, Q., O'Reilly, S., Kiviat, N. B., Holmes, K. K., & Koutsky, L. A. (2006). Condom Use and the Risk of Genital Human Papillomavirus Infection in Young Women. *The New England Journal of Medicine*, 354(25), 2645–2654. <http://doi.org/10.1056/NEJMoa053284>
- Woodman, C. B. J., Young, S. I. C., & Young, L. S. (2007). The natural history of cervical HPV infection: unresolved issues. *Nature Reviews Cancer*, 7, 11–22. <http://doi.org/10.1038/nrc2050>