



UNIVERSIDADE FEDERAL DE OURO PRETO
ESCOLA DE FARMÁCIA
DEPARTAMENTO DE ANÁLISES CLÍNICAS



LARISSA CRISTINE DE SOUSA MELO

**AVALIAÇÃO DA ASSOCIAÇÃO DOS SNPS IVS2-405 C>T e TS Ex8+227 A>G NO
GENE DA ENZIMA TIMIDILATO SINTASE COM A PRESENÇA DE ALTERAÇÕES
CERVICAIS**

Ouro Preto
2026

LARISSA CRISTINE DE SOUSA MELO

**AVALIAÇÃO DA ASSOCIAÇÃO DOS SNPS IVS2-405 C>T e TS Ex8+227 A>G NO
GENE DA ENZIMA TIMIDILATO SINTASE COM O DESENVOLVIMENTO DO
CÂNCER CERVICAL**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado
como parte dos requisitos para a obtenção do
grau de Bacharel em Farmácia ao curso de
Farmácia da Universidade Federal de Ouro
Preto.

Orientadora: Profa. Dra. Nayara Nascimento
Toledo Silva

Ouro Preto

2026

SISBIN - SISTEMA DE BIBLIOTECAS E INFORMAÇÃO

M528a Melo, Larissa Cristine de Sousa.

Avaliação da associação dos SNPS IVS2-405 C>T e TS Ex8+227 A>G no gene da enzima timidilato sintase com a presença de alterações cervicais. [manuscrito] / Larissa Cristine de Sousa Melo. - 2026.
49 f.: il.: , tab..

Orientadora: Profa. Dra. Nayara Nascimento Toledo Silva.
Monografia (Bacharelado). Universidade Federal de Ouro Preto. Escola de Farmácia. Graduação em Farmácia .

1. Timidilato Sintase. 2. Polimorfismo Genético. 3. Biologia Molecular.
4. Neoplasias do Colo do Útero. 5. Genética Humana. I. Silva, Nayara Nascimento Toledo. II. Universidade Federal de Ouro Preto. III. Título.

CDU 577.21

Bibliotecário(a) Responsável: Soraya Fernanda Ferreira e Souza - CRB6/2322



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE OURO PRETO
REITORIA
ESCOLA DE FARMÁCIA
DEPARTAMENTO DE ANÁLISES CLÍNICAS



FOLHA DE APROVAÇÃO

Larissa Cristine de Sousa Melo

Avaliação da associação dos SNPs IVS2-405 C>T e TS ex8+227 A>G no gene da enzima Timidilato Sintase com a presença de alterações cervicais

Monografia apresentada ao Curso de Farmácia da Universidade Federal de Ouro Preto como requisito parcial para obtenção do título de Bacharel em Farmácia

Aprovada em 05 de março de 2026

Membros da banca

Dra. Nayara Nascimento Toledo Silva - Orientadora - Universidade Federal de Ouro Preto
Dra. Ana Carolina Silva Santos - Prefeitura Municipal de Mariana
Dra. Livia da Cunha Agostini - Universidade Federal de Ouro Preto

Nayara Nascimento Toledo Silva, orientadora do trabalho, aprovou a versão final e autorizou seu depósito na Biblioteca Digital de Trabalhos de Conclusão de Curso da UFOP em 18/03/2026



Documento assinado eletronicamente por **Nayara Nascimento Toledo Silva, PROFESSOR DE MAGISTERIO SUPERIOR**, em 18/03/2026, às 10:22, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site http://sei.ufop.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **1076927** e o código CRC **9ED11E4E**.

AGRADECIMENTOS

Agradeço, primeiramente, a Deus, por me conceder força, sabedoria e perseverança ao longo de toda esta caminhada, guiando meus passos mesmo nos momentos mais desafiadores.

Aos meus pais, Pedro e Elisete, que nunca pouparam esforços para que eu chegasse até aqui, incentivando-me a acreditar que tudo é possível quando se tem dedicação, fé e propósito. Esta conquista também é de vocês.

À minha irmã, Rayane, pelo apoio constante e por estar ao meu lado em cada etapa dessa trajetória.

À toda a minha família, em especial aos meus avós, Ângela, Germano, Maria Helena e Pedro (*in memoriam*), por serem minha base, exemplo e inspiração. Obrigada por compreenderem minhas ausências e por me ensinarem valores que levarei por toda a vida.

Ao Vitor, por todo o amor, incentivo e companheirismo. Sua presença tornou essa jornada mais leve e especial.

À minha orientadora, Nayara, pela confiança depositada em mim, pela paciência, pelo apoio constante e por todo o aprendizado compartilhado. Levo comigo cada ensinamento com profunda admiração e gratidão.

À minha amada República Vesúvio, por ter sido meu lar em Ouro Preto, por me proporcionar crescimento pessoal e por me presentear com anos inesquecíveis.

À Universidade Federal de Ouro Preto e à gloriosa Escola de Farmácia, pela oportunidade de crescimento acadêmico e pela excelência do ensino oferecido ao longo da graduação.

Aos professores do curso de Farmácia, pelos conhecimentos compartilhados e pelo compromisso com a formação ética e profissional de seus alunos.

Ao Laboratório de Pesquisa em Bioquímica Clínica pelo suporte e pela contribuição fundamental para a realização deste trabalho.

À Rede Mineira de Pesquisa Translacional em Oncologia – ReMPTO (FAPEMIG RED00059-23), Fundação de Amparo em Pesquisa de Minas Gerais – FAPEMIG) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPQ, pelo apoio financeiro.

Aos amigos e colegas, que tornaram essa trajetória mais leve, enriquecedora e significativa, compartilhando desafios, aprendizados e conquistas.

Por fim, a todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho, expresse minha sincera e profunda gratidão.

RESUMO

O câncer cervical, cuja principal causa é a infecção persistente pelo Papilomavírus Humano (HPV) de alto risco, permanece como um importante problema de saúde pública entre as mulheres. Entretanto, a progressão para lesões precursoras e câncer invasivo também pode envolver fatores genéticos do hospedeiro, incluindo polimorfismos em genes relacionados ao metabolismo do folato, como o gene *TYMS*, responsável por codificar a enzima Timidilato Sintase. O presente estudo teve como objetivo analisar a associação dos SNPs IVS2-405 C>T (rs502396) e Ex8+227 A>G (rs2790), no gene *TYMS*, com lesões pré-neoplásicas cervicais. A amostragem foi composta por 82 mulheres, distribuídas em grupo controle (n=28) e grupo caso (n=54), sendo 21 com Células Escamosas Atípicas de Significado Indeterminado (ASC-US), 13 com Lesão Intraepitelial Escamosa de Baixo Grau (LSIL) e 20 com Células Escamosas Atípicas em que não se pode excluir lesão de alto grau/Lesão Intraepitelial Escamosa de Alto Grau (ASC-H/HSIL). A detecção e genotipagem do HPV foram realizadas por PCR-RFLP, e a genotipagem dos SNPs do gene *TYMS* foi conduzida por PCR em tempo real utilizando sondas TaqMan®. As frequências genotípicas do polimorfismo rs502396 não apresentaram o equilíbrio de Hardy-Weinberg e, por isso, as análises de associação deste SNP com a carcinogênese cervical não foram realizadas. Em relação ao SNP rs2790, verificou-se maior frequência do alelo variante (G) em mulheres com lesões cervicais de alto grau (30,0%) quando comparadas ao grupo controle (17,9%), embora sem significância estatística. A distribuição genotípica e alélica do SNP rs2790 também foi avaliada em relação à presença da infecção por HPV. No entanto, não foram observadas diferenças de acordo com a infecção viral. Assim, esses resultados não confirmam associação entre os polimorfismos analisados e lesões cervicais pré-neoplásicas, mas sugerem a necessidade de estudos com maior poder estatístico, incluindo casos de câncer cervical invasivo, para melhor esclarecer o possível papel do gene *TYMS* na carcinogênese cervical.

Palavras-chave: câncer cervical, HPV, polimorfismos, timidilato sintase, rs2790.

ABSTRACT

Cervical cancer, whose primary cause is persistent infection with high-risk Human Papillomavirus (HPV), remains a significant public health problem among women. However, progression to precursor lesions and invasive cancer may also involve host genetic factors, including polymorphisms in genes related to folate metabolism, such as the TYMS gene, which encodes the enzyme thymidylate synthase. The present study aimed to analyze the association between the TYMS SNPs IVS2-405 C>T (rs502396) and Ex8+227 A>G (rs2790) and pre-neoplastic cervical lesions. The sample comprised 82 women, distributed into a control group (n=28) and a case group (n=54), including 21 women with Atypical Squamous Cells of Undetermined Significance (ASC-US), 13 with Low-Grade Squamous Intraepithelial Lesion (LSIL), and 20 with Atypical Squamous Cells – cannot exclude High-Grade Squamous Intraepithelial Lesion/High-Grade Squamous Intraepithelial Lesion (ASC-H/HSIL). HPV detection and genotyping were performed by PCR-RFLP, and SNP genotyping was carried out using real-time PCR with TaqMan® probes. Genotype frequencies of the rs502396 polymorphism were not in Hardy–Weinberg equilibrium; therefore, association analyses for this SNP were not performed. Regarding rs2790, a higher frequency of the variant allele (G) was observed in women with high-grade cervical lesions (30.0%) compared to the control group (17.9%), although without statistical significance. The genotypic and allelic distribution of rs2790 was also evaluated according to HPV infection status; however, no differences were observed in relation to viral infection. These findings do not confirm an association between the analyzed polymorphisms and pre-neoplastic cervical lesions. Nevertheless, they suggest the need for studies with greater statistical power, including cases of invasive cervical cancer, to better elucidate the possible role of the TYMS gene in cervical carcinogenesis.

Keywords: cervical cancer; HPV; polymorphisms; thymidylate synthase; rs2790.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Metabolismo do folato	20
---	-----------

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Discriminação alélica obtida por TaqMan® para os polimorfismos genéticos no gene <i>TYMS</i>	27
Tabela 2- Características sociodemográficas e comportamentais das participantes do estudo com a presença de lesões pré-neoplásicas na cérvix uterina.....	29
Tabela 3- Frequência genotípica e alélica do polimorfismos no gene <i>TYMS</i>	31
Tabela 4 -Polimorfismo Ex8+227 (rs2790) de acordo com a presença de alterações citopatológicas.....	32
Tabela 5- Polimorfismo Ex8+227 (rs2790) de acordo com a presença de infecção por HPV.....	33

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ASC-US - Células Escamosas Atípicas de Significado Indeterminado
ASC-H - Células Escamosas Atípicas - Não se pode descartar lesão intraepitelial escamosa de alto grau
CC - Câncer Cervical
CEAE - Centro Estadual de Atenção Especializada
DNA - Ácido Desoxirribonucleico
dTMP - desoxitimidina monofosfato
dUMP - desoxiuridina monofosfato
HIV - Vírus da Imunodeficiência Humana
HPV - Papilomavírus Humano
HSIL - Lesão Intraepitelial Escamosa de Alto Grau
hRHPV - Papilomavírus Humano de alto risco
INCA - Instituto Nacional de Câncer
LAPAC - Laboratório Piloto de Análises Clínicas
LSIL - Lesão Intraepitelial de Baixo Grau
mRNA - RNA mensageiro
PBS - tampão fosfato-salino
PCR - Reação em cadeia da polimerase
pRb - proteína do retinoblastoma
RFLP - Polimorfismo de comprimento de fragmentos de restrição
RNA - Ácido Ribonucleico
SNPs - Polimorfismos de Nucleotídeo Único
TADs - domínios topologicamente associados
TS - Timidilato Sintase
UFOP - Universidade Federal de Ouro Preto

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	10
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	14
2.1 CÂNCER CERVICAL E HPV.....	14
2.1.2 Alterações pré-neoplásicas na cérvix uterina (ASC-US, LSIL, ASC-H e HSIL): diagnósticos e evolução natural.....	14
2.1.3 O papel do HPV e outros cofatores na etiologia das lesões na cérvix uterina.....	15
2.2 COFATORES GENÉTICOS E POLIMORFISMOS NO GENE TYMS.....	18
2.2.1 Localização e regulação do gene TYMS.....	19
2.2.2 Função biológica da enzima Timidilato Sintetase (TS).....	20
2.2.3 Polimorfismos no gene TYMS e seus efeitos funcionais.....	21
3. OBJETIVOS.....	24
3.1 Objetivo Geral.....	24
3.2 Objetivos Específicos.....	24
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	25
4.1 Desenho do estudo e obtenção das amostras.....	25
4.2 Extração de DNA, detecção e genotipagem de HPV.....	26
4.3 Avaliação das alterações genéticas no gene TYMS.....	26
4.4 Análises Estatísticas.....	27
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	28
6. CONCLUSÃO.....	35

1. INTRODUÇÃO

O câncer cervical, também denominado câncer do colo do útero, constitui um importante problema de saúde pública em âmbito global, figurando como o quarto tipo de câncer mais frequente entre mulheres no mundo (BRAY et al., 2024). Apesar dos avanços nas estratégias de prevenção, diagnóstico e tratamento, a doença ainda é responsável por mais de 300 mil óbitos anuais, com maior impacto em regiões menos desenvolvidas, onde limitações no acesso aos serviços de saúde contribuem significativamente para a elevada incidência e mortalidade (ARBYN et al., 2020; GABRIELLI et al., 2018; SINGH et al., 2023; WU et al., 2025).

No Brasil, o câncer do colo do útero ocupa o terceiro lugar entre os cânceres mais incidentes em mulheres e também a terceira posição entre as causas de morte por câncer na população feminina. Sua ocorrência apresenta importantes variações regionais, associadas a desigualdades socioeconômicas e de acesso aos serviços de saúde. A doença é a segunda mais incidente nas regiões Norte e Nordeste, enquanto ocupa posições menores nas demais regiões do país. As taxas de incidência variam, por exemplo, de 20,5 casos por 100 mil mulheres no Norte para cerca de 12,9 no Sudeste, evidenciando disparidades regionais. Estudos indicam a manutenção de óbitos pela doença ao longo dos anos, com marcantes desigualdades regionais, associadas principalmente a diferenças no acesso ao rastreamento, diagnóstico precoce e tratamento oportuno. Essas desigualdades refletem limitações estruturais dos serviços de saúde e barreiras socioeconômicas que impactam diretamente os desfechos clínicos da doença. Nesse contexto, evidencia-se a necessidade de fortalecimento das estratégias de prevenção e controle no país, especialmente em regiões mais vulneráveis (FERRARI et al., 2025; GO et al., 2026; PETERSEN et al., 2022).

O câncer cervical é considerado uma doença potencialmente prevenível e controlável, uma vez que sua etiologia está bem estabelecida (XU et al., 2025). A identificação de que os tipos de alto risco oncogênico do Papilomavírus Humano (hrHPV) são responsáveis por quase 100% dos casos de câncer cervical invasivo representou um marco decisivo na compreensão da patogênese da doença (KUSAKABE et al., 2023; OKUNADE, 2020; SCHIFFMAN et al., 2007; ZUR HAUSEN, 2002).

A infecção pelo HPV é extremamente comum, especialmente em mulheres jovens durante a primeira década de vida sexual. No entanto, a persistência da infecção, e não sua aquisição inicial, é o fator determinante para o desenvolvimento de lesões pré-neoplásicas e, eventualmente, do câncer invasivo. Esse processo de progressão pode se estender por anos ou até décadas, com maior risco entre os 35 e 55 anos de idade (SCHIFFMAN et al., 2007).

As vacinas profiláticas contra o HPV são uma das principais ferramentas na prevenção do câncer cervical (GRAVITT, 2011). No entanto, embora estratégias como vacinação e rastreamento tenham demonstrado eficácia no combate a esta neoplasia, o acesso desigual a essas medidas faz com que muitas mulheres ainda permaneçam vulneráveis à doença (FRANCOEUR et al., 2025).

Apesar do papel central do HPV na carcinogênese cervical, a infecção viral isoladamente não é suficiente para a progressão tumoral, sendo necessária a interação com outros cofatores ambientais, comportamentais, nutricionais e genéticos. Entre os fatores ambientais, destacam-se idade, tabagismo, etilismo, idade da primeira relação sexual e número de parceiros sexuais. No âmbito nutricional, o folato (vitamina B9) e outras vitaminas do complexo B exercem papel fundamental na metilação do DNA e RNA, bem como na síntese de nucleotídeos, processos essenciais para a estabilidade genômica (DUTHIE, 2011; SILVA et al., 2020b).

Adicionalmente, fatores genéticos têm sido amplamente investigados como moduladores da susceptibilidade ao câncer cervical. Polimorfismos em genes envolvidos no metabolismo do folato podem alterar a atividade enzimática e influenciar a resposta celular ao dano genético. No entanto, os resultados desses estudos ainda são controversos, em grande parte devido a diferenças étnicas, metodológicas e à interação com outros fatores de risco (GONG et al., 2018; KARIMI-ZARCHI et al., 2019; SILVA et al., 2019; SILVA et al., 2022; TONG et al., 2011).

Nesse contexto, a timidilato sintetase (TS), enzima codificada pelo gene *TYMS*, destaca-se por sua atuação central no metabolismo do folato, catalisando a conversão de desoxiuridina monofosfato (dUMP) em desoxitimidina monofosfato

(dTMP), etapa essencial para a síntese, replicação e reparo do DNA (COSTI et al., 2005). A superexpressão da TS e de seu RNA mensageiro tem sido associada a pior prognóstico em diversos tipos de câncer, incluindo mama, estômago e ovário (KELEMEN et al., 2018; WANG et al., 2011; YANG et al. 2012).

A expressão da TS é regulada por mecanismos moleculares complexos, incluindo vias relacionadas ao controle do ciclo celular, como a interação entre a proteína do retinoblastoma (pRb) e o fator de transcrição E2F, de modo que alterações nessas vias podem impactar diretamente a proliferação celular e a progressão tumoral (RAHMAN et al., 2004). Polimorfismos funcionais no gene *TYMS*, como a variação no número de repetições em tandem de 28 pares de bases na região 5' não traduzida (TSER) e o polimorfismo de deleção/inserção de 6 pares de bases na região 3'UTR (TS3'UTR), influenciam a expressão gênica e a estabilidade do mRNA, podendo modificar a atividade da enzima (KIM et al., 2023; SILVA et al., 2022; SHI et al., 2005)

Estudos prévios demonstraram associação dessas variações genéticas com diferentes neoplasias, como câncer gastroesofágico, colorretal e de mama, com resultados promissores. No contexto do câncer cervical, investigações conduzidas pelo nosso grupo identificaram maior persistência de alterações citopatológicas cervicais associada ao polimorfismo TS3'UTR, reforçando a relevância desse gene na história natural da doença (SILVA et al., 2019; SILVA et al., 2022).

Além disso, outros polimorfismos no gene *TYMS* têm sido explorados como potenciais moduladores do risco carcinogênico e da resposta terapêutica. O polimorfismo IVS2-405 C>T (rs502396) foi associado à modificação do risco em diferentes tipos de câncer, sugerindo possível efeito protetor em determinados contextos (MOORE et al., 2007). Já o polimorfismo Ex8+227 A>G (rs2790), localizado na região 3'UTR do gene, apresenta variações de frequência entre populações e tem sido relacionado à instabilidade genômica, embora os resultados ainda sejam inconclusivos e dependentes de fatores étnicos e ambientais (JEON et al., 2021; XIAO et al., 2024; YU et al., 2024).

Dessa forma, o aprofundamento do estudo sobre polimorfismos no gene *TYMS* torna-se fundamental para compreender seu papel na carcinogênese cervical,

bem como para subsidiar o desenvolvimento de biomarcadores genéticos aplicáveis ao rastreamento, à definição prognóstica e à individualização do tratamento de mulheres com alterações pré-neoplásicas e câncer cervical.

2.REVISÃO DE LITERATURA

2.1 CÂNCER CERVICAL E HPV

O câncer cervical permanece como um dos principais problemas de saúde pública entre as mulheres, especialmente em países de baixa e média renda, apesar dos avanços em prevenção e rastreamento. Estima-se que, em 2022, ocorreram cerca de 660 mil novos casos globalmente. A distribuição da doença é marcadamente desigual, concentrando-se principalmente em regiões da África Subsaariana, Sudeste Asiático e América Latina, onde o acesso ao rastreamento e à vacinação contra o HPV ainda é limitado. Por outro lado, países de alta renda apresentam queda consistente da incidência devido à vacinação e rastreamento eficazes (BRAY et al., 2024; WU et al., 2025; XU et al., 2025).

A história natural da infecção mostra que cerca de 90% das infecções por HPV são eliminadas espontaneamente pelo organismo em 1 a 2 anos, enquanto aproximadamente 10% persistem e podem evoluir para lesões precursoras e, em alguns casos, carcinoma invasivo. Estudos moleculares recentes consolidam a compreensão de que a persistência viral, mais do que a infecção inicial, é o principal determinante da progressão para neoplasia cervical (SCHIFFMAN et al., 2007; XU et al., 2025).

2.1.2 Alterações pré-neoplásicas na cérvix uterina (ASC-US, LSIL, ASC-H e HSIL): diagnósticos e evolução natural

As alterações citológicas cervicais são classificadas pelo sistema Bethesda de acordo com seu potencial de progressão, padronizando a terminologia utilizada na citopatologia cervical em Células Escamosas Atípicas de Significado Indeterminado (ASC-US), Lesão Intraepitelial de Baixo Grau (LSIL), Células Escamosas Atípicas - Não se pode descartar lesão intraepitelial escamosa de alto grau (ASC-H), Lesão Intraepitelial Escamosa de Alto Grau (HSIL) (BURD, 2003; SCHIFFMAN et al., 2007; SCHIFFMAN et al., 2011).

As alterações epiteliais classificadas como ASC-US refere-se a alterações citopatológicas discretas e inespecíficas, com baixo poder preditivo para lesões de alto grau, frequentemente associadas a infecções transitórias por HPV. A taxa de regressão espontânea é elevada, especialmente em mulheres jovens. LSIL

corresponde a alterações leves e geralmente reflete infecção produtiva pelo HPV, também possui alto potencial de regressão. Por outro lado, as lesões associadas à infecção persistente hrHPV, são classificadas como HSIL e representam risco elevado de progressão para neoplasia cervical invasiva caso não tratada. Ainda, ASC-H classifica as atipias mais significativas, nas quais não é possível excluir lesão de alto grau e exige investigação imediata por colposcopia devido ao maior risco de HSIL (SILVA, 2019)

A progressão das lesões cervicais é um processo complexo e multifatorial, determinado principalmente pela persistência dos tipos de hrHPV e pela interação desse agente infeccioso com diversos cofatores relacionados ao hospedeiro. Embora a infecção pelo HPV seja comum, apenas uma parcela reduzida das lesões precursoras evolui para estágios mais graves, o que evidencia que a simples presença do vírus não é suficiente para desencadear a carcinogênese, necessitando também da resposta imunológica individual e de fatores ambientais e genéticos. (GRAVITT, 2011; SCHIFFMAN et al., 2007; YUAN et al., 2021; ZUR HAUSEN, 2002).

2.1.3 O papel do HPV e outros cofatores na etiologia das lesões na cérvix uterina

A infecção persistente por HPV de alto risco constitui o elemento central da carcinogênese cervical. Entre os mais de 200 genótipos de HPV descritos, 13 são classificados como oncogênicos, com destaque para os tipos 16 e 18, responsáveis por mais de 70% dos casos de câncer cervical no mundo (BRAY et al., 2024; BURD, 2003; SCHIFFMAN et al., 2007; ZUR HAUSEN, 2002).

A progressão da infecção pelo HPV para lesões precursoras e carcinoma invasivo envolve a integração do DNA viral ao genoma do hospedeiro, a instabilidade genômica e reprogramação epigenética, além de cofatores comportamentais, ambientais e genéticos, mecanismos inflamatórios e microambiente tumoral (SAHASRABUDDHE, 2024; XU, et al., 2025; YANG et al., 2020).

A integração do DNA viral ao genoma do hospedeiro é amplamente reconhecida como um evento-chave na carcinogênese cervical, estando presente na maioria dos casos de carcinoma cervical invasivo. Esse processo promove intensa

instabilidade genômica e leva à desregulação de múltiplos genes celulares envolvidos no controle do ciclo celular e na manutenção da integridade do DNA. A integração costuma provocar a ruptura ou interrupção do gene viral *E2*, que normalmente atua como regulador negativo da expressão dos oncogenes virais. Quando esse gene é perdido ou inativado, ocorre hiperexpressão de *E6* e *E7*, dois oncogenes centrais para o processo de transformação maligna. A oncoproteína *E6* promove a degradação da proteína supressora tumoral p53, enquanto *E7* inativa a pRb, resultando em perda do controle da proliferação celular, acúmulo de danos no DNA e maior propensão à progressão neoplásica. Dessa forma, a integração viral não apenas marca um ponto crítico na evolução das lesões associadas ao HPV, mas também estabelece o ambiente molecular necessário para a transformação celular contínua e o desenvolvimento do carcinoma invasivo (XU et al., 2025).

A instabilidade genômica e a reprogramação epigenética constituem consequências centrais da integração do HPV ao genoma da célula hospedeira, contribuindo intensamente para a progressão tumoral. A integração viral pode desencadear reorganizações cromossômicas complexas, resultando em quebras, fusões e rearranjos estruturais que desestabilizam a arquitetura genômica. Esse processo também pode alterar a organização dos domínios topologicamente associados (TADs), repercutindo na regulação tridimensional da cromatina e impactando padrões de expressão gênica essenciais para o controle celular. Estudos como o de Xu et al. demonstram que a integração frequentemente ocorre em áreas altamente ativas da cromatina que coordenam redes regulatórias críticas. Quando essas regiões são perturbadas, ocorre uma profunda desregulação transcricional, com ativação de promotores celulares capazes de intensificar a expressão viral e favorecer a manutenção da infecção (XU et al., 2025).

Além disso, a integração pode levar à amplificação de oncogenes celulares, como *MYC*, *ERBB2* e *HMGA2*, que colaboram diretamente para a proliferação descontrolada e a sobrevivência celular. Paralelamente, instala-se um processo de reprogramação epigenética, frequentemente marcado por hipermetilação de genes supressores tumorais, reduzindo sua atividade protetora e ampliando a vulnerabilidade da célula a alterações malignas. Assim, a combinação entre reorganização cromossômica, alterações epigenéticas e modulação de elementos

regulatórios de alta atividade cria um ambiente genômico altamente propenso à transformação celular e à progressão do câncer cervical associado ao HPV (XU et al., 2025).

Os cofatores comportamentais e ambientais também desempenham papel determinante na modulação do risco de progressão das lesões associadas ao HPV, refletindo a natureza multifatorial da carcinogênese cervical. Entre esses fatores, destacam-se o tabagismo, que contribui para danos oxidativos ao epitélio cervical e compromete a imunidade local; a imunossupressão, seja por condições clínicas ou uso de imunossupressores, que reduz a capacidade do hospedeiro de eliminar o HPV; e a multiparidade, relacionada a alterações hormonais e mecânicas que favorecem o ambiente permissivo à persistência viral. O uso prolongado de contraceptivos hormonais também tem sido associado à progressão das lesões, possivelmente por influenciar a expressão de genes virais e a dinâmica proliferativa do epitélio cervical. Além disso, coinfeções genitais, como pela *Chlamydia trachomatis* e pelo Vírus da Imunodeficiência Humana (HIV), podem amplificar o processo inflamatório e facilitar a integração viral. Além disso, fatores comportamentais, como múltiplos parceiros sexuais, ampliam a exposição ao HPV e outros patógenos, contribuindo indiretamente para a persistência viral (YANG et al., 2020).

A predisposição genética emerge como um componente central, influenciando a resposta imunológica e a suscetibilidade individual. O estudo de Yang et al. (2020) identificou assinaturas de expressão gênica associadas ao microambiente imune e à progressão tumoral, reforçando que características intrínsecas do hospedeiro moldam o curso da infecção e o potencial de malignização. Dessa forma, a interação entre hábitos de vida, condições biológicas e o perfil genético do indivíduo cria um conjunto de influências que, quando somadas à presença do hrHPV, aumentam significativamente o risco de evolução para lesões de maior gravidade e câncer cervical invasivo (YANG et al., 2020).

Os mecanismos inflamatórios e as alterações do microambiente tumoral desempenham papel central na sustentação da persistência do HPV e na progressão das lesões cervicais. A infecção persistente por hrHPV induz um estado de inflamação crônica de baixa intensidade, caracterizado por liberação contínua de

citocinas pró-inflamatórias, remodelação tecidual e recrutamento de células imunológicas muitas vezes disfuncionais. Esse microambiente inflamatório, longe de eliminar o vírus, pode favorecer a manutenção da infecção e criar condições que promovem instabilidade genômica e proliferação celular (GRAVITT, 2011; YUAN et al., 2021; XU et al., 2025; ZUR HAUSEN, 2002).

Tanto alterações metabólicas quanto imunológicas são determinantes para a evasão da resposta imune pelo HPV nas fases iniciais da carcinogênese. O vírus modifica vias metabólicas da célula hospedeira para sustentar sua própria replicação e, simultaneamente, interfere na apresentação de antígenos e na ativação de células T, reduzindo a efetividade da resposta imune adaptativa. Além disso, o microambiente tumoral em formação tende a favorecer um perfil imunológico tolerogênico, com aumento de células imunes reguladoras e redução de mecanismos efetores de eliminação viral (ASHRAFI et al., 2025; GORE et al., 2025).

Assim, a combinação entre inflamação persistente, remodelação metabólica e imunossupressão local cria um ambiente propício para que o HPV escape do controle imunológico, estabeleça infecção de longa duração e favoreça o desenvolvimento de lesões pré-neoplásicas e neoplásicas, consolidando seu papel na carcinogênese cervical. (GRAVITT, 2011; SAHASRABUDDHE, 2024; XU et al., 2025; YUAN et al., 2021).

2.2 COFATORES GENÉTICOS E POLIMORFISMOS NO GENE *TYMS*

Os genes associados à susceptibilidade ao câncer cervical desempenham papel fundamental na modulação da resposta do hospedeiro frente à infecção pelo HPV e na determinação do risco de progressão das lesões. Diversas pesquisas demonstram que variantes genéticas influenciam desde a capacidade inicial de eliminar o vírus até a propensão ao desenvolvimento de lesões precursoras e tumores invasivos. Entre os principais grupos gênicos envolvidos, destacam-se aqueles relacionados ao metabolismo do folato, que afetam a metilação do DNA e a síntese nucleotídica, impactando diretamente a estabilidade genômica. Da mesma forma, genes envolvidos no reparo do DNA, como *XRCC1*, *BRCA1* e *CHEK1*, têm papel essencial na correção de danos induzidos pela persistência viral; variantes

que reduzem sua eficiência podem facilitar a progressão neoplásica (BAHRAMI et al., 2018; CHOI; MASON, 2000; DUTHIE, 2011; SILVA et al., 2022; XU et al., 2025).

Os genes relacionados à resposta imune e aqueles ligados à proliferação celular, como *RPS19* e *TYMS*, também apresentam forte evidência de associação com maior susceptibilidade à infecção persistente e à carcinogênese. O estudo de Famooto et al. (2013) demonstrou que SNPs nestes genes foram associados a maior prevalência de hrHPV em mulheres africanas, sugerindo que tais variantes podem influenciar tanto a suscetibilidade inicial à infecção quanto a manutenção da persistência viral. De forma complementar, Reza et al. (2022) identificaram *TYMS* como um gene central de regulação na carcinogênese cervical, juntamente com *CDK1*, *TOP2A*, *MKI67* e *BRCA1*, reforçando seu papel central em processos proliferativos e no avanço das lesões.

2.2.1 Localização e regulação do gene *TYMS*

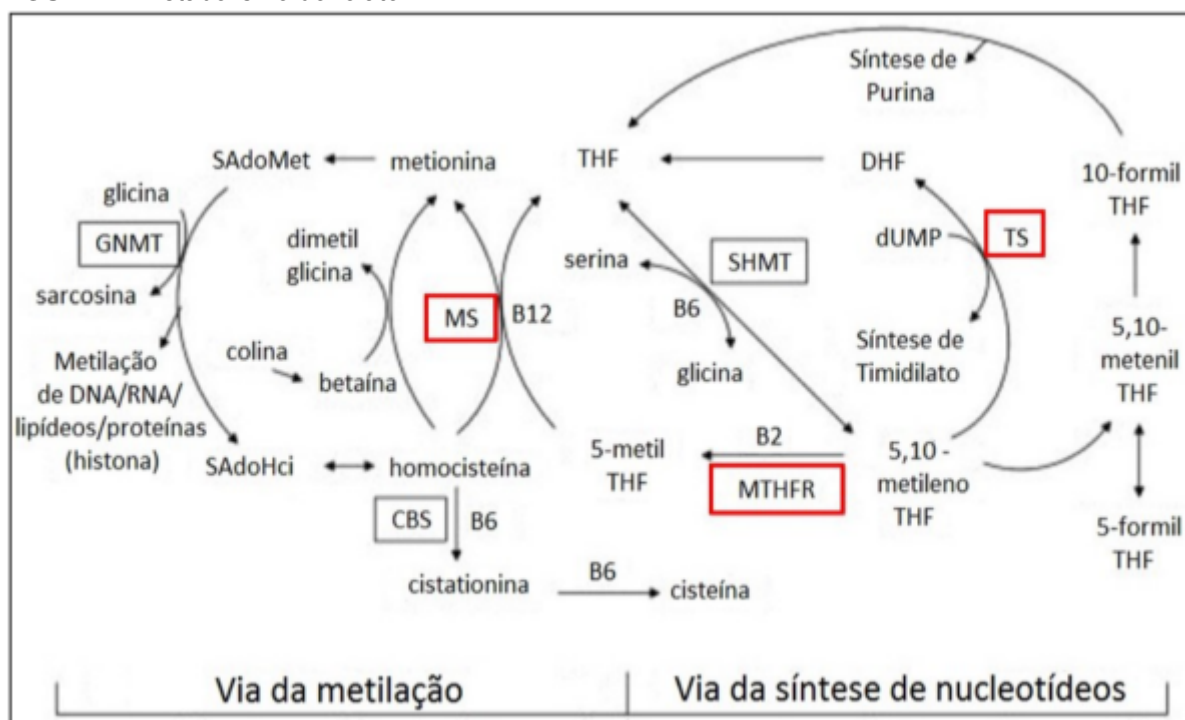
O gene *TYMS*, localizado no cromossomo 18p11.32, apresenta um sistema complexo de regulação pós-transcricional, no qual a própria enzima TS interage diretamente com o mRNA que a codifica, modulando sua estabilidade e eficiência de tradução. Esse mecanismo de autorregulação garante o equilíbrio fino entre demanda celular por nucleotídeos e produção enzimática, especialmente em contextos de intensa proliferação (COSTI et al., 2005; MANDOLA et al., 2004; ULRICH et al., 2000).

A expressão de *TYMS* é influenciada por múltiplos fatores biológicos. A disponibilidade de folato desempenha papel central, pois afeta diretamente o fluxo metabólico da via do folato e, consequentemente, a atividade da enzima TS. Além disso, condições de estresse replicativo ou dano ao DNA podem aumentar a necessidade de síntese de nucleotídeos, modulando a expressão do gene. Oncogenes celulares envolvidos na aceleração do ciclo celular também podem intensificar sua transcrição, conectando *TYMS* às vias de proliferação excessiva observadas em tumores (CHOI; MASON, 2000; COSTI et al., 2005; DUTHIE, 2011; KUMAR et al., 2022; SEN; KARATI, 2024).

2.2.2. Função biológica da enzima Timidilato Sintetase (TS)

A enzima TS, codificada pelo gene *TYMS*, é uma enzima indispensável para a síntese de DNA e ocupa posição central no metabolismo dos nucleotídeos. Sua principal função é catalisar a conversão de dUMP em dTMP, etapa obrigatória para a produção de timidina, um dos blocos estruturais essenciais para a replicação do DNA. Esse processo depende diretamente da ação integrada da via do folato, uma vez que a TS utiliza derivados folatos como doadores de grupos metil, conectando-se ao ciclo do ácido fólico e influenciando a disponibilidade de nucleotídeos para síntese celular (CARRERAS; SANTI, 1995; CHOI; MASON, 2000; COSTI et al., 2005; STOVER, 2009).

FIGURA 1: Metabolismo do folato



MTHFR: metilenotetra-hidrofolato redutase; CBS: cistationina β-sintase; DHF: di-hidrofolato; GNMT: glicina N-metiltransferase; MS: metionina sintase; SAdoHci: S-adenosilhomocisteína; SAdoMet: S-adenosilmetionina; SHMT: serina hidroximetiltransferase; THF: tetra-hidrofolato; TS: timidilato sintetase. Em vermelho: enzimas cujos polimorfismos genéticos foram avaliados neste estudo. Fonte: SILVA et al., 2019

Do ponto de vista biológico, a TS desempenha funções cruciais que incluem a síntese de novo de pirimidinas, a replicação celular, o reparo do DNA e a manutenção da estabilidade genômica. Por integrar vias metabólicas essenciais para a divisão celular, sua expressão é fortemente regulada e frequentemente utilizada como marcador de proliferação. Em diversos tipos de câncer, observa-se

aumento significativo na expressão da TS (BAHRAMI et al., 2018; CARRERAS; SANTI, 1995; COSTI et al., 2005; LONGLEY et al., 2003).

De acordo com Lida et al. (2014), a superexpressão da enzima TS está associada a maior agressividade tumoral, maior taxa de proliferação e pior prognóstico em pacientes com câncer cervical, reforçando seu valor como possível biomarcador clínico. Estudos mais recentes, como o de Qiu et al. (2020), confirmam que a TS está entre os genes diferencialmente expressos em tumores cervicais avançados, sugerindo sua participação relevante na progressão neoplásica e destacando seu potencial como alvo terapêutico e marcador prognóstico. Assim, a TS não apenas assume papel central no metabolismo dos nucleotídeos, mas também se configura como componente-chave na compreensão da carcinogênese cervical mediada pelo HPV.

2.2.3 Polimorfismos no gene *TYMS* e seus efeitos funcionais

Um dos componentes mais relevantes para a variação interindividual na expressão da TS é a presença de polimorfismos funcionais nas regiões regulatórias 5'UTR e 3'UTR do gene. Essas variantes podem alterar a estrutura secundária do mRNA, influenciando sua estabilidade, eficiência traducional e, portanto, os níveis finais da enzima. Assim, a combinação entre mecanismos intrínsecos de autorregulação, disponibilidade metabólica e variações genéticas faz do gene *TYMS* um elemento altamente dinâmico e biologicamente sensível, com implicações diretas na síntese de DNA, na resposta ao estresse celular e na carcinogênese (BAHRAMI et al., 2018; FERNÁNDEZ-CONTRERAS et al., 2009; MANDOLA et al., 2004; STOVER, 2009).

Os polimorfismos funcionais do gene *TYMS* têm sido estudados devido ao seu impacto direto na expressão da TS e na estabilidade do mRNA, influenciando a síntese de DNA e a susceptibilidade à persistência da infecção pelo HPV. Entre os principais, destaca-se o polimorfismo TSER (rs34743033), que consiste na repetição em tandem de 28 pb na 5'UTR, presente principalmente nas variantes 2R e 3R. Essas repetições modulam a eficiência transcricional: a variante 3R está associada a maior expressão da TS, enquanto a variante 2R resulta em menor produção

enzimática, alterando a dinâmica do metabolismo de folato e o equilíbrio proliferativo celular (FAMOOTTO, 2013; REZA, 2022; SILVA, 2020).

Outro polimorfismo relevante é a deleção/inserção de 6 pb na região 3'UTR do gene *TYMS* (rs16430), que interfere diretamente na estabilidade do mRNA. Em estudo conduzido em pacientes atendidas em Minas Gerais, observou-se que o genótipo del/del aumentou em até 6,5 vezes o risco de persistência de alterações citopatológicas, reforçando seu papel biológico na evolução de lesões pré-neoplásicas (SILVA, 2020). Além disso, outros SNPs no gene *TYMS*, como o rs2342700, foram associados à maior prevalência de HPV de alto risco em mulheres africanas, sugerindo que diferentes variantes podem modular a susceptibilidade inicial e a manutenção da infecção persistente (FAMOOTTO, 2013)

Polimorfismos adicionais no gene *TYMS*, além das variantes clássicas regulatórias, têm sido investigados como potenciais moduladores do risco carcinogênico e da resposta terapêutica. O polimorfismo IVS2-405 C>T (rs502396), localizado em região intrônica, tem sido associado a alterações na susceptibilidade a diferentes tipos de câncer, possivelmente por influenciar processos de splicing ou regulação da expressão gênica, embora os resultados ainda sejam inconsistentes entre populações (MOORE et al., 2007). Já o polimorfismo Ex8+227 A>G (rs2790), situado na região 3'UTR do gene, pode impactar a estabilidade do mRNA e a eficiência translacional, sendo descrito com frequências variáveis entre grupos étnicos e potencial relação com instabilidade genômica e progressão tumoral (XIAO et al., 2024; YAN et al., 2018; ZHANG et al., 2021). Estudos mais recentes também sugerem que essas variantes podem influenciar a resposta a agentes quimioterápicos antifolato e fluoropirimidínicos, reforçando a importância da farmacogenômica no manejo oncológico, embora ainda sejam necessários estudos adicionais para esclarecer plenamente seus mecanismos funcionais e relevância clínica (JEON et al., 2021; XIAO et al., 2024; YU et al., 2024).

Evidências moleculares mais recentes reforçam a importância de *TYMS* no contexto tumoral. Análises integrativas de expressão gênica classificaram *TYMS* como um dos genes centrais de regulação da carcinogênese cervical, com participação em vias críticas de proliferação celular, reparo do DNA e manutenção

da estabilidade genômica, destacando seu valor como potencial biomarcador e alvo terapêutico (REZA, 2022)

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

Avaliar a associação dos polimorfismos IVS2-405 C>T e Ex8+227 A>G no gene *TYMS* com as lesões pré-neoplásicas da cérvix uterina.

3.2 Objetivos Específicos

- Analisar a frequência dos polimorfismos IVS2-405 C>T (rs502396) e Ex8+227 A>G (rs2790) no gene *TYMS*;
- Determinar a associação de infecção por HPV e do desenvolvimento de lesões cervicais pré-neoplásicas de acordo com os polimorfismos no gene *TYMS*.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Desenho do estudo e obtenção das amostras

Trata-se de um estudo observacional de delineamento transversal, no qual as amostras analisadas foram coletadas previamente para a elaboração da tese intitulada “Cofatores genéticos e nutricionais associados às lesões pré-neoplásicas da cérvix uterina” (Silva, 2019). Este projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa da UFOP (CAAE 57187316.7.0000.5150, Anexo 1).

As participantes foram selecionadas no banco de dados do setor de Citologia do Laboratório de Análises Clínicas (LAPAC) da Escola de Farmácia da Universidade Federal de Ouro Preto (UFOP), no Centro Estadual de Atenção Especializada (CEAE) de Itabirito, Minas Gerais, e nos ambulatórios de Patologia do Trato Genital Inferior do Hospital Maternidade Odete Valadares e do Hospital da Baleia, localizados em Belo Horizonte, Minas Gerais. Os critérios de exclusão utilizados foram: gestante/parto recente (período menor que 6 meses), histórico clínico de neoplasia e presença de atipias cervicais em células glandulares.

Dados sociodemográficos e comportamentais foram obtidos através de entrevista. As amostras cervicais foram coletadas por enfermeiros ou médicos das equipes de saúde. Durante a consulta ginecológica, foram realizados raspados da ecto e endocérvice, com o auxílio de escova cilíndrica. Após a confecção da lâmina para análise citológica, a escova foi colocada em microtubos contendo tampão fosfato-salino (PBS). Todas as amostras foram armazenadas a -20°C até a extração do DNA.

As análises citopatológicas deste trabalho foram realizadas pelo setor de citologia do LAPAC. A coloração das lâminas foi conduzida conforme o método de Papanicolaou, e a avaliação citomorfológica foi realizada de acordo com os critérios estabelecidos pelo The Bethesda System for Reporting Cervical Cytology, amplamente utilizado para padronização dos diagnósticos citológicos cervicais (NAYAR; WILBUR, 2017). Todas as lâminas foram analisadas por dois citologistas independentes e, nos casos de discordância diagnóstica, procedeu-se à avaliação por um terceiro profissional. A terminologia diagnóstica adotada seguiu a

Nomenclatura Brasileira para Laudos Citopatológicos preconizada pelo Instituto Nacional de Câncer (INCA) (2012).

4.2 Extração de DNA, detecção e genotipagem de HPV

A extração de DNA das amostras cervicais foi realizada com o *Kit illustra blood genomicPrep Mini Spin®* (GE Healthcare), conforme recomendações do fabricante.

A detecção do HPV foi realizada por PCR convencional utilizando o par de iniciadores MY09 (CGTCCCAGGGGATACTGATC) e MY11 (GCCCAGGGTCATAAATGG) (Invitrogen) (GRAVITT et al., 2000). Naquelas amostras em que a infecção viral foi detectada por PCR (MY09/MY11), a genotipagem do HPV foi realizada por digestão enzimática (RFLP), como descrito por Miranda e colaboradores (2013).

Por outro lado, aquelas amostras em que a infecção por HPV não foi detectada por PCR (MY09/MY11), foram amplificadas por PCR utilizando os iniciadores GP5+ (TTTGTTACTGTGGTAGATACTAC) e GP6+ (GAAAAATAAACTGTAAATCATATTC) (Integrated DNA Technologies - IDT) (JACOBS et al., 1997), como descrito por Silva e colaboradores (2020a).

4.3 Avaliação das alterações genéticas no gene *TYMS*

Para a análise dos polimorfismos no gene *TYMS* foi utilizado o DNA extraído das amostras cervicais, conforme descrito no item anterior. A quantificação e a avaliação da pureza do DNA foram realizadas por espectrofotometria (NanoDrop™, Thermo Fisher) considerando-se adequadas as amostras que apresentaram razão A260/280 entre 1,8 e 2,0 para os ensaios de genotipagem. A identificação dos polimorfismos IVS2-405 C>T (rs502396) e Ex8+227 A>G (rs2790) foi realizada utilizando a técnica de PCR em tempo real com sondas TaqMan® (Thermo Fisher). As reações foram preparadas em volume final de 10,0 µL, contendo 5,0 µL de TaqMan™ Genotyping Master Mix (2×), 0,5 µL do ensaio específico (TaqMan™ SNP Genotyping Assay, 20×), 4,5µL de DNA genômico (≈10 ng/µL).

As ampliações foram conduzidas no equipamento QuantStudio 3™ (Thermo Fisher Scientific), seguindo o seguinte programa térmico: ativação inicial a 95 °C por 10 minutos, seguida de 40 ciclos de desnaturação a 95 °C por 15 segundos e anelamento/extensão a 60 °C por 1 minuto.

A discriminação alélica foi realizada automaticamente pelo software QuantStudio™ Design & Analysis Software, que gera gráficos de dispersão baseados na fluorescência emitida pelas sondas marcadas com FAM e VIC, correspondentes a cada alelo analisado (Tabela 1).

TABELA 1: Discriminação alélica obtida por TaqMan® para os polimorfismos genéticos no gene *TYMS*

Polimorfismos	Alelos	Não polimórfico	Genótipos	
			Heterozigoto	Polimórfico
IVS2-405 C>T (rs502396)		VIC (C/C)	FAM + VIC (C/T)	FAM (T/T)
Ex8+227 A>G (rs2790)		VIC (A/A)	FAM + VIC (A/G)	FAM (G/G)

Obs.: VIC = fluorescência do alelo 1; FAM = fluorescência do alelo 2. A definição dos genótipos foi realizada a partir do Allelic Discrimination Plot gerado no QuantStudio™ Design & Analysis Software.

4.4 Análises Estatísticas

Os dados foram tabulados utilizando-se o Microsoft Office Excel™ (Microsoft, Redmond, Washington, USA) e analisados pelo software Statistical Package for the Social Sciences™ 17.0 (SPSS, International Business Machines, New York, USA).

Estatística descritiva foi realizada para análise da frequência da infecção pelo HPV, das alterações citopatológicas e dos genótipos na população de estudo. Por outro lado, as frequências alélicas foram calculadas através das seguintes fórmulas:

$$\begin{aligned}
 - f_{\text{Alelo não polimórfico}} &= f_{\text{Genótipo não polimórfico}} + (0,5 \times f_{\text{Genótipo heterizoto}}); \\
 - f_{\text{Alelo polimórfico}} &= f_{\text{Genótipo polimórfico}} + (0,5 \times f_{\text{Genótipo heterizoto}}).
 \end{aligned}$$

Para avaliar se as frequências dos polimorfismos analisados permaneceram constantes ao longo das gerações, característica de uma população mendeliana em equilíbrio que não sofreu seleção, migração ou mutação, foi calculado o Equilíbrio de Hardy-Weinberg (*Hardy-Weinberg Equilibrium* - HWE), através da Calculadora de HWE incluindo análise para viés de verificação, disponível *on-line*. Sua presença foi considerada quando $p > 0,05$ (BODMER, 2015; RODRIGUEZ et al., 2009).

Teste de Qui-quadrado foi utilizado para comparação entre os grupos. Valores de $P < 0,05$ foram considerados evidência de associação significativa.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A amostragem deste trabalho foi constituída por 82 mulheres provenientes de um estudo previamente realizado pelo grupo de pesquisa. Dentre as participantes com alteração citopatológica (Casos, n=54), 21 apresentaram ASC-US, 13 mulheres possuíam LSIL, e em 20 participantes foi detectada HSIL/ASC-H (lesão cervical em células escamosas de alto grau). Por outro lado, o grupo controle foi composto por 28 participantes sem alterações citopatológicas.

A Tabela 2 apresenta as características sociodemográficas e comportamentais das participantes deste estudo. A idade média das mulheres foi de $37,9 \pm 12,0$ anos, variando de 19 a 65, e 60,97% (n=50) possuía até 40 anos. A maioria das participantes possuía ensino médio (n=45, 54,9%), renda per-capta mensal menor que um salário mínimo (n=60, 73,2%), não era tabagista (n=68, 82,9%) e fazia o uso de bebida alcoólica (n=51, 62,2%). Além disso, 85,4% (n=70) do grupo avaliado estava casada ou tinha parceiro fixo, 54,9% (n=45) relatou ter a primeira relação sexual com no mínimo 18 anos de idade, e 61,0% (n=50) possuía no mínimo três parceiros sexuais. Ainda, maior parte das participantes não usava contraceptivos hormonais (n=45, 54,9%) e teve ao menos uma gestação (n=67, 81,7%). Frequências similares das características avaliadas foram observadas nos grupos apresentando ou não alterações citopatológicas ($p > 0,05$).

Infecção por HPV foi detectada em 62,2% das participantes (n=51), sendo 28,1% das amostras (n=23) classificadas como hrHPV. Por outro lado, HPV de baixo risco oncogênico foi detectado em 1,2% (n=1) das participantes. Não foi possível determinar o tipo de HPV presente em 32,9% (n=27) das amostras. Frequências significativamente maiores de infecção por HPV ou hrHPV foram observadas no grupo apresentando alterações citopatológicas (Casos) ($p < 0,001$, Tabela 2).

TABELA 2: Características sociodemográficas e comportamentais das participantes do estudo com a presença de lesões pré-neoplásicas na cérvix uterina

Características	Total n (%)	Controle n (%)	Casos n (%)	P
Idade (anos)				
≤40	50 (61,0)	17 (60,7)	33 (61,1)	0,972
>40	32 (39,0)	11 (39,3)	21 (38,9)	
Escolaridade				
Ensino Superior	3 (3,7)	1 (3,6)	2 (3,7)	0,956
Ensino Médio	45 (54,9)	16 (57,1)	29 (53,7)	
Ensino Fundamental/Analfabeta	34 (41,5)	11 (39,3)	23 (42,6)	
Renda per-capta mensal (nº de salários mínimos)¹				
<1	60 (73,2)	18 (64,3)	42 (77,8)	0,179
1 a 2	19 (23,2)	9 (32,1)	10 (18,5)	
≥2	1 (1,2)	1 (3,6)	0 (0,0)	
Tabagista				
Não	68 (82,9)	24 (85,7)	44 (81,5)	0,629
Sim	14 (17,1)	4 (14,3)	10 (18,5)	
Etilista				
Não	31 (37,8)	9 (32,1)	22 (40,7)	0,446
Sim	51 (62,2)	19 (67,9)	32 (59,3)	
Estado marital				
Casada/Parceiro fixo	70 (85,4)	24 (85,7)	46 (85,2)	0,689
Solteira	8 (9,8)	2 (7,1)	6 (11,1)	
Viúva/Divorciada	4 (4,9)	2 (7,1)	2 (3,7)	
Idade da 1ª relação sexual (anos)¹				
≥18	45 (54,9)	16 (57,1)	29 (53,7)	0,752
<18	36 (43,9)	12 (42,9)	24 (44,4)	
Nº de parceiros sexuais				
1	19 (23,2)	8 (28,6)	11 (20,4)	0,703
2	13 (15,9)	4 (14,3)	9 (16,7)	
≥3	50 (61,0)	16 (57,1)	34 (63,3)	
Utiliza contraceptivo hormonal				
Não	45 (54,9)	14 (50,0)	31 (57,4)	0,523
Sim	37 (45,1)	14 (50,0)	23 (42,6)	
Gestações				
0	15 (18,3)	4 (14,3)	11 (20,4)	0,799
1	20 (24,4)	9 (32,1)	11 (20,4)	
2	23 (28,0)	7 (25,0)	16 (29,6)	
3	13 (15,9)	4 (14,3)	9 (16,7)	
≥4	11 (13,4)	4 (14,3)	7 (13,0)	
Infecção por HPV				
Negativa	31 (37,8)	19 (67,9)	12 (22,2)	<0,001
Positiva	51 (62,2)	9 (32,1)	42 (77,8)	
Alto risco	23 (28,1)	0 (0,0)	23 (42,6)	<0,001
Baixo risco	1 (1,2)	0 (0,0)	1 (1,9)	
Indeterminado	27 (32,9)	9 (32,1)	18 (33,3)	

Controle: mulheres sem alteração citopatológica; Casos: mulheres apresentando alteração citopatológica. 1Nem todas as participantes informaram

A infecção persistente pelo hrHPV é a principal causa do desenvolvimento do câncer de colo do útero. No entanto, alterações genéticas possuem impacto no risco de desenvolvimento desta neoplasia. Neste sentido, marcadores genéticos podem ser úteis no rastreamento de lesões cervicais pré-neoplásicas e neoplásicas, principalmente em casos de infecções por HPV ou alterações citopatológicas recorrentes (BAHRAMI *et al.*, 2018; CARDOSO *et al.*, 2017). A enzima timidilato sintase atua no metabolismo do folato catalisando a conversão de desoxiuridina monofosfato (dUMP) em desoxitimidina monofosfato (dTMP), um passo essencial na síntese de DNA, desempenhando um papel vital na replicação e reparo do DNA (COSTI *et al.*, 2005).

A infecção persistente por hrHPV é amplamente reconhecida como o principal fator etiológico do câncer do colo do útero. Contudo, a simples presença do vírus não é suficiente para explicar a progressão da infecção em lesões precursoras ou carcinoma invasivo, uma vez que apenas uma fração das mulheres infectadas desenvolve a doença. Esse cenário evidencia o papel de fatores genéticos do hospedeiro como moduladores individuais da susceptibilidade e da persistência da infecção viral. Nesse contexto, a identificação de marcadores genéticos torna-se particularmente relevante em situações de infecção recorrente por HPV e de alterações citopatológicas persistentes (BAHRAMI *et al.*, 2018; CARDOSO *et al.*, 2017; XU *et al.*, 2025; SAHASRABUDDHE, 2024). Entre os genes de interesse, destaca-se o *TYMS*, que codifica a enzima timidilato sintase, elemento central do metabolismo do folato e da biossíntese de nucleotídeos, desempenhando papel fundamental na manutenção da integridade genômica, na síntese e no reparo do DNA — processos intimamente relacionados à carcinogênese cervical (COSTI *et al.*, 2005; SILVA *et al.*, 2022; XIAO *et al.*, 2024).

Em relação ao polimorfismo TS Ex8+227 A>G (rs2790) (Tabela 3), observou-se que 63,4% (n=52) das amostras apresentaram o genótipo AA, 29,3% (n=24), apresentaram o genótipo AG e apenas 7,3% (n=6) apresentaram o genótipo GG. Na distribuição alélica, verificou-se maior frequência do alelo A (78,11%) em relação ao alelo G (21,9%).

A análise de equilíbrio de Hardy–Weinberg para a distribuição genotípica do SNP Ex8+227 A>G (rs2790) no grupo controle, indicou que a população encontra-se

em equilíbrio ($p=0,154$). Por outro lado, como pode ser visto na Tabela 3, a distribuição genotípica do SNP IVS2-405 C>T (rs502396) não apresentou o HWE ($p=0,003$) e, por isso, as análises deste SNP com o risco de câncer cervical não foram realizadas. A avaliação do equilíbrio de Hardy-Weinberg (HWE) é fundamental em estudos de associação genética, pois contribui para garantir a qualidade dos dados e a validade das conclusões obtidas, ao verificar se as frequências genotípicas observadas correspondem às expectativas teóricas em uma população em equilíbrio, na ausência de forças evolutivas ou erros técnicos. Nos grupos controle, a conformidade com o HWE sugere acasalamento aleatório e ausência de seleção ou migração recente, validando a população como referência adequada para análises de risco de patologias. A verificação desse equilíbrio é amplamente recomendada, especialmente no grupo controle, por constituir um importante indicador da qualidade dos dados e da consistência metodológica do estudo (MINELLI et al., 2008; SAADAT, 2024).

Desvios significativos podem refletir erros de genotipagem, estratificação populacional, tamanho amostral reduzido ou outros vieses capazes de comprometer a validade das estimativas de associação. Além disso, o HWE representa um princípio central na interpretação de dados genéticos, inclusive em estudos de meta-análise e sequenciamento genômico, sendo reconhecido por sua propriedade de transitividade, segundo a qual um polimorfismo multialélico em equilíbrio tende a manter essa condição mesmo após a exclusão ou combinação de alelos (NEAMATZADEH et al., 2024).

TABELA 3: Frequência genotípica e alélica dos polimorfismos no gene *TYMS*

Polimorfismo	Genótipos n (%)			Alelos %		HWE ¹	
	Não polimórfico	Heterozigoto	Polimórfico	Não polimórfico	Polimórfico	p	X ²
Ex8+227							
A>G (rs2790)	52 (63,4)	24 (29,3)	6 (7,3)	78,1	21,9	0,154	2,035
IVS2-405							
C>T (rs502396)	32 (39,0)	30 (36,6)	20 (24,4)	57,3	42,7	0,003	8,494

HWE: Equilíbrio de Hardy-Weinberg. ¹Avaliação do grupo controle.

Para avaliar a associação do polimorfismo Ex8+227 (rs2790) com as lesões pré-neoplásicas, as frequências genótípicas e alélicas foram comparadas com a presença de alterações citopatológicas na cérvix uterina (Tabela 4). Apesar de não ter se observada nenhuma diferença significativa entre os grupos, maior frequência do genótipo AA (n=20, 71,4%) foi observada entre as participantes sem alterações citopatológicas em relação àquelas com algum tipo de lesão (n=32, 59,3%) (p=0,516), ou com ASC-US (n=12, 57,1%), LSIL (n=9, 69,2%) ou HSIL/ASC-H (n=11, 55,0%) (p=0,593). Neste sentido, considerando-se o modelo recessivo, maior frequência de mulheres com alguma lesão (n=22, 40,7%) (p=0,278) ou com alterações de alto grau (HSIL/ASC-H: n=9, 45,0%) (p=0,587) possuíam genótipo AG+GG. Assim, foi possível observar uma maior tendência de ocorrência de lesões cervicais na presença do polimorfismo Ex8+227 (rs2790), sugerindo que essa variação genética pode estar associada a um maior risco para alterações na cérvix uterina, especialmente lesões de alto grau.

Tabela 4: Polimorfismo Ex8+227 (rs2790) de acordo com a presença de alterações citopatológicas

Polimorfismo Ex8+227 (rs2790)	Controle (n= 28)	Casos					
		Total (n= 54)	P	ASC-US (n= 21)	LSIL (n= 13)	HSIL/ASC-H (n= 20)	P
<i>Genótipo n (%)</i>	AA	20 (71,4)	0,516	12 (57,1)	9 (69,2)	11 (55,0)	0,593
	AG	6 (21,4)		8 (38,1)	4 (30,8)	6 (30,0)	
	GG	2 (7,1)		1 (4,8)	0 (0,0)	3 (15,0)	
<i>Modelo dominante n (%)</i>	AA+AG	26 (92,9)	0,965	20 (95,2)	13 (100,0)	17 (85,0)	0,396
	GG	2 (7,1)		1 (4,8)	0 (0,0)	3 (15,0)	
<i>Modelo recessivo n (%)</i>	AA	20 (71,4)	0,278	12 (57,1)	9 (69,2)	11 (55,0)	0,587
	AG+GG	8 (28,6)		9 (42,9)	4 (30,8)	9 (45,0)	
<i>Alélio %</i>	A	82,1	0,519	76,2	84,6	70,0	0,706
	G	17,9		23,8	15,4	30,0	

Controle: mulheres sem alteração citopatológica; Casos: mulheres apresentando alteração citopatológica; ASC-US: Células escamosas atípicas de significado indeterminado; LSIL: Lesão Intraepitelial Escamosa de Baixo Grau Alto Grau; HSIL: Lesão Intraepitelial Escamosa de Alto Grau; ASC-H: Células Escamosas Atípicas em que não se pode excluir Lesão de Alto Grau.

Foi avaliada também a distribuição genotípica e alélica do SNP Ex8+227 (rs2790) com a presença da infecção por HPV. No entanto, não foi observada diferença entre mulheres com ou sem infecção viral (Tabela 5).

Tabela 5: Polimorfismo Ex8+227 (rs2790) de acordo com a presença de infecção por HPV

Polimorfismo Ex8+227 (rs2790)		Ausência de HPV (n= 31)	Presença de HPV (n= 51)	p
<i>Genótipo n (%)</i>	AA	21 (67,7)	31 (60,8)	0,818
	AG	8 (25,8)	16 (31,4)	
	GG	2 (6,5)	4 (7,8)	
<i>Modelo dominante n (%)</i>	AA+AG	29 (93,5)	47 (92,2)	0,814
	GG	2 (6,5)	4 (7,8)	
<i>Modelo recessivo n (%)</i>	AA	21 (67,7)	31 (60,8)	0,526
	AG+GG	10 (32,3)	20 (39,2)	
<i>Alélio %</i>	A	80,6	76,5	0,658
	G	19,4	23,5	

Ausência de HPV: mulheres sem infecção pelo papilomavírus humano (HPV); Presença de HPV: mulheres com infecção pelo papilomavírus humano (HPV).

O polimorfismo Ex8+227 A>G (rs2790) apresenta relevância em diferentes tipos de câncer. De acordo com a literatura, este SNP tem sido associado a um aumento do risco de neoplasias, como câncer colorretal e gástrico, principalmente em populações asiáticas, sugerindo que sua presença pode favorecer a carcinogênese em contextos específicos (ZHANG et al., 2021; XIAO et al., 2024). Meta-análises recentes reforçam estes resultados, embora os dados ainda sejam heterogêneos entre grupos populacionais (XIAO et al., 2024). O mecanismo proposto envolve a modulação da expressão da timidilato sintase, o que pode levar a desequilíbrios no metabolismo do folato, instabilidade genômica e maior predisposição à transformação celular maligna (MOORE et al., 2007; ZHANG et al., 2021; XIAO et al., 2024).

Estudos futuros, com maior n amostral e incluindo casos confirmados de câncer cervical invasivo, são necessários para esclarecer o possível impacto funcional desse polimorfismo na progressão das lesões associadas ao HPV.

A enzima TS é considerada um marcador de proliferação tumoral devido ao seu papel central na síntese de nucleotídeos. A superexpressão dessa enzima aumenta a taxa de replicação celular, favorece o acúmulo de mutações, reduz a eficiência dos mecanismos de reparo do DNA e contribui para a manutenção do DNA viral integrado ao genoma hospedeiro. Além disso, níveis elevados de TS em tumores cervicais associam-se a maior agressividade, resistência terapêutica e pior resposta a esquemas quimioterápicos baseados na síntese de DNA. Nesse contexto, Lida et al. (2014) destacam a TS como um biomarcador promissor para estratificação prognóstica e para orientação de terapias direcionadas. (XU et al., 2025; LIDA, 2014).

Evidências indicam que variantes no gene *TYMS* influenciam tanto a suscetibilidade à infecção persistente pelo HPV quanto a progressão de lesões precursoras. O genótipo TS 3'UTR del/del foi associado a maior risco de persistência de lesões citopatológicas (Silva, 2020a), enquanto o polimorfismo rs2342700 apresenta correlação significativa com a presença de tipos oncogênicos de HPV (Famooto, 2013). Estudos de análise de redes gênicas identificam *TYMS* como um gene relevante para a progressão tumoral (Reza, 2022), achado compatível com resultados que mostram expressão aumentada da enzima em tumores em estágio avançado (Qiu et al., 2020). Esses dados reforçam que polimorfismos funcionais em *TYMS* modulam processos críticos da biologia celular, como controle do ciclo celular, resposta ao dano genômico e estabilidade do DNA. Além disso, níveis elevados de TS em diferentes tipos de câncer relacionam-se a maior agressividade tumoral, resistência a terapias e instabilidade genômica, sendo considerados indicadores úteis para estratificação prognóstica e para terapias que atuam na síntese de DNA (LIDA, 2014; SILVA, 2020a; FAMOOTO, 2013; REZA, 2022; QIU, 2020).

6. CONCLUSÃO

Embora o polimorfismo Ex8+227 A>G (rs2790) do gene *TYMS* não tenha apresentado associação estatisticamente significativa com a presença de alterações citopatológicas cervicais ou com a infecção por HPV nesta amostra, observou-se maior frequência do genótipo AG+GG entre mulheres com lesões, especialmente nas lesões de alto grau (HSIL/ASC-H).

O SNP IVS2-405 C>T (rs502396), por sua vez, não apresentou equilíbrio de Hardy–Weinberg no grupo controle e, portanto, foi excluído das análises de associação, reforçando a importância da avaliação do HWE como critério de qualidade em estudos genéticos.

Assim, os resultados deste estudo não permitem confirmar associação entre o SNP rs2790 e a presença de lesões cervicais ou infecção por HPV, mas contribuem para a ampliação do conhecimento sobre o papel de variantes no gene *TYMS* na carcinogênese cervical.

7. REFERÊNCIAS

- ARBYN, M.; WEIDERPASS, E.; BRUNI, L.; DE SANJOSÉ, S.; SARAIYA, M.; FERLAY, J.; BRAY, F. Estimates of incidence and mortality of cervical cancer in 2018: a worldwide analysis. *Lancet Global Health*, v. 8, n. 2, p. e191-e203, fev. 2020. DOI: 10.1016/S2214-109X(19)30482-6.
- ASHRAFI, G. H.; OZDOGAN, M.; CAKIR, M. O. Papillomavirus-induced oncogenesis: bridging molecular mechanisms, diagnostics, and global prevention strategies. *Viruses*, v. 17, n. 4, 515, 2025. DOI: 10.3390/v17040515.
- BAHRAMI, A.; HASANZADEH, M.; SHAHIDSALES, S.; FARAZESTANIAN, M.; HASSANIAN, S. M.; MOETAMANI AHMADI, M.; MAFTOUH, M.; GHARIB, M.; YOUSEFI, Z.; KADKHODAYAN, S.; FERNS, G. A.; AVAN, A. Genetic susceptibility in cervical cancer: from bench to bedside. *Journal of Cellular Physiology*, v. 233, n. 3, p. 1929–1939, 2018. DOI: 10.1002/jcp.26019.
- BODMER, W. Genetic characterization of human populations: from ABO to a genetic map of the British people. *Genetics*, v. 199, n. 2, p. 267-279, 2015. DOI: 10.1534/genetics.114.173062.
- BRAY, F.; LAVERSANNE, M.; SUNG, H.; FERLAY, J.; SIEGEL, R. L.; SOERJOMATARAM, I.; JEMAL, A. Global cancer statistics 2022: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, v. 74, n. 3, p. 229-263, mai./jun. 2024. DOI: 10.3322/caac.21834.
- BRITO-SILVA, K.; BEZERRA, A. F.; CHAVES, L. D.; TANAKA, O. Y. Integrality in cervical cancer care: evaluation of access. *Revista de Saúde Pública*, v. 48, n. 2, p. 240–248, 2014.
- BURD, E. M. Human papillomavirus and cervical cancer. *Clinical Microbiology Reviews*, v. 16, n. 1, p. 1-17, jan. 2003. DOI: 10.1128/CMR.16.1.1-17.2003.
- CARDOSO, M. F. S.; CASTELLETTI, C. H. M.; LIMA-FILHO, J. L.; MARTINS, D. B. G.; TEIXEIRA, J. A. C. Putative biomarkers for cervical cancer: SNVs, methylation and expression profiles. *Mutation Research Reviews in Mutation Research*, v. 773, p. 161-173, 2017. DOI: 10.1016/j.mrrev.2017.06.002.
- CARRERAS, C. W.; SANTI, D. V. The catalytic mechanism and structure of thymidylate synthase. *Annual Review of Biochemistry*, v. 64, p. 721-762, 1995. DOI: 10.1146/annurev.bi.64.070195.003445.

CHOI, S. W.; MASON, J. B. Folate and carcinogenesis: an integrated scheme. *Journal of Nutrition*, v. 130, n. 2, p. 129-132, 2000. DOI: 10.1093/jn/130.2.129.

COSTI, M. P.; FERRARI, S.; VENTURELLI, A.; CALÒ, S. et al. Thymidylate synthase structure, function and implication in drug discovery. *Current Medicinal Chemistry*, v. 12, n. 19, p. 2241–2258, 2005.

DUTHIE, S. J. Folate and cancer: how DNA damage, repair and methylation impact on colon carcinogenesis. *Journal of Inherited Metabolic Disease*, v. 34, n. 1, p. 101–109, 2011.

FAMOOTO, A.; ALMUJTABA, M.; DARENG, E.; AKAROLO-ANTHONY, S.; OGBONNA, C.; OFFIONG, R.; OLANIYAN, O.; WHEELER, C. M.; DOUMATEY, A.; ROTIMI, C. N.; ADEYEMO, A.; ADEBAMOWO, C. A. RPS19 and TYMS SNPs and prevalent high risk human papilloma virus infection in Nigerian women. *PLoS One*, v. 8, n. 6, e66930, 2013. DOI: 10.1371/journal.pone.0066930.

FERRARI, Y. A. C.; JESUS, C. V. F.; BATISTA, J. F. C.; SILVA, B. E. B. D.; CAVALCANTE, A. B.; LIMA, C. A. Secular trend of cervical cancer mortality in Brazil and regions. *Ciência & Saúde Coletiva*, v. 30, n. 3, e09962023, mar. 2025. DOI: 10.1590/1413-81232025303.09962023.

FERNÁNDEZ-CONTRERAS, M. E.; SÁNCHEZ-HERNÁNDEZ, J. J.; GONZÁLEZ, E.; HERRÁEZ, B.; DOMÍNGUEZ, I.; LOZANO, M.; GARCÍA DE PAREDES, M. L.; MUÑOZ, A.; GAMALLO, C. Combination of polymorphisms within 5' and 3' untranslated regions of thymidylate synthase gene modulates survival in 5 fluorouracil-treated colorectal cancer patients. *International Journal of Oncology*, v. 34, n. 1, p. 219-229, 2009.

FRANCOEUR, A. A.; MONK, B. J.; TEWARI, K. S. Avanços no tratamento em todo o espectro do câncer cervical. *Nature Reviews Clinical Oncology*, v. 22, p. 182–199, 2025.

GABRIELLI, S.; MAGGIONI, E.; FIESCHI, L. Cervical cancer prevention in Senegal: an international cooperation project report. *Acta Biomedica*, v. 89, n. 6-S, p. 29–34, 2018.

GO, A. E.; FELICIANO, E. J. G.; MARTINEZ, J.; HO, F. D. V.; WU, J. F.; WILLMANN, J.; LAPEN, K.; HUGO, H.; JEONG, Y.; SINGH, A.; HAYLOCK, A. B.; SHAH, N.; ROBREDO, J. P. G.; EALA, M. A. B.; PATEL, R. K.; CHEN, J.; CABAERO, M. L. L.; TAWFILES, D.; VENKATESWARAN, S.; TAN, A. K. N. G.; GYAWALI, B.; MORAES, F. Y.; IYENGAR, P.; LEE, N. Y.; MANGO, V. L.; TAUNK, N. K.; MAGSANOC-ALIKPALA, M. J. K.; KINGHAM, T. P.; DEE, E. C. Global determinants of cervical cancer outcomes: a health systems analysis. *BMJ Oncology*, v. 5, n. 1, e000975, 2026. DOI: 10.1136/bmjonc-2025-000975.

GONG, J. M.; SHEN, Y.; SHAN, W. W.; HE, Y. X. The association between MTHFR polymorphism and cervical cancer. *Scientific Reports*, v. 8, p. 7244, 2018. DOI: 10.1038/s41598-018-25726-9.

GORE, M.; KABBEKODU, S. P.; CHAKRABARTY, S. Exploring the metabolic alterations in cervical cancer induced by HPV oncoproteins: From mechanisms to therapeutic targets. *Biochimica et Biophysica Acta Reviews on Cancer*, v. 1880, n. 2, 189292, abr. 2025. DOI: 10.1016/j.bbcan.2025.189292.

GRAVITT, P. E. The known unknowns of HPV natural history. *Journal of Clinical Investigation*, v. 121, n. 12, p. 4593-4599, dez. 2011. DOI: 10.1172/JCI57149.

GRAVITT, P. E.; PEYTON, C. L.; ALESSI, T. Q.; WHEELER, C. M.; COUTLÉE, F.; HILDESHEIM, A.; SCHIFFMAN, M. H.; SCOTT, D. R.; APPLE, R. J. Improved amplification of genital human papillomaviruses. *Journal of Clinical Microbiology*, v. 38, n. 1, p. 357-361, 2000. DOI: 10.1128/JCM.38.1.357-361.2000.

JACOBS, M. V.; SNIJDERS, P. J.; VAN DEN BRULE, A. J.; HELMERHORST, T. J.; MEIJER, C. J.; WALBOOMERS, J. M. A general primer GP5+/GP6(+)-mediated PCR-enzyme immunoassay method for rapid detection of 14 high-risk and 6 low-risk human papillomavirus genotypes in cervical scrapings. *Journal of Clinical Microbiology*, v. 35, n. 3, p. 791-795, 1997. DOI: 10.1128/jcm.35.3.791-795.1997.

JEON, Y.; CHO, S.; KIM, E. et al. 3'-UTR polymorphisms in thymidylate synthase with colorectal cancer prevalence and prognosis. *Journal of Personalized Medicine*, v. 11, n. 6, 2021. DOI: 10.3390/jpm11060537.

KARIMI-ZARCHI, M.; MOGHIMI, M.; ABBASI, H.; HADADAN, A.; SALIMI, E.; MOROVATI-SHARIFABAD, M.; AKBARIAN-BAFGHI, M. J.; ZARE-SHEHNEH, M.; MOSAVI-JARRAHI, A.; NEAMATZADEH, H. Association of MTHFR 677C>T Polymorphism with Susceptibility to Ovarian and Cervical Cancers: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, v. 20, n. 9, p. 2569-2577, set. 2019. DOI: 10.31557/APJCP.2019.20.9.2569.

KELEMEN, L. E.; EARP, M.; FRIDLEY, B. L.; CHENEVIX-TRENCH, G. et al. rs495139 in the TYMS-ENOSF1 region and risk of ovarian carcinoma of mucinous histology. *International Journal of Molecular Sciences*, v. 19, n. 9, 2018.

KIM, J. O.; RYU, C. S.; LEE, J. Y.; KO, E. J.; HA, Y. H.; SUNG, J. H.; HWANG, T. S.; KIM, I. J.; KIM, N. K. Association of Thymidylate Synthase (TS) Gene Polymorphisms with Incidence

and Prognosis of Coronary Artery Disease. *International Journal of Molecular Sciences*, v. 24, n. 16, 12591, ago. 2023. DOI: 10.3390/ijms241612591.

KUMAR, A.; SINGH, A. K.; SINGH, H.; THAREJA, S.; KUMAR, P. Regulation of thymidylate synthase: an approach to overcome 5-FU resistance in colorectal cancer. *Medical Oncology*, v. 40, n. 1, p. 3, 2022. DOI: 10.1007/s12032-022-01864-z.

KUSAKABE, M.; TAGUCHI, A.; SONE, K.; MORI, M.; OSUGA, Y. Carcinogenesis and management of human papillomavirus-associated cervical cancer. *International Journal of Clinical Oncology*, v. 28, n. 8, p. 965-974, 2023. DOI: 10.1007/s10147-023-02337-7.

LIDA, M. et al. Candidate biomarkers for cervical cancer treatment: potential for clinical practice. *Molecular and Clinical Oncology*, 2014.

LONGLEY, D. B.; HARKIN, D. P.; JOHNSTON, P. G. 5-fluorouracil: mechanisms of action and clinical strategies. *Nature Reviews Cancer*, v. 3, n. 5, p. 330-338, 2003. DOI: 10.1038/nrc1074.

MANDOLA, M. V.; STOEHLMACHER, J.; ZHANG, W.; GROSHEN, S.; YU, M. C.; IQBAL, S.; LENZ, H. J.; LADNER, R. D. A 6 bp polymorphism in the thymidylate synthase gene causes message instability and is associated with decreased intratumoral TS mRNA levels. *Pharmacogenetics*, v. 14, n. 5, p. 319-327, 2004. DOI: 10.1097/00008571-200405000-00007.

MINELLI, C.; THOMPSON, J. R.; ABRAMS, K. R.; THAKKINSTIAN, A. et al. How should we use information about HWE in meta-analyses of genetic association studies? *International Journal of Epidemiology*, v. 37, n. 1, p. 136–146, 2008.

MIRANDA, P. M.; SILVA, N. N.; PITOL, B. C.; SILVA, I. D.; LIMA-FILHO, J. L.; CARVALHO, R. F.; STOCCO, R. C.; BEÇAK, W.; LIMA, A. A. Persistence or clearance of human papillomavirus infections in women in Ouro Preto, Brazil. *BioMed Research International*, v. 2013, Article ID 578276, 2013. DOI: 10.1155/2013/578276.

MOORE, L. E.; CHEN, J.; WU, X.; CHANOCK, S. et al. Folate metabolism genes, vegetable intake, and renal cancer risk in Central Europe. *International Journal of Cancer*, v. 120, n. 8, p. 1911–1916, 2007.

NAYAR, R.; WILBUR, D. C. The Bethesda System for Reporting Cervical Cytology: a historical perspective. *Acta Cytologica*, v. 61, n. 4-5, p. 359-372, 2017. DOI: 10.1159/000477556.

NEAMATZADEH, H.; DASTGHEIB, S. A.; MAZAHARI, M.; MASOUDI, A.; SHIRI, A.; OMIDI, A.; RAHMANI, A.; GOLSHAN-TAFTI, A.; AGHASIPOUR, M.; YEGANEHI, M.; BAHRAMI, M.; AGHILI, K.; KHAJEHNOORI, S.; MOSAVI JARRAHI, A. Hardy-Weinberg equilibrium in meta-analysis studies and large-scale genomic sequencing era. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, v. 25, n. 7, p. 2229-2235, 2024. DOI: 10.31557/APJCP.2024.25.7.2229.

OKUNADE, K. S. Erratum in: Human papillomavirus and cervical cancer. *Journal of Obstetrics and Gynaecology*, v. 40, n. 4, p. 590, maio 2020. DOI: 10.1080/01443615.2020.1713592.

PETERSEN, Z.; JACA, A.; GININDZA, T. G. et al. Barriers to uptake of cervical cancer screening services in low- and middle-income countries: a systematic review. *BMC Women's Health*, v. 22, p. 486, 2022. DOI: 10.1186/s12905-022-02043-y.

QIÚ, H.-Z.; HUANG, J.; XIANG, C.-C.; LI, R.; ZUO, E.-D.; ZHANG, Y.; SHAN, L.; CHENG, X. Screening and discovery of new potential biomarkers and small molecule drugs for cervical cancer: a bioinformatics analysis. *Technology in Cancer Research & Treatment*, v. 19, p. 1533033820980112, dez. 2020.

RAHMAN, L.; VOELLER, D.; RAHMAN, M.; LIPKOWITZ, S.; ALLEGRA, C.; BARRETT, J. C.; KAYE, F. J.; ZAJAC-KAYE, M. Thymidylate synthase as an oncogene: a novel role for an essential DNA synthesis enzyme. *Cancer Cell*, v. 5, n. 4, p. 341-351, abr. 2004. DOI: 10.1016/s1535-6108(04)00080-7.

REZA, M. S.; HOSSEN, M. A.; HARUN-OR-ROSHID, M.; SIDDIKA, M. A.; KABIR, M. H.; MOLLAH, M. N. H. Metadata analysis to explore hub of the hub-genes highlighting their functions, pathways and regulators for cervical cancer diagnosis and therapies. *Discovery Oncology*, v. 13, n. 1, p. 79, 2022. DOI: 10.1007/s12672-022-00546-6.

RODRIGUEZ, S.; GAUNT, T. R.; DAY, I. N. Hardy-Weinberg equilibrium testing of biological ascertainment for Mendelian randomization studies. *American Journal of Epidemiology*, v. 169, n. 4, p. 505-514, 2009. DOI: 10.1093/aje/kwn359.

SAADAT, M. The importance of examining the Hardy-Weinberg Equilibrium in genetic association studies. *Molecular Biology Research Communications*, v. 13, n. 1, p. 1-2, 2024. DOI: 10.22099/mbrc.2023.48386.1872.

SAHASRABUDDHE, V. V. Cervical Cancer: Precursors and Prevention. *Hematology/Oncology Clinics of North America*, v. 38, n. 4, p. 771-781, ago. 2024. DOI: 10.1016/j.hoc.2024.03.005.

SCHIFFMAN, M.; CASTLE, P. E.; JERONIMO, J.; RODRIGUEZ, A. C.; WACHOLDER, S. Human papillomavirus and cervical cancer. *Lancet*, v. 370, n. 9590, p. 890-907, 8 set. 2007. DOI: 10.1016/S0140-6736(07)61416-0.

SCHIFFMAN, M.; WENTZENSEN, N.; WACHOLDER, S.; KINNEY, W.; GAGE, J. C.; CASTLE, P. E. Human papillomavirus testing in the prevention of cervical cancer. *Journal of the National Cancer Institute*, v. 103, n. 5, p. 368-383, 2 mar. 2011. DOI: 10.1093/jnci/djq562.

SEN, A.; KARATI, D. An insight into thymidylate synthase inhibitor as anticancer agents: an explicative review. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*, v. 397, n. 8, p. 5437-5448, 2024. DOI: 10.1007/s00210-024-03020-y.

SHI, Q.; ZHANG, Z.; NEUMANN, A. S.; LI, G.; SPITZ, M. R.; WEI, Q. Case-control analysis of thymidylate synthase polymorphisms and risk of lung cancer. *Carcinogenesis*, v. 26, n. 3, p. 649-656, mar. 2005. DOI: 10.1093/carcin/bgh351.

SILVA, N. N. T.; SABINO, A. D.; TAFURI, A. et al. Lack of association between methylenetetrahydrofolate reductase C677T polymorphism, HPV infection and cervical intraepithelial neoplasia in Brazilian women. *BMC Medical Genetics*, v. 20, p. 100, 2019. DOI: 10.1186/s12881-019-0831-x.

SILVA, N. N. T.; SANTOS, A. C. S.; BRITO, M. F. D. S.; PEIXOTO DO VALE, D. B. A. et al. Levels of folate and vitamin B12 and genetic polymorphisms involved in one-carbon metabolism. *Nutrition and Cancer*, v. 74, n. 8, p. 2779-2788, 2022.

SILVA, N. N. T.; SANTOS, A. C. S.; NOGUEIRA, V. M.; CARNEIRO, C. M.; LIMA, A. A. 3'UTR polymorphism of Thymidylate Synthase gene increased the risk of persistence of pre-neoplastic cervical lesions. *BMC Cancer*, v. 20, n. 1, p. 323, 15 abr. 2020a. DOI: 10.1186/s12885-020-06811-7.

SILVA, N. N. T.; SILVA SANTOS, A. C.; CARNEIRO, C. M.; LIMA, A. A. Association of serum folate and vitamin B12 with pre-neoplastic cervical lesions. *Clinical Nutrition ESPEN*, v. 38, p. 223-228, ago. 2020b. DOI: 10.1016/j.clnesp.2020.04.007.

SILVA, NAYARA NASCIMENTO TOLEDO. Cofatores genéticos e nutricionais associados às lesões pré-neoplásicas na cérvix uterina. 2019. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas) — Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Escola de Farmácia, Universidade Federal de Ouro Preto, Ouro Preto, 2019. Orientadora: Angélica Alves Lima.

SINGH, D.; VIGNAT, J.; LORENZONI, V.; ESLAHI, M.; GINSBURG, O.; LAUBY-SECRETAN, B.; ARBYN, M.; BASU, P.; BRAY, F.; VACCARELLA, S. Global estimates of incidence and mortality of cervical cancer in 2020: a baseline analysis of the WHO Global Cervical Cancer Elimination Initiative. *Lancet Global Health*, v. 11, n. 2, p. e197-e206, fev. 2023. DOI: 10.1016/S2214-109X(22)00501-0.

STOVER, P. J. One-carbon metabolism-genome interactions in folate-associated pathologies. *Journal of Nutrition*, v. 139, n. 12, p. 2402-2405, 2009. DOI: 10.3945/jn.109.113670.

TONG, S. Y.; KIM, M. K.; LEE, J. K.; LEE, J. M.; CHOI, S. W.; FRISO, S.; SONG, E. S.; LEE, K. B.; LEE, J. P. Common polymorphisms in methylenetetrahydrofolate reductase gene are associated with risks of cervical intraepithelial neoplasia and cervical cancer in women with low serum folate and vitamin B12. *Cancer Causes & Control*, v. 22, n. 1, p. 63-72, jan. 2011. DOI: 10.1007/s10552-010-9675-6.

ULRICH, C. M.; BIGLER, J.; VELICER, C. M.; GREENE, E. A.; FARIN, F. M.; POTTER, J. D. Searching expressed sequence tag databases: discovery and confirmation of a common polymorphism in the thymidylate synthase gene. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention*, v. 9, n. 12, p. 1381-1385, 2000.

WANG, J.; WANG, B.; BI, J.; DI, J. The association between two polymorphisms in the TYMS gene and breast cancer risk: a meta-analysis. *Breast Cancer Research and Treatment*, v. 128, n. 1, p. 203-209, jul. 2011. DOI: 10.1007/s10549-010-1314-0.

WU, J.; JIN, Q.; ZHANG, Y.; JI, Y.; LI, J.; LIU, X.; DUAN, H.; FENG, Z.; LIU, Y.; ZHANG, Y.; LYU, Z.; YANG, L.; HUANG, Y. Global burden of cervical cancer: current estimates, temporal trend and future projections based on the GLOBOCAN 2022. *Journal of the National Cancer Center*, v. 5, n. 3, p. 322-329, 2025. DOI: 10.1016/j.jncc.2024.11.006.

XIAO, Y.; ZHOU, W.; JIANG, Y.; ZOU, A. Association of MTHFR rs9651118 and TYMS rs2790 Polymorphisms with Risk of Cancers: A Case–Control Study and Meta-analysis. *Biochemical Genetics*, v. 63, n. 5, p. 4037-4056, set. 2024. DOI: 10.1007/s10528-024-10929-9.

XU, M.; CAO, C.; WU, P.; HUANG, X.; MA, D. Advances in cervical cancer: current insights and future directions. *Cancer Communications (London)*, v. 45, n. 2, p. 77-109, fev. 2025. DOI: 10.1002/cac2.12629.

YANG, H.-J.; XUE, J.-M.; LI, J.; WAN, L.-H.; ZHU, Y.-X. Identification of key genes and pathways of diagnosis and prognosis in cervical cancer by bioinformatics analysis. *Molecular Genetics & Genomic Medicine*, v. 8, n. 6, e1200, 2020. DOI: 10.1002/mgg3.1200.

YANG, Z.; LIU, H. X.; ZHANG, X. F. 2R of thymidylate synthase 5'-untranslated enhanced region contributes to gastric cancer risk: a meta-analysis. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, v. 13, n. 5, p. 1923-1927, 2012. DOI: 10.7314/apjcp.2012.13.5.1923.

YU, F.; SHI, L.; WANG, Q.; XING, X.; LI, Z.; HOU, L.; ZHOU, Z.; WANG, Z.; XIAO, Y. The Association Between Thymidylate Synthase Gene Polymorphisms and the Risk of Ischemic Stroke in Chinese Han Population. *Biochemical Genetics*, v. 62, n. 1, p. 468-484, fev. 2024. DOI: 10.1007/s10528-023-10431-8.

YUAN, Y.; CAI, X.; SHEN, F.; MA, F. HPV post-infection microenvironment and cervical cancer. *Cancer Letters*, v. 497, p. 243-254, 28 jan. 2021. DOI: 10.1016/j.canlet.2020.10.034.

ZUR HAUSEN, H. Papillomaviruses and cancer: from basic studies to clinical application. *Nature Reviews Cancer*, v. 2, n. 5, p. 342-350, mai. 2002. DOI: 10.1038/nrc798.

8) ANEXOS

Anexo 1: Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Ouro Preto

UNIVERSIDADE FEDERAL DE OURO PRETO 								
PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP								
DADOS DO PROJETO DE PESQUISA Título da Pesquisa: AVALIAÇÃO DE COFATORES GENÉTICOS, EPIGENÉTICOS E NUTRICIONAIS RELACIONADOS A CARCINOGENESE CERVICAL Pesquisador: Angélica Alves Lima Área Temática: Genética Humana: (Trata-se de pesquisa envolvendo Genética Humana que não necessita de análise ética por parte da CONEP;); Versão: 2 CAAE: 57187316.7.0000.5150 Instituição Proponente: Universidade Federal de Ouro Preto Patrocinador Principal: Financiamento Próprio DADOS DO PARECER Número do Parecer: 1.830.605 Apresentação do Projeto: "Estudo transversal onde será avaliado: (a) associação dos níveis de folato e vitamina B12 com a carcinogênese cervical; (b) os polimorfismos C677T no gene da enzima metilenotetrahidrofolato (MTHFR), A2756 no gene da enzima etionina sintase (MS), A66G no gene da enzima metionina sintase redutase (MTRR), do número de repetições em tandem (2R e 3R) na região não traduzida na porção 5' (5' UTR) do gene da enzima timidilato sintase (TS) e a deleção de 6pb em 3' UTR do gene desta enzima e sua associação com o câncer cervical; (d) grau de metilação do DNA tanto do hospedeiro quanto do HPV em relação a presença dos diferentes graus de lesões pré-neoplásicas da cérvix uterina e do câncer cervical. Serão analisadas amostras de 300 mulheres de Ouro Preto com mais de 30 anos de idade atendidas pelo SUS/OP, apresentando ou não lesões cervicais e/ou infecção pelo HPV. Serão coletadas amostras sanguíneas para dosagem de folato, homocisteína e vitaminas B12 e B6, que serão realizadas por quimioluminescência, e avaliação dos polimorfismos genéticos, cuja genotipagem será feita por reação em cadeia da polimerase (PCR) seguida de digestão enzimática (RFLP), com os iniciadores e as enzimas de restrição específicas para cada gene. Amostras cervicais serão coletadas para análise citológica, realizada pela técnica convencional de Papanicolaou, pesquisa do HPV, realizada por PCR convencional utilizando os								
<table border="0" style="width: 100%;"> <tr> <td colspan="2">Endereço: Morro do Cruzeiro-ICEB II, Sala 29 -PROPP/UFOP</td> </tr> <tr> <td>Bairro: Campus Universitário</td> <td>CEP: 35.400-000</td> </tr> <tr> <td>UF: MG</td> <td>Município: OURO PRETO</td> </tr> <tr> <td>Telefone: (31)3559-1368</td> <td>Fax: (31)3559-1370 E-mail: cep@propp.ufop.br</td> </tr> </table>	Endereço: Morro do Cruzeiro-ICEB II, Sala 29 -PROPP/UFOP		Bairro: Campus Universitário	CEP: 35.400-000	UF: MG	Município: OURO PRETO	Telefone: (31)3559-1368	Fax: (31)3559-1370 E-mail: cep@propp.ufop.br
Endereço: Morro do Cruzeiro-ICEB II, Sala 29 -PROPP/UFOP								
Bairro: Campus Universitário	CEP: 35.400-000							
UF: MG	Município: OURO PRETO							
Telefone: (31)3559-1368	Fax: (31)3559-1370 E-mail: cep@propp.ufop.br							

UNIVERSIDADE FEDERAL DE OURO PRETO



Continuação do Parecer: 1.830.605

Iniciadores MY09/MY11, e avaliação do grau de metilação do DNA do hospedeiro e do HPV, através de pirosequenciamento. Ainda, a técnica de amplificação isotérmica mediada por ciclos (LAMP) será padronizada para detecção do HPV e os resultados obtidos serão comparados a pesquisa do vírus realizada por PCR convencional.”

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário:

Avallar cofatores genéticos, epigenéticos e nutricionais, buscando possíveis marcadores para diagnóstico e prognóstico de lesões pré-neoplásicas e neoplásicas da cérvix uterina.

Objetivos Secundários:

- Analisar os níveis séricos de folato, homocisteína, vitaminas B12 e B6 no grupo controle (ausência de lesão pré-neoplásica) e nos casos (lesões intraepiteliais de baixo grau, alto grau e câncer cervical);
- Analisar os polimorfismos C677T da enzima MTHFR, A2756G da MS e A66G da enzima MTRR, e avallar o número de repetições em tandem em 5' UTR do gene da enzima TS (2R e 3R), além da deleção de 6pb em 3' UTR deste mesmo gene;- Determinar a taxa de metilação global do DNA do hospedeiro, do gene promotor da enzima MTHFR e do gene E2 do HPV nos grupos controle e casos;
- Correlacionar a concentração de folato, homocisteína, vitaminas B12 e B6, e a taxa de metilação do DNA viral e do hospedeiro, com a infecção por HPV e com a presença de lesões pré-neoplásicas;
- Determinar o efeito dos níveis de folato, homocisteína, vitaminas B12 e B6 sobre os polimorfismos nos genes das enzimas que atuam no metabolismo destes micronutrientes, correlacionando-os com a infecção pelo HPV e o desenvolvimento do câncer cervical;
- Padronizar a técnica LAMP para detecção de HPV em amostras cervicais;
- Avallar a infecção por HPV pelas técnicas de PCR convencional e LAMP, comparando as metodologias;
- Avallar o desempenho da técnica LAMP no diagnóstico de lesões préneoplásicas de cérvix uterina, comparando-a com a análise citológica.”

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos:

Segundo os autores, os procedimentos utilizados apresentam risco habitual, visto serem de rotina clínica e laboratorial. Para diminuir os riscos, todo o material utilizado será descartável, seguindo as normas de biossegurança estabelecidas pelo laboratório.

Endereço: Morro do Cruzeiro-ICEB II, Sala 29 -PROPP/UFOP

Bairro: Campus Universitário

CEP: 35.400-000

UF: MG

Município: OURO PRETO

Telefone: (31)3559-1368

Fax: (31)3559-1370

E-mail: cep@propp.ufop.br

UNIVERSIDADE FEDERAL DE OURO PRETO



Continuação do Parecer: 1.830.606

Benefícios:

Colaborar para o estabelecimento de marcadores do câncer cervical, que auxiliem o diagnóstico e prognóstico de lesões pré-neoplásicas e neoplásicas da cérvix uterina, além do tratamento e prevenção desta doença."

Relação riscos-benefícios adequada.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

"Trata-se de pesquisa envolvendo mulheres usuárias do SUS de Ouro Preto, selecionadas a partir de análise do banco de dados do LAPAC. Inclui aplicação de entrevista, coleta de sangue e realização de exame ginecológico para coleta de material cervical. A consulta será realizada para fins da pesquisa, ocasião onde também será realizada a coleta de sangue."

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Termos apresentados e adequados.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Projeto aprovado.

Considerações Finais a critério do CEP:

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_P ROJETO_741413.pdf	04/08/2016 21:36:53		Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	Carta_de_Anuencia_LAPAC.pdf	04/08/2016 21:33:54	Angélica Alves Lima	Aceito
Outros	Entrevista.pdf	04/08/2016 21:32:14	Angélica Alves Lima	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE.pdf	04/08/2016 21:31:44	Angélica Alves Lima	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_de_Pesquisa.pdf	04/08/2016 21:31:32	Angélica Alves Lima	Aceito
Outros	Resposta_ao_Parecer_do_CEP.pdf	04/08/2016 21:31:13	Angélica Alves Lima	Aceito
Outros	Declaracao_de_custelo_dos_gastos.	16/06/2016	Angélica Alves Lima	Aceito

Endereço: Morro do Cruzeiro-ICEB II, Sala 29 -PROPP/UFOP

Bairro: Campus Universitário

CEP: 35.400-000

UF: MG

Município: OURO PRETO

Telefone: (31)3559-1368

Fax: (31)3559-1370

E-mail: cep@propp.ufop.br

UNIVERSIDADE FEDERAL DE OURO PRETO



Continuação do Parecer: 1.830.606

Outros	pdf	16:52:20	Angélica Alves Lima	Acelto
Declaração de Instituição e Infraestrutura	Carta_de_Anuencia_SMOP.pdf	16/06/2016 16:51:15	Angélica Alves Lima	Acelto
Folha de Rosto	folha_de_rosto.pdf	16/06/2016 16:48:27	Angélica Alves Lima	Acelto

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

OURO PRETO, 22 de Novembro de 2016

Assinado por:
Núncio Antônio Araújo Sól
(Coordenador)

Endereço: Morro do Cruzeiro-ICEB II, Sala 29 -PROPP/UFOP
Bairro: Campus Universitário CEP: 35.400-000
UF: MG Município: OURO PRETO
Telefone: (31)3559-1368 Fax: (31)3559-1370 E-mail: cep@propp.ufop.br