

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA

**REPOSICIONAMENTO DE FÁRMACOS POR DOCKING MOLECULAR DIRECIONADO ÀS
PROTEÍNAS PNMA3 E RASSF2 ASSOCIADAS À RESISTÊNCIA À QUIMIORADIOTERAPIA NO
CÂNCER DE COLO UTERINO**

LARISSA PAULA DE CARVALHO FERREIRA

PATOS DE MINAS

2025

LARISSA PAULA DE CARVALHO FERREIRA

**REPOSICIONAMENTO DE FÁRMACOS POR DOCKING MOLECULAR DIRECIONADO ÀS
PROTEÍNAS PNMA3 E RASSF2 ASSOCIADAS À RESISTÊNCIA À QUIMIORADIOTERAPIA NO
CÂNCER DE COLO UTERINO**

**Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em
Biotecnologia do Instituto de Biotecnologia da Universidade
Federal de Uberlândia, como requisito parcial para a obtenção do
título de Mestre em Biotecnologia
Área de concentração: Biociências.**

Orientador: Prof. Dr. Laurence Rodrigues do Amaral

Co-orientador: Dr. Fábio Ribeiro Queiroz

PATOS DE MINAS

2025

F383 2025	Ferreira, Larissa Paula de Carvalho, 1995- REPOSICIONAMENTO DE FÁRMACOS POR DOCKING MOLECULAR DIRECIONADO ÀS PROTEÍNAS PNMA3 E RASSF2 ASSOCIADAS À RESISTÊNCIA À QUIMIOTERAPIA NO CÂNCER DE COLO UTERINO [recurso eletrônico] / Larissa Paula de Carvalho Ferreira. - 2025. Orientador: Laurence Rodrigues do Amaral. Coorientador: Fábio Ribeiro Queiroz . Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Uberlândia, Pós-graduação em Biotecnologia. Modo de acesso: Internet. Disponível em: http://doi.org/10.14393/ufu.di.2025.401 Inclui bibliografia. Inclui ilustrações. 1. Biotecnologia. I. Amaral, Laurence Rodrigues do, 1978-, (Orient.). II. , Fábio Ribeiro Queiroz, 1985-, (Coorient.). III. Universidade Federal de Uberlândia. Pós-graduação em Biotecnologia. IV. Título. CDU: 60
--------------	--

Bibliotecários responsáveis pela estrutura de acordo com o AACR2:
Gizele Cristine Nunes do Couto - CRB6/2091
Nelson Marcos Ferreira - CRB6/3074



UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA

Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia
Rua Vereador Chico Filgueira, 33, Bloco Alfa, Sala 319 - Bairro Caiçaras, Patos de Minas-
MG, CEP 38702-178
Telefone: (34) 3823-3714 - Ramal 226 - ppgbiotec@ibtec.ufu.br



ATA DE DEFESA - PÓS-GRADUAÇÃO

Programa de Pós-Graduação em:	Biotecnologia				
Defesa de:	Dissertação de Mestrado Acadêmico				
Data:	04/07/2025	Hora de início:	14:00	Hora de encerramento:	16:00
Matrícula do Discente:	42312BTC004				
Nome do Discente:	Larissa Paula de Carvalho Ferreira				
Título do Trabalho:	Reposicionamento de Fármacos por Docking Molecular direcionado às proteínas PNMA3 e RASSF2 associadas à resistência à Quimioterapia no câncer de colo de uterino				
Área de concentração:	Biociências				
Linha de pesquisa:	Bioinformática e Biologia Molecular aplicada à genômica, transcriptômica e proteômica				

Reuniu-se, por webconferência via Microsoft Teams, aplicativo padrão da Universidade Federal de Uberlândia, a Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia, composta pelos seguintes Professores Doutores: Nilson Nicolau Junior (IBTEC/UFU), Paulo Guilherme de Oliveira Salles (Instituto Mario Penna) e Laurence Rodrigues do Amaral (FACOM/UFU), presidente da banca.

Iniciando os trabalhos, o presidente da banca, Dr. Laurence Rodrigues do Amaral, apresentou a Comissão Examinadora e a candidata, agradeceu a presença dos membros. Em seguida, concedeu a palavra a discente para a exposição do seu trabalho. A duração da apresentação seguiu as normas do Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia.

A seguir o senhor(a) presidente concedeu a palavra, pela ordem sucessivamente, aos(às) examinadores(as), que passaram a arguir o(a) candidato(a). Ultimeada a arguição, que se desenvolveu dentro dos termos regimentais, a Banca, em sessão secreta, atribuiu o resultado final, considerando o(a) candidato(a):

Aprovado.

Esta defesa faz parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre.

O competente diploma será expedido após cumprimento dos demais requisitos, conforme as normas do Programa, a legislação pertinente e a regulamentação interna da UFU.

Nada mais havendo a tratar foram encerrados os trabalhos. Foi lavrada a presente ata que após lida e achada conforme foi assinada pela Banca Examinadora.



Documento assinado eletronicamente por **Laurence Rodrigues do Amaral, Professor(a) do Magistério Superior**, em 04/07/2025, às 16:01, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Nilson Nicolau Junior, Professor(a) do Magistério Superior**, em 04/07/2025, às 16:01, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art.

6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Paulo Guilherme de Oliveria Salles, Usuário Externo**, em 04/07/2025, às 16:05, 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 https://www.sei.ufu.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **6474792** e o código CRC **A8C620E4**.

Referência:

Processo

nº

23117.045114/2025-33

SEI nº 6474792

Agradeço à CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior), ao Ministério da Saúde do Brasil, por meio do Programa Nacional de Apoio à Atenção Oncológica – Pronon (NUP: 25000.159953/2014-18 e NUP: 25000.079266/2015-09), à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG; APQ-02255-22) e à Rede Mineira de Pesquisa Translacional em Oncologia (RED 00059-23) pelo apoio financeiro e pelas valiosas contribuições que viabilizaram a realização deste trabalho.

Dedicatória

Dedico este trabalho à minha mãe, Áurea, que é meu alicerce, abrigo e coragem em todos os caminhos que trilhei.

Por cada gesto de amor, cada noite mal dormida, cada renúncia silenciosa — meu mais profundo e eterno obrigada.

Você lutou com tudo o que tinha para que eu pudesse caminhar com dignidade e sonhar com liberdade.

Se hoje cheguei até aqui, foi porque você nunca me deixou cair.

À Larah, que me segurou quando eu quis desistir e me lembrou, com afeto e presença, quem eu sou.

À Bruna e ao Ângelo, que caminharam ao meu lado como companheiros e guias, dividindo o peso e os aprendizados dessa jornada.

Aos professores Laurence, Fábio e Claudilene que com paciência, respeito e generosidade, me mostraram o que é ensinar de verdade.

Para Gamora, Charlie, Sirius, Jinx, Remus e Draco.

A realização deste trabalho contou com o apoio e a colaboração de diversas pessoas e instituições, às quais registro meus agradecimentos.

Meu maior e mais valioso agradecimento, a minha mãe Áurea que é minha luz, inspiração, e o meu motivo.

Aos professores doutores Laurence, Fábio, Claudilene, Nilson Nicolau, pelo suporte acadêmico, orientação técnica e contribuições essenciais ao desenvolvimento deste estudo.

Aos meus sempre companheiros Larah, Bruna, Ângelo, Steffano, Sarah, José Júnior e Leonardo, pelo convívio enriquecedor, pelo apoio mútuo ao longo da formação e pelas valiosas trocas ao longo do percurso.

Aos colaboradores do Laboratório de Biotecnologia Aplicada à Medicina (LBAM) e do Instituto Mário Penna, pelo suporte técnico e científico prestado durante as etapas experimentais.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pelo apoio financeiro (Código de Financiamento 001), imprescindível para a execução desta pesquisa. A todos que, de alguma forma, contribuíram para a realização deste trabalho, fica registrado o mais sincero agradecimento.

Resumo

O câncer do colo do útero (CCU) representa uma das neoplasias mais letais entre mulheres, especialmente em países em desenvolvimento. Sua principal etiologia está associada à infecção persistente por genótipos oncogênicos do papilomavírus humano (HPV). Agravando esse cenário, a resistência à quimiorradioterapia em determinadas pacientes permanece um desafio clínico significativo. Estudos transcriptômicos prévios identificaram a superexpressão dos genes *RASSF2* e *PNMA3* em pacientes não responsivas ao tratamento, levantando a hipótese de que a proteína PNMA3 possa interferir negativamente na associação entre RASSF2 e as quinases MST1/MST2, elementos-chave da via apoptótica Hippo. Diante disso, o presente estudo teve como objetivo investigar, por meio de abordagens de bioinformática estrutural, se as proteínas PNMA3 e RASSF2 interagem entre si, e, em caso afirmativo, identificar o local dessa interação e avaliar seu impacto sobre a via Hippo. Também se explorou o reposicionamento racional de fármacos como estratégia para modular essa interação. Foram obtidos modelos tridimensionais das proteínas PNMA3 e RASSF2, e utilizada uma biblioteca de fármacos filtrada do banco ChEMBL. Análises de docking molecular (proteína-proteína e proteína-fármaco) e simulações de dinâmica molecular foram realizadas no software MOE, com análise posterior em R. Os resultados demonstraram uma interação estável entre PNMA3 e RASSF2, especialmente no domínio SARAH, sugerindo possível interferência negativa na sinalização pró-apoptótica. A triagem virtual revelou compostos com afinidade diferencial. Entre os candidatos avaliados, Nebivolol destacou-se por apresentar alta afinidade com PNMA3 ($S = -9,42$ kcal/mol) e baixa com RASSF2 ($S < -6,5$), configurando-se como principal composto com potencial para modular seletivamente essa interação patológica. Assim, o reposicionamento racional de fármacos demonstra-se uma abordagem promissora frente à refratariedade terapêutica observada no CCU.

Palavras-chave: Câncer de colo do útero; Refratariedade terapêutica; PNMA3; RASSF2; Via Hippo; Reposicionamento de fármacos.

Abstract

Cervical cancer (CC) remains one of the most lethal malignancies among women, particularly in low- and middle-income countries. Its primary etiology is associated with persistent infection by oncogenic human papillomavirus (HPV) genotypes. Worsening this scenario, chemoradiotherapy resistance in certain patients remains a significant clinical challenge. Previous transcriptomic studies identified the overexpression of RASSF2 and PNMA3 genes in non-responsive patients, raising the hypothesis that PNMA3 might disrupt the association between RASSF2 and MST1/MST2 kinases, which are critical components of the Hippo apoptotic pathway. This study aimed to investigate, through structural bioinformatics approaches, whether PNMA3 and RASSF2 interact, and if so, to identify the interaction site and assess its impact on Hippo pathway activation. Rational drug repositioning was also explored as a strategy to modulate or block this interaction. Three-dimensional models of PNMA3 and RASSF2 were obtained from public databases, and a drug library was generated through systematic filtering of the ChEMBL database. Protein–protein and protein–ligand docking analyses, followed by molecular dynamics simulations, were performed using the MOE software, with subsequent data processing in R. The results indicated that PNMA3 forms a strong and stable interaction with RASSF2 at the SARAH domain, potentially impairing apoptotic signaling. Virtual screening revealed compounds with differential selectivity. Among the candidates, Nebivolol stood out as the most promising, exhibiting high affinity for PNMA3 ($S = -9.42$ kcal/mol) and no significant interaction with RASSF2, supporting its potential to selectively disrupt this pathological interaction. In this context, rational drug repositioning emerges as a promising strategy to design alternative therapeutic approaches to overcome resistance in cervical cancer.

Keywords: cervical cancer; therapeutic resistance; PNMA3; RASSF2; Hippo pathway; drug repositioning.

Lista de ilustrações

Figura 1: Anatomia do sistema reprodutor feminino com destaque para as regiões do colo uterino (endocérvice e exocérvice).

Figura 2: Estrutura histológica do colo uterino, destacando a ectocérvice, a endocérvice e a junção escamo-colunar (JEC).

Figura 3: Representação esquemática das infecções causadas por cepas de HPV de baixo e alto risco oncogênico.

Figura 4: Etapas da infecção produtiva por HPV no epitélio cervical.

Figura 5: Patogênese do câncer de colo do útero.

Figura 6: Mecanismos moleculares de evasão da apoptose mediado pelas oncoproteínas E6 e E7 do HPV.

Figura 7: Taxa de incidência do câncer do colo do útero ajustada por idade (ASR), por 100 mil habitantes, em 2022.

Figura 8: Taxa de mortalidade por câncer do colo do útero ajustada por idade (ASR), por 100 mil habitantes, em 2022.

Figura 9: Taxas de incidência e mortalidade por câncer do colo do útero na América do Norte, Central e do Sul.

Figura 10: Representação espacial das taxas estimadas de incidência por neoplasia maligna do colo do útero no Brasil.

Figura 11: Evolução da infecção pelo HPV e progressão das neoplasias intraepiteliais cervicais até o carcinoma invasivo.

Figura 12: Secções de lesões precursoras do Carcinoma de Células Escamosas.

Figura 13: Mecanismos clássicos da ativação apoptótica (vias extrínseca e intrínseca).

Figura 14: Interconectividade entre vias apoptóticas (ligação entre BID e BAX).

Figura 15: O paradoxo da apoptose no câncer.

Figura 16: Arquitetura central da via Hippo.

Figura 17: Integração de sinais extracelulares pela via Hippo.

Figura 18: Implicações oncológicas da desregulação da via Hippo.

Figura 19: Rede de interação das proteínas da família PNMA com MOAP-1, receptores de morte e proteínas da via apoptótica.

Figura 20: Integração entre a via Hippo, a sinalização RANKL e fatores reguladores de transcrição celular com participação da proteína RASSF2.

Figura 21: Interações funcionais da proteína RASSF2 com quinases da via Hippo e outros

alvos celulares.

Figura 22: Heatmap da expressão diferencial de genes em pacientes com câncer do colo do útero segundo a resposta à quimiorradioterapia.

Figura 23: Etapas do processo de desenvolvimento de novos fármacos.

Figura 24: Comparativo entre o desenvolvimento tradicional e o reposicionamento de fármacos.

Lista de Figuras do Artigo

Figura 1. Binding affinity profile of RASSF2 across structural regions.

Figura 2. Structural characterization of the DUMMIE1 region in RASSF2.

Figura 3. Comparative binding affinity across structural regions of PNMA3.

Figura 4. Three-dimensional representation of the DUMMIE1 binding site in PNMA3.

Figura 5. Structural interaction between PNMA3 and RASSF2 with emphasis on the SARAH domain.

Figura 6. Comparative binding profiles of shared repositioning candidates targeting PNMA3 and RASSF2.

Figura 7. Binding profiles of exclusive repositioning candidates targeting PNMA3 or RASSF2.

Figura 8. Molecular interactions between Nebivolol and PNMA3.

Lista de tabelas

Tabela 1: Correlação das terminologias utilizadas para lesões escamosas intraepiteliais e invasoras do colo uterino.

Tabela 2: Características comparativas entre apoptose e necrose.

Tabela 3: Exemplos de fármacos reposicionados com sucesso para novas indicações terapêuticas.

Lista de Tabelas do artigo

Tabela 1: Intermolecular residue interactions between PNMA3 and RASSF2.

Lista de Siglas e Abreviaturas

Sigla

AIF: Apoptosis-Inducing Factor

AGUS : Atypical Glandular Cells of Undetermined Significance

APAF-1: Apoptotic Protease Activating Factor 1

ASC-H: Atypical Squamous Cells, Cannot Exclude HSIL

ASC-US : Atypical Squamous Cells of Undetermined Significance

ASR: Age-Standardized Rate

BAX/BAK: Proteínas pró-apoptóticas da família BCL-2

BCL-2: B-cell lymphoma 2

CCU: Câncer do colo do útero

CC: Cervical Cancer

CREB: cAMP Response Element-Binding protein

CTAs: Cancer/Testis Antigens

dATP: Deoxyadenosine Triphosphate

DEG: Differentially Expressed Gene

DISC: Death-Inducing Signaling Complex

DNA: Ácido desoxirribonucleico

DR4 / DR5: Death Receptors 4 e 5

EMT: Epithelial-to-Mesenchymal Transition

FADD: Fas-Associated Death Domain

FDA: Food and Drug Administration

GPCR: G-protein-coupled receptor

HSIL: High-grade Squamous Intraepithelial Lesion

HPV: Papilomavírus Humano

IKK: IκB kinase

INCA: Instituto Nacional de Câncer

ISTs: Infecções Sexualmente Transmissíveis

JEC: Junção escamo-colunar

LSIL: Low-grade Squamous Intraepithelial Lesion

MOE: Molecular Operating Environment

MST1/MST2: Mammalian Sterile 20-like kinase 1/2

NIC: Neoplasia Intraepithelial Cervical

NF-κB: Nuclear Factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells

P&D: Pesquisa e Desenvolvimento

PNMA3: Paraneoplastic Ma Antigen 3

RASSF2: Ras Association Domain Family Member 2

RNA-Seq: RNA Sequencing

SARAH: Salvador/RASSF/Hippo domain

TAZ: Transcriptional coactivator with PDZ-binding motif

TEAD: Transcriptional Enhanced Associate Domain

TNF: Tumor Necrosis Factor

TRAIL: TNF-related apoptosis-inducing ligand

WHO: World Health Organization

YAP: Yes-associated protein

SUMÁRIO

1.Introdução.....	16
2. Fundamentação teórica	18
2.1 Estrutura Histológica e Transformações Celulares do Colo Uterino.....	18
2.1.2 Patogênese do Papilomavírus Humano no câncer de colo uterino.....	20
2.1.3 Câncer de colo uterino.....	24
2.1.4 Mecanismos moleculares da resistência terapêutica no câncer do colo uterino.....	33
2.1.5 Hallmarks of Cancer: Apoptose- mecanismos e evasão.....	35
2.1.6 A via Hippo e sua função na regulação apoptótica.....	41
2.1.7 PNMA3 e seu papel na refratariedade ao tratamento no câncer do colo uterino.....	45
2.1.8 RASSF2 e a via Hippo na regulação da apoptose	48
2.1.9 Bases transcriptômicas para a seleção de PNMA3 e RASSF2 como candidatos terapêuticos em casos de resistência à quimiorradioterapia.....	51
2.2 Reposicionamento de fármacos na oncologia.....	53
2.2.1 Reposicionamento de fármacos in sílico.....	57
2.2.2 Abordagens Computacionais: Docking e Dinâmica Molecular.....	58
Artigo	60
4. conclusão.....	88
Referências.....	89

1. Introdução

O câncer do colo uterino (CCU) constitui uma das principais causas de mortalidade feminina por neoplasia no Brasil e globalmente, apresentando maior impacto em países de baixa e média renda, onde barreiras socioeconômicas dificultam o acesso a estratégias preventivas e ao diagnóstico precoce, perpetuando altas taxas de incidência e mortalidade (WHO, 2021; BRASIL, 2022).

A infecção persistente por genótipos oncogênicos do papilomavírus humano (HPV), especialmente os tipos 16 e 18, é o principal fator etiológico do CCU, atuando pela integração do DNA viral ao genoma do hospedeiro e induzindo alterações celulares progressivas que culminam na carcinogênese (DOORBAR et al., 2012).

Apesar dos avanços na vacinação e na triagem citológica, o prognóstico permanece desfavorável em casos diagnosticados em estágios avançados ou em pacientes que apresentam refratariedade ao tratamento (SANTOS et al., 2023). A abordagem padrão para o CCU localmente avançado combina quimioterapia baseada em platina com radioterapia; contudo, uma parcela expressiva das pacientes desenvolve resistência ao tratamento, evidenciada por recidiva precoce ou progressão tumoral ao longo da intervenção terapêutica (ZHANG et al., 2022).

Os mecanismos moleculares subjacentes a essa refratariedade são multifatoriais, englobando alterações epigenéticas, bloqueio das vias apoptóticas e modificações do microambiente tumoral. Destaca-se a evasão à apoptose como fator crítico na resistência terapêutica, o que torna fundamental a identificação de biomarcadores e alvos moleculares capazes de explicar e, eventualmente, reverter esse quadro.

Avanços em sequenciamento de nova geração e análise transcriptômica têm possibilitado a identificação de assinaturas gênicas associadas à resposta terapêutica. Estudos transcriptômicos prévios conduzidos pelo grupo revelaram que os genes RASSF2 e PNMA3 encontram-se concomitantemente superexpressos (upregulated) em pacientes não respondedoras à quimiorradioterapia (MELO NETO, 2022), sugerindo um possível envolvimento conjunto desses genes na resistência terapêutica observada.

RASSF2 é um supressor tumoral conhecido, envolvido na via Hippo, em que promove a ativação das quinases MST1 e MST2 por meio do domínio SARAH, favorecendo a sinalização pró-apoptótica (HARVEY; HARIHARAN, 2012). Embora amplamente estudado em outras neoplasias, seu papel no CCU permanece pouco explorado, especialmente em termos de modulação terapêutica.

Em contraste, a superexpressão de PNMA3 no CCU constitui um achado atípico e biologicamente intrigante. Tradicionalmente, PNMA3 é descrita como um antígeno paraneoplásico com expressão restrita ao sistema nervoso central, associado a respostas autoimunes em síndromes neurológicas paraneoplásicas e possivelmente a tumores neuroectodérmicos (Schüller; Jenne; Voltz, 2005; Wills et al., 2006).

A presença aberrante dessa proteína no tecido do colo do útero das amostras analisadas sugere uma desregulação transcricional relevante e possível aquisição de funções oncogênicas ainda pouco compreendidas. Com base nesses achados, este estudo propõe investigar se PNMA3 interage fisicamente com RASSF2, bloqueando sua associação com MST1/MST2 e inibindo a via Hippo, o que poderia contribuir para a resistência terapêutica observada. Nesse cenário, o reposicionamento de fármacos emerge como uma abordagem promissora para acelerar a descoberta de terapias eficazes contra o CCU refratário, utilizando compostos já aprovados e com perfil de segurança conhecido, o que reduz custos e tempo de desenvolvimento (ASHBURN; THOR, 2004; PUSHPAKOM et al., 2019).

A combinação de modelagem molecular, triagem virtual e simulações computacionais permite a avaliação detalhada das interações proteína-ligante e proteína-proteína, mesmo sem estruturas cristalográficas disponíveis das proteínas em questão, potencializando a identificação de compostos candidatos a intervenção terapêutica.

Este estudo propõe um pipeline integrado de bioinformática estrutural para investigar, inicialmente, se a superexpressão de PNMA3 em pacientes não respondedoras está efetivamente impedindo a interação entre RASSF2 e as quinases MST1/MST2, resultando na inativação da via Hippo e contribuindo para a evasão da apoptose.

A partir dessa hipótese mecanística, busca-se, em um segundo momento, identificar fármacos reposicionados com afinidade seletiva por PNMA3, capazes de interferir nessa interação, restaurando a associação funcional entre RASSF2 e MST1/MST2 e reativando a sinalização pró-apoptótica. Foram utilizados transcriptomas de pacientes não respondedoras provenientes de banco de dados clínicos interno do Instituto Mário Penna.

As sequências proteicas de interesse foram obtidas a partir do banco UniProt, enquanto os dados dos compostos foram extraídos do banco ChEMBL. Com base nessas informações, as estruturas tridimensionais das proteínas foram modeladas no ambiente computacional do software Molecular Operating Environment (MOE), utilizando também sequências derivadas das amostras clínicas. A partir dessas estruturas, foram

conduzidas análises estruturais abrangentes, incluindo acoplamento molecular (docking) entre proteínas e entre proteínas e ligantes, além de simulações de dinâmica molecular. Os resultados gerados foram posteriormente analisados comparativamente na linguagem R, a fim de identificar compostos candidatos com maior seletividade e afinidade diferencial, visando à modulação de mecanismos relacionados à quimiorresistência no câncer do colo do útero.

2. Fundamentação teórica

2.1 Estrutura Histológica e Transformações Celulares do Colo Uterino

O colo uterino corresponde à porção fibromuscular inferior do útero, responsável por estabelecer a comunicação entre a cavidade uterina e a vagina. Essa estrutura é funcionalmente complexa, atuando simultaneamente como uma via de acesso para o sêmen durante a reprodução e como uma barreira imunológica contra agentes externos (Nayar e Wilbur, 2015).

Kurman et al. (2019) destacam que, anatomicamente, o colo mede entre 3 a 4 cm de comprimento e cerca de 2,5 cm de diâmetro, sendo dividido em duas regiões histologicamente distintas: a ectocérvice, voltada para a vagina, e a endocérvice, situada internamente no canal cervical (Figura 1).

A ectocérvice é revestida por epitélio escamoso estratificado não queratinizado, organizado em camadas bem definidas — basal, parabasal, intermediária e superficial —, que conferem resistência mecânica e proteção contra agressões externas (Nayar e Wilbur, 2015). Esse epitélio é adaptado ao ambiente vaginal, caracterizado por pH ácido e rica microbiota, atuando como uma barreira física e imunológica altamente eficaz.

Por sua vez, a endocérvice é recoberta por epitélio colunar simples, formado por células mucosas especializadas na secreção do muco cervical. A composição e a viscosidade desse muco variam ao longo do ciclo menstrual, desempenhando funções protetoras, como dificultar a ascensão de patógenos, e funções reprodutivas, como facilitar o transporte dos espermatozoides durante a ovulação (Kurman et al., 2019).

Figura 1. Anatomia do sistema reprodutor feminino com destaque para as regiões do colo uterino (endocérvice e exocérvice).



Fonte: Adaptado de American Cancer Society (2020).

A transição entre esses dois tipos epiteliais ocorre em uma região denominada junção escamo-colunar (JEC), também conhecida como zona de transformação (Reich et al., 2017) (Figura 2). Essa área apresenta elevada plasticidade celular e sofre alterações fisiológicas ao longo da vida reprodutiva, sobretudo sob a influência dos hormônios sexuais.

Figura 2. Estrutura histológica do colo uterino, destacando a ectocérvice (epitélio escamoso), a endocérvice (epitélio colunar simples) e a junção escamo-colunar (JEC).



Fonte: Adaptado de MD Saúde (2024).

Conforme descrito por Herfs et al. (2012), após a menarca, o aumento dos níveis de estrogênio estimula a eversão da mucosa endocervical, expondo o epitélio colunar ao ambiente ácido da vagina. Essa exposição induz um processo adaptativo denominado metaplasia escamosa, no qual células indiferenciadas da JEC diferenciam-se em epitélio escamoso, mais resistente às condições locais.

Segundo Doorbar et al. (2012), embora esse processo seja fisiológico, a região metaplásica resultante apresenta alta taxa proliferativa, o que a torna um ponto crítico para a infecção persistente pelo papilomavírus humano (HPV) e para o surgimento de alterações precursoras do câncer do colo uterino (CCU). Dessa forma, compreender as características biológicas do HPV torna-se essencial para entender os mecanismos que levam à transformação maligna do epitélio cervical.

2.1.2 Patogênese do Papilomavírus Humano no câncer de colo uterino

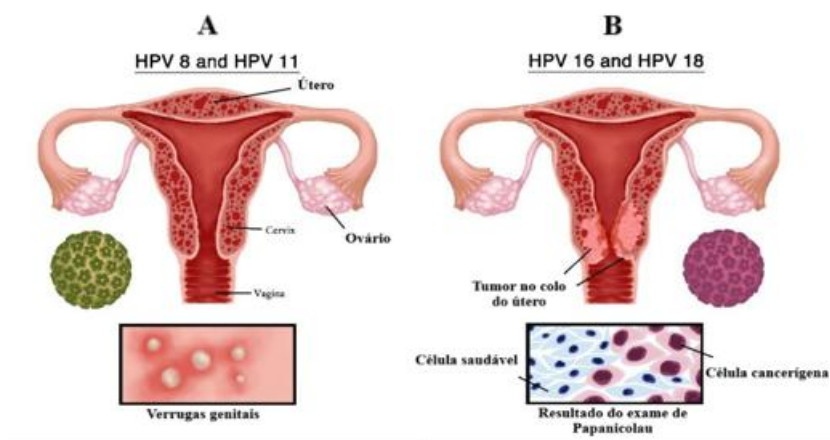
O Papilomavírus Humano (HPV) é um vírus de DNA de fita dupla, não envelopado, pertencente à família *Papillomaviridae*. A infecção por HPV constitui a infecção sexualmente transmissível mais prevalente no mundo, afetando homens e mulheres em idade reprodutiva, independentemente de classe social ou região geográfica (Bruni et al., 2021).

Estima-se que cerca de 80% das mulheres adquirirão HPV em algum momento da vida, sendo que a maioria das infecções ocorrem nos primeiros anos após o início da vida sexual (Sasagawa; Takagi; Makinoda, 2012).

Mais de 200 genótipos de HPV já foram identificados e classificados com base em seu potencial oncogênico. Os tipos de baixo risco, como o HPV-6 e o HPV-11, estão geralmente associados a lesões benignas, como verrugas genitais (Figura 3A).

Em contrapartida, os tipos de alto risco oncogênico (HR-HPV), especialmente o HPV-16 e o HPV-18, são fortemente implicados na gênese de diversos tumores anogenitais e orofaríngeos, incluindo o câncer do colo do útero, do ânus, da vulva, da vagina, do pênis e da orofaringe (de Sanjosé et al., 2018) (Figura 3B).

Figura 3. Representação esquemática das infecções causadas por cepas de HPV de baixo risco (HPV-8 e HPV-11) e alto risco oncogênico (HPV-16 e HPV-18) no trato genital feminino.



(A) Infecção por cepas de HPV de baixo risco (HPV-8 e HPV-11), associadas a verrugas genitais. (B) Infecção por cepas de HPV de alto risco oncogênico (HPV-16 e HPV-18), associadas ao câncer do colo do útero. Fonte: Adaptado de de Sanjosé *et al.* (2010).

Apesar dos avanços em programas de rastreamento e vacinação, o CCU ainda representa uma das principais causas de morte por câncer em mulheres, com mais de 300.000 óbitos anuais em todo o mundo. As infecções persistentes pelos genótipos de alto risco do HPV, especialmente o HPV-16 e o HPV-18, são responsáveis pela maioria dos casos de câncer cervical. A integração do genoma viral ao DNA da célula hospedeira é considerada um evento-chave no processo de transformação oncogênica, contribuindo para a instabilidade genômica e para a progressão tumoral (Molina et al., 2024).

Apesar da alta prevalência, a maioria das infecções são assintomáticas, autolimitadas e eliminadas espontaneamente pelo sistema imunológico em um período de até dois anos. Apenas cerca de 10% das mulheres desenvolvem infecções persistentes, sendo que aproximadamente metade desses casos envolvem tipos de alto risco, com potencial de transformação maligna após anos de persistência (Zandberg et al., 2012).

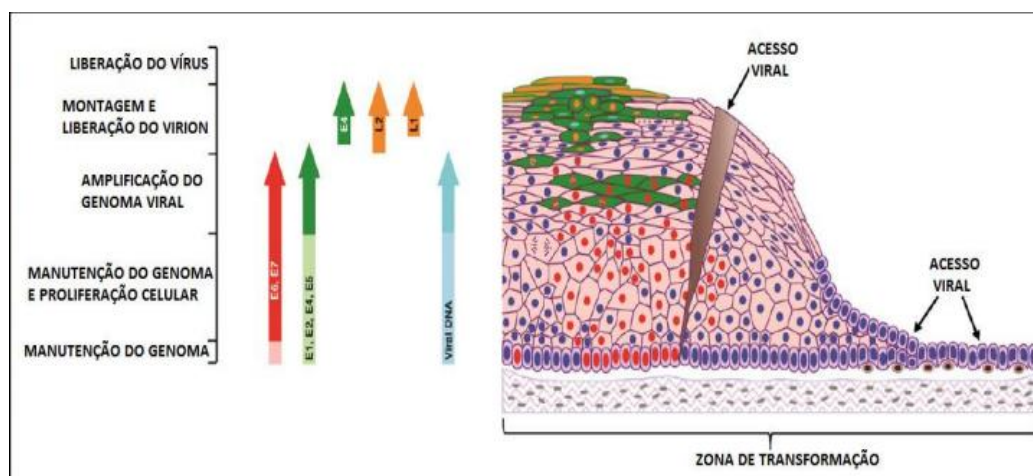
A infecção persistente é caracterizada pela detecção contínua do mesmo subtipo viral ao longo de pelo menos 6 a 12 meses, podendo se estender por décadas em alguns indivíduos imunocomprometidos (Rosa et al., 2009). Essa plasticidade celular, aliada à exposição do epitélio colunar ao ambiente ácido vaginal, torna essa região particularmente vulnerável à infecção persistente pelo HPV e ao desenvolvimento de lesões precursoras do câncer do colo uterino (Doorbar et al., 2012).

Após a entrada viral, o HPV pode seguir dois caminhos distintos: (i) infecção produtiva, caracterizada pela replicação viral em células epiteliais em diferenciação, com manutenção do genoma viral na forma episomal; ou (ii) infecção transformante, na qual o DNA viral é integrado ao genoma da célula hospedeira, promovendo instabilidade genômica e favorecendo a transformação maligna (Snijders et al., 2005). No epitélio escamoso da ectocérvice, ambos os tipos de infecção podem ocorrer, ao passo que o epitélio colunar da endocérvice, por não permitir replicação produtiva, é mais suscetível a infecções transformantes, sobretudo durante a metaplasia escamosa (Figura 4).

Durante a infecção produtiva, o DNA viral se distribui entre células-filhas: uma linhagem segue para as camadas mais superficiais do epitélio, onde ocorre a expressão dos genes virais tardios (L1 e L2), responsáveis pela formação dos capsídeos virais; a outra permanece na camada basal, funcionando como reservatório do genoma viral (Stüberauch; Laimins, 1999).

A ativação dos promotores precoces leva à expressão das oncoproteínas E6 e E7, que desempenham papéis cruciais na desregulação do ciclo celular. Essas proteínas promovem a degradação das proteínas supressoras tumorais p53 e pRb, bloqueando os mecanismos naturais de apoptose e checkpoint do ciclo celular, o que favorece a imortalização das células infectadas (Moody e Laimins, 2010).

Figura 4. Etapas da infecção produtiva por HPV no epitélio cervical. Representação esquemática da progressão da infecção produtiva por HPV, com entrada do vírus pela zona de transformação (junção escamo-colunar).



As setas indicam a expressão espacial e funcional dos genes virais ao longo do epitélio: E6 e E7 promovem a imortalização e proliferação celular; E1, E2, E4 e E5 participam da amplificação genômica; L1 e L2 são expressas nas camadas superficiais para montagem e liberação dos vírions. A organização do epitélio e a diferenciação celular determinam o ciclo viral. Fonte: Adaptado de Doobar *et al.* (2012).

Esse processo culmina na formação de partículas virais completas nas camadas superiores do epitélio, sendo eliminadas junto com as células descamadas. As células infectadas com intensa atividade replicativa podem apresentar alterações morfológicas características, como a coilocitose — halo perinuclear claro visível na citologia oncológica (Solomon; Nayar, 2005).

A coilocitose é considerada um marcador citopatológico clássico da infecção pelo HPV, caracterizada pela presença de células epiteliais escamosas com núcleo hiper cromático irregular e um halo perinuclear claro (Solomon e Nayar, 2005). Essa alteração morfológica é resultado direto da expressão das oncoproteínas virais E5 e E6, que interferem na estrutura do citoesqueleto e na adesão celular, além de promoverem alterações na regulação do ciclo celular (Doorbar *et al.*, 2012).

Sua identificação por citologia é amplamente utilizada na triagem para lesões intraepiteliais, sendo reconhecida como uma das primeiras evidências morfológicas de infecção produtiva pelo HPV no epitélio cervical. A presença de coilócitos, especialmente em contextos de lesões de baixo grau, é um critério diagnóstico essencial em exames de Papanicolau, servindo como alerta para o monitoramento clínico e, em alguns casos, para investigação histológica mais aprofundada (Solomon *et al.*, 2002; WHO, 2021).

Embora a infecção pelo HPV seja comum e, na maioria das vezes, resolvida espontaneamente, a persistência dos tipos de alto risco representa um fator determinante para a progressão para lesões intraepiteliais de alto grau e, eventualmente, carcinoma invasivo.

A vacinação profilática contra os genótipos mais oncogênicos do HPV tem se mostrado altamente eficaz na redução da incidência de lesões cervicais e câncer em populações imunizadas, sobretudo quando administrada antes do início da vida sexual (Drolet et al., 2015). Contudo, as desigualdades no acesso à vacinação e à triagem citológica persistem, especialmente em países de baixa e média renda, onde o câncer do colo uterino permanece como uma das principais causas de morte por câncer entre mulheres em idade reprodutiva (Bruni et al., 2016).

2.1.3 Câncer de colo uterino

O câncer do colo do útero (CCU) é uma neoplasia maligna que se origina a partir do epitélio de revestimento da porção inferior do útero, mais especificamente na zona de transformação entre a ectocérvice e a endocérvice. Essa região apresenta alta atividade mitótica e é especialmente vulnerável à infecção persistente pelo papilomavírus humano (HPV), particularmente os genótipos oncogênicos HPV-16 e HPV-18, responsáveis por cerca de 70% dos casos (Doorbar et al., 2012; Bruni et al., 2016).

Diversos fatores estão associados ao risco de desenvolvimento do câncer do colo do útero, sendo a infecção persistente pelo HPV de alto risco o principal. No entanto, esse risco pode ser potencializado por variáveis comportamentais, ambientais e biológicas, como o início precoce da vida sexual, número elevado de parceiros, ausência de preservativo, uso prolongado de contraceptivos orais, tabagismo, imunossupressão, coinfeção com outras infecções sexualmente transmissíveis (ISTs), histórico obstétrico com múltiplas gestações e baixa adesão ao rastreamento preventivo (Muñoz et al., 2002; WHO, 2022; INCA, 2023).

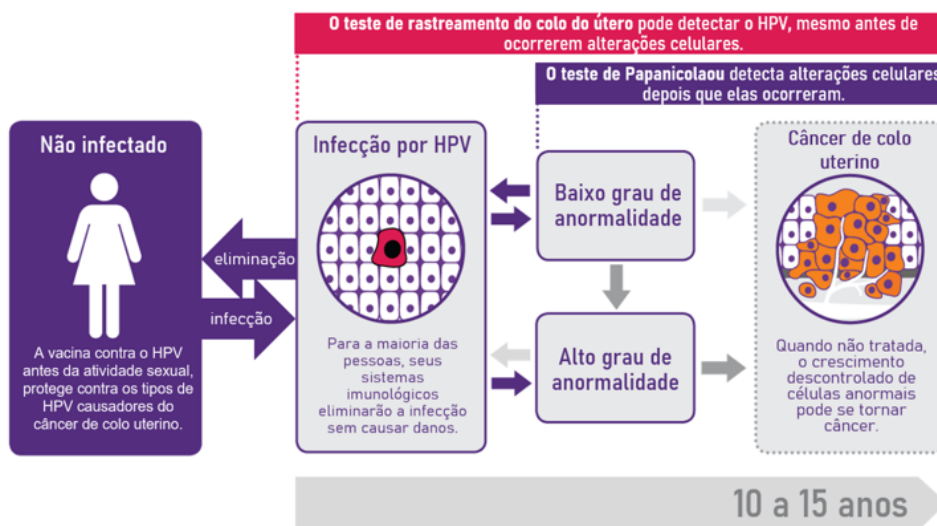
A transmissão sexual do HPV é reconhecida como a principal via de infecção, sendo o comportamento sexual um determinante importante na exposição ao vírus. Em 1842, o médico italiano Rigoni-Stern observou menor incidência de câncer do colo do útero entre freiras em comparação a mulheres casadas, sendo este um dos primeiros indícios epidemiológicos a relacionar diretamente a atividade sexual à etiologia da doença (Rigoni-Stern, 1842). Décadas depois, a etiologia viral foi comprovada por evidências

moleculares, e o papel do HPV como agente causal foi reconhecido oficialmente com a concessão do Prêmio Nobel de Medicina a Harald zur Hausen, em 2008 (Zur Hausen, 2009; Nobel Prize, 2008).

O desenvolvimento do CCU é um processo multifásico e geralmente lento, podendo levar anos. Ele se inicia com alterações citológicas discretas que evoluem progressivamente para lesões intraepiteliais de baixo e alto grau e, na ausência de tratamento, culminam em carcinoma invasivo (Schiffman et al., 2007). Essa progressão está associada a múltiplos fatores, incluindo a persistência da infecção viral, o estado imunológico da paciente, alterações epigenéticas e falhas nos mecanismos de reparo do DNA (Moody e Laimins, 2010).

Em sua forma invasiva, o CCU pode infiltrar tecidos adjacentes, invadir vasos linfáticos e sanguíneos e gerar metástases, especialmente para linfonodos pélvicos e, em estágios mais avançados, para órgãos distantes (INCA, 2024) (Figura 5). No entanto, justamente por sua etiologia viral bem estabelecida e por seu caráter evolutivo gradual, é considerado uma neoplasia com alto potencial de prevenção secundária, desde que haja detecção precoce das lesões precursoras (WHO, 2022).

Figura 5. Patogênese do câncer de colo uterino



Tomar a vacina contra o HPV antes do início da atividade sexual pode proteger contra os principais tipos de HPV relacionados ao CCU. Embora o vírus desapareça naturalmente na maioria das pessoas em 1 ou 2 anos, a infecção persistente pode evoluir para o câncer em um período de 10 a 15 anos. O rastreamento cervical permite a detecção precoce do HPV. Enquanto o teste de Papanicolaou encontra possíveis alterações celulares. Fonte: Traduzido e adaptado de Cancer Institute NSW (2017).

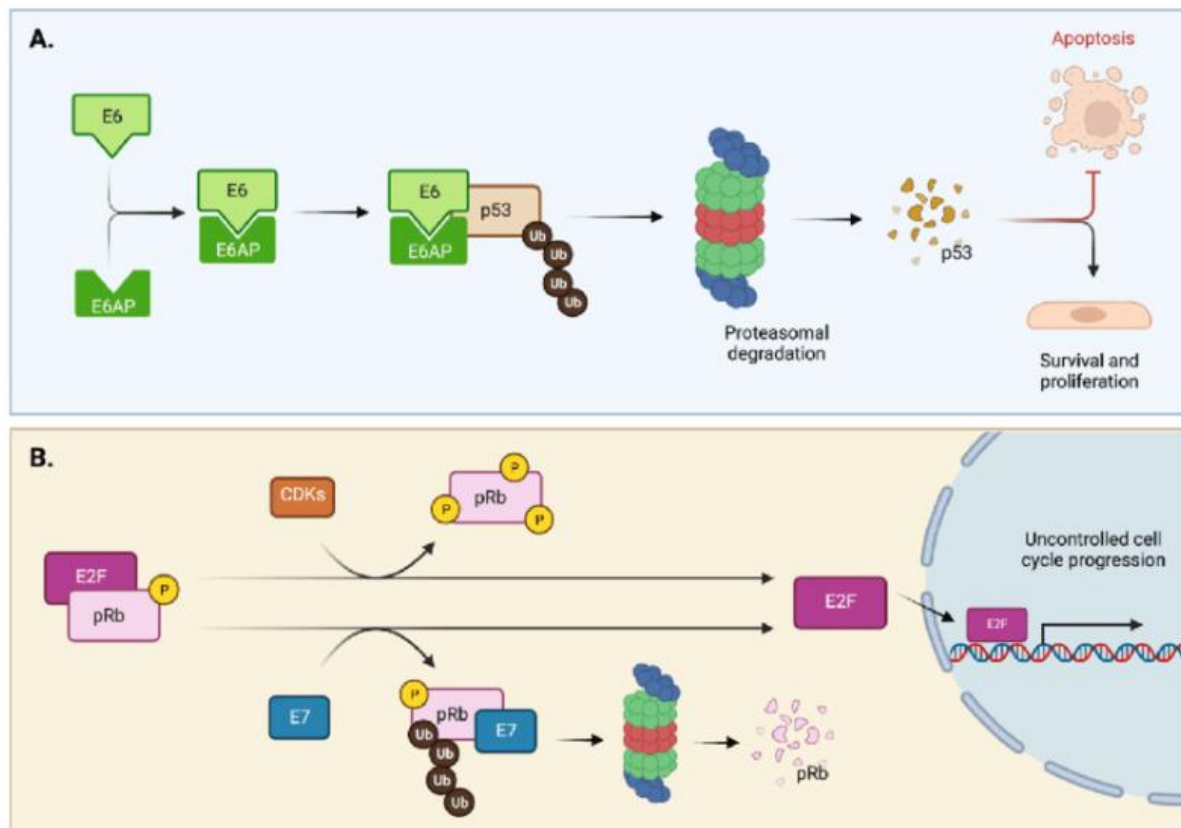
Estima-se que aproximadamente 99,7% dos casos de CCU estejam relacionados à infecção por HPV (WHO, 2023). Ainda que a infecção seja altamente prevalente na população sexualmente ativa, a progressão para carcinoma invasivo ocorre apenas em uma pequena fração das mulheres expostas, o que depende de fatores imunológicos, genéticos e ambientais que favorecem a persistência viral e a transformação neoplásica.

As oncoproteínas virais E6 e E7 desempenham papel central nesse processo: elas promovem a degradação das proteínas supressoras tumorais p53 e pRb, inibem a expressão do complexo de histocompatibilidade MHC classe I e desregulam o controle do ciclo celular, criando um ambiente propício à instabilidade genômica e à imortalização celular (Doorbar et al., 2012; Moody e Laimins, 2010).

A oncoproteína viral E6 se associa à proteína ligase E3 ubiquitina-dependente E6AP, formando um complexo que reconhece e se liga à p53, induzindo sua ubiquitinação e subsequente degradação proteassomal. A perda de p53 impede a ativação das vias de parada do ciclo celular e apoptose em resposta a danos genéticos, favorecendo a sobrevivência celular mesmo sob condições oncogênicas (Scheffner et al., 1990).

Por outro lado, a E7 se liga diretamente à proteína do retinoblastoma (pRb), facilitando sua ubiquitinação e degradação via proteassoma. A ausência de pRb libera o fator de transcrição E2F, que passa a ativar indiscriminadamente genes envolvidos na progressão do ciclo celular, contribuindo para a proliferação celular descontrolada (Münger et al., 2004). Além disso, a fosforilação de pRb por complexos CDK/ciclina pode cooperar com a ação de E7 ao inativar funcionalmente essa proteína. Esses mecanismos sinérgicos de inativação de p53 e pRb constituem um eixo central de transformação maligna nas células infectadas pelo HPV oncogênico (Figura 6).

Figura 6. Mecanismos moleculares de evasão da apoptose mediado pelas oncoproteínas E6 e E7 do HPV.



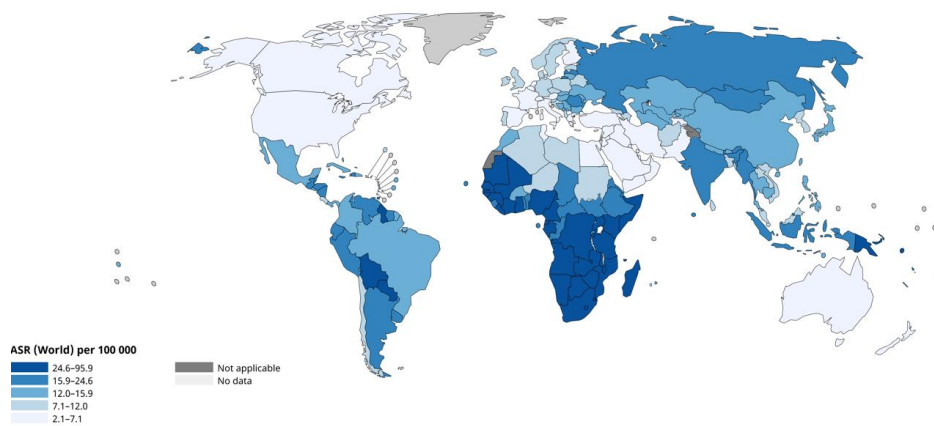
(A) A oncoproteína E6 promove a degradação da proteína supressora tumoral p53 por meio da formação de um complexo ternário com a proteína associada à E6 (E6AP), que atua como uma ligase E3 de ubiquitina. Esse complexo leva à ubiquitinação de p53, direcionando-a para degradação proteossomal, o que impede a apoptose celular e favorece a sobrevivência e proliferação celular. (B) A oncoproteína E7 se liga à proteína do retinoblastoma (pRb), promovendo sua ubiquitinação e posterior degradação pelo proteassoma. A perda de pRb libera o fator de transcrição E2F, cuja ativação desregulada contribui para a progressão descontrolada do ciclo celular. A fosforilação de pRb por complexos CDK/ciclina também favorece a liberação de E2F, intensificando o efeito oncogênico. Esses eventos contribuem para a evasão da apoptose e a proliferação celular desregulada observada no câncer de colo uterino. Fonte: Moody e Laimins (2010).

Compreender essas alterações moleculares é essencial para interpretar a alta mortalidade associada ao câncer de colo uterino (CCU) em contextos de desigualdade. A transformação celular causada pelo HPV não é um evento isolado, mas um processo silencioso que pode levar anos até ser detectado clinicamente e, quando isso ocorre, muitas vezes o tumor já se encontra em estágio avançado.

Em 2022, foram registrados cerca de 660 mil novos casos de CCU e mais de 350 mil mortes em todo o mundo (Figura 7). Aproximadamente 94% desses óbitos ocorreram em países de baixa e média renda, onde o acesso à vacinação contra o HPV, exames preventivos e tratamento adequado é limitado (WHO, 2023) (Figura 8). Essa combinação de fatores biológicos e estruturais explicam por que o CCU permanece uma das principais causas de morte por câncer entre mulheres em regiões vulneráveis.

Figura 7. Taxa de incidência do câncer do colo do útero ajustada por idade (ASR), por 100 mil habitantes, em ambos os sexos, no mundo, em 2022.

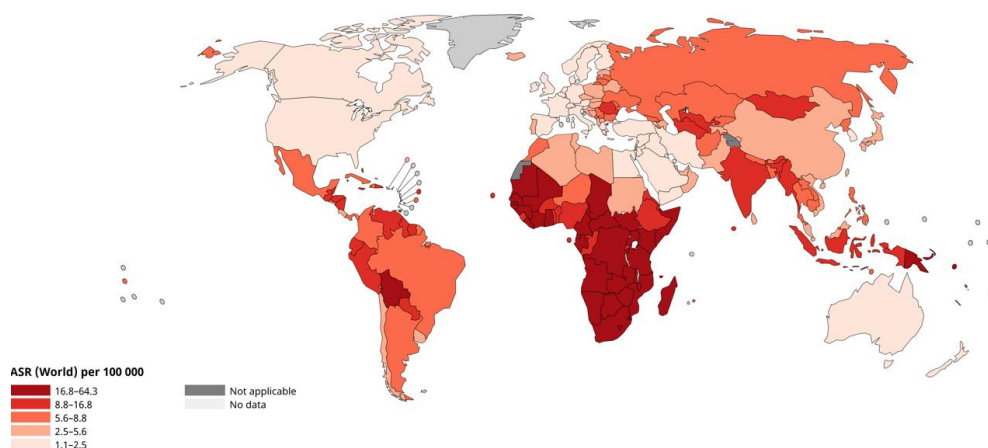
Age-Standardized Rate (World) per 100 000, Incidence, Both sexes, in 2022
Cervix uteri



Distribuição geográfica da incidência global do câncer do colo do útero, evidenciando taxas mais elevadas em países da África Subsaariana, América Central e América do Sul. Os dados foram padronizados por idade segundo a população mundial (ASR – Age-Standardized Rate). Observa-se que regiões com menor cobertura de rastreamento e vacinação apresentam maiores taxas de incidência. Fonte: *International Agency for Research on Cancer – IARC* (2024).

Figura 8. Taxa de mortalidade por câncer do colo do útero ajustada por idade (ASR), por 100 mil habitantes, em 2022.

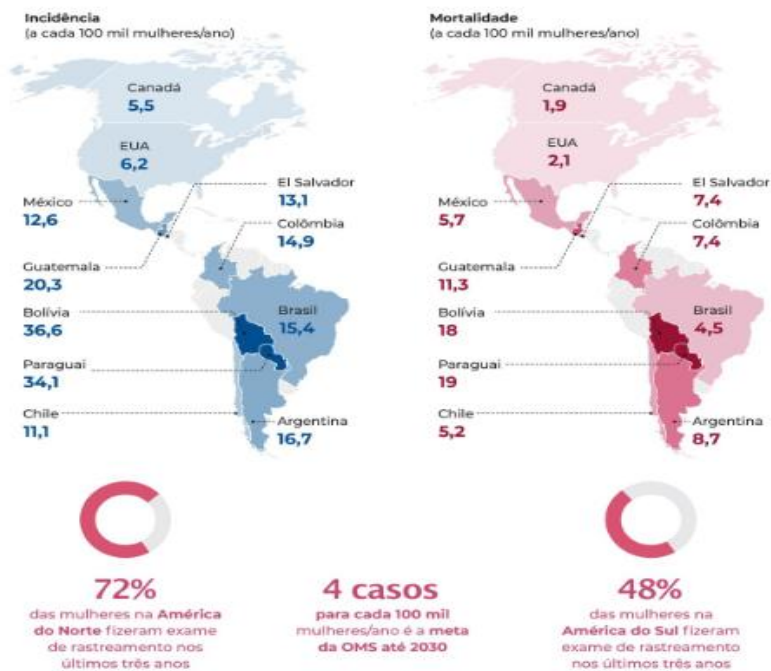
Age-Standardized Rate (World) per 100 000, Mortality, Both sexes, in 2022
Cervix uteri



O mapa ilustra a distribuição global da mortalidade por câncer do colo do útero, evidenciando que países da África Subsaariana e da América Latina apresentam as maiores taxas ajustadas por idade. Os dados reforçam a desigualdade no acesso à triagem, diagnóstico precoce e tratamento adequado, refletindo o impacto desigual da doença em contextos de baixa e média renda. Fonte: *International Agency for Research on Cancer – IARC* (2024).

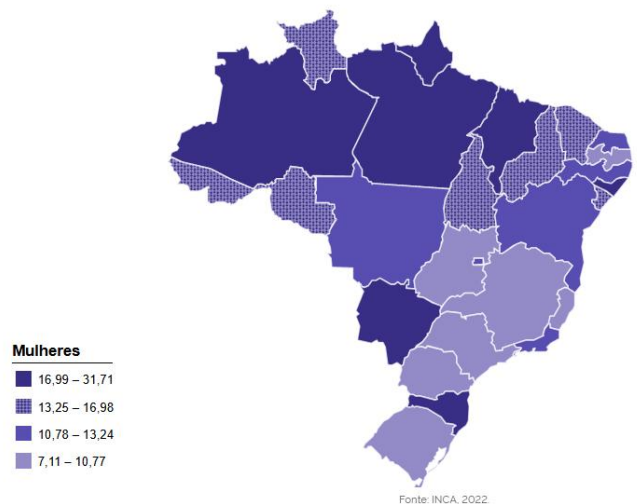
No Brasil, o Instituto Nacional de Câncer (INCA, 2023) estima a ocorrência de 17.010 novos casos por ano no triênio 2023–2025. As taxas de incidência são particularmente elevadas nas regiões Norte e Nordeste. Em 2021, a taxa nacional de mortalidade ajustada foi de 4,51 por 100 mil mulheres, atingindo 9,07 por 100 mil na Região Norte, onde o CCU permanece como a principal causa de morte por câncer em mulheres em idade reprodutiva (Figura 9).

Figura 9. Taxas de incidência e mortalidade por câncer do colo do útero na América do Norte, Central e do Sul (por 100 mil mulheres/ano).



Nota-se que os países da América Latina apresentam taxas significativamente mais elevadas, destacando-se Bolívia, Paraguai e Brasil. O gráfico também ilustra a proporção de mulheres que realizaram rastreamento de CCU nos últimos três anos, evidenciando uma discrepância importante entre as Américas do Norte (72%) e do Sul (48%), e o objetivo da OMS de reduzir a taxa global de mortalidade para menos de 4 casos por 100 mil mulheres até 2030 (Figura 10). Fonte: INCA (2022)

Figura 10. Representação espacial das taxas estimadas de incidência por neoplasia maligna do colo do útero, ajustadas por idade segundo a população mundial padrão, por 100 mil mulheres, para cada ano do triênio 2023–2025, segundo Unidade da Federação.



Fonte: INCA (2022).

A doença tende a se desenvolver de forma lenta e silenciosa ao longo de vários anos, acometendo preferencialmente mulheres entre 25 e 64 anos. Esse processo de carcinogênese ocorre por meio de alterações morfológicas progressivas no epitélio da zona de transformação do colo uterino, especialmente quando a infecção pelo HPV de alto risco é persistente. As alterações precursoras são classificadas histologicamente como neoplasias intraepiteliais cervicais (NIC), subdivididas em três graus: NIC I (displasia leve), restrita ao terço basal do epitélio e geralmente regressiva; NIC II (displasia moderada), atingindo até dois terços da espessura epitelial; e NIC III (displasia grave ou carcinoma in situ), que acomete praticamente toda a espessura epitelial sem invasão estromal (INCA, 2024) (Figura 11). Cortes histológicos demonstrando as diferenças teciduais podem ser observados na figura 12.

Figura 11. Evolução da infecção pelo HPV.

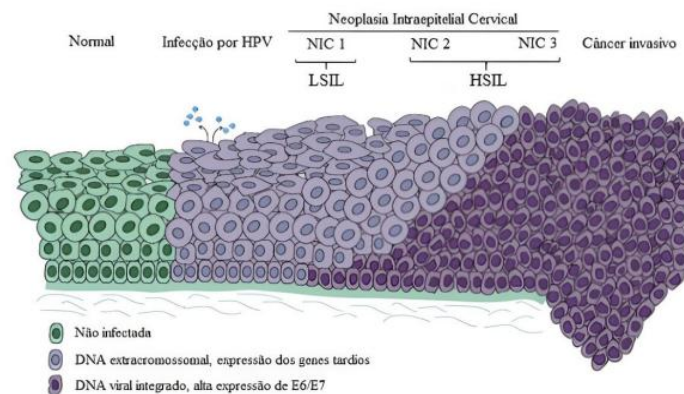
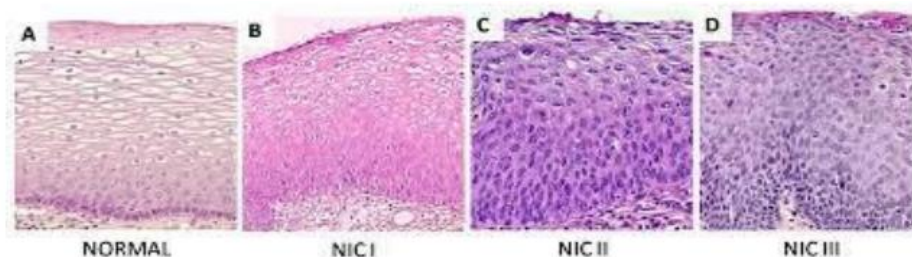


Ilustração da progressão morfológica das neoplasias intraepiteliais cervicais até o carcinoma invasivo, conforme graus de displasia e expressão de marcadores virais. Fonte: Rocha (2018).

Figura 12. Secções de lesões precursoras do Carcinoma de Células Escamosas.



(A)Epitélio escamoso normal com única camada basal e camadas intermediária e superficial ricas em glicogênio. (B) NIC I com desorganização no terço basal e presença de coilócitos. (C)NIC II com desorganização em dois terços do epitélio e sinais de malignidade. (D) NIC III com atípias nucleares e mitoses anômalas em toda a espessura epitelial. Fonte: <http://screening.iarc.fr>

Além da classificação histológica, o Sistema Bethesda é amplamente utilizado na avaliação citopatológica de exames Papanicolau, categorizando as lesões escamosas como LSIL (Low-grade Squamous Intraepithelial Lesion), correspondente à NIC I; e HSIL (High-grade Squamous Intraepithelial Lesion), correspondente às NIC II e III. Outras categorias, como ASC-US (células escamosas atípicas de significado indeterminado) e ASC-H (atípias com suspeita de lesão de alto grau), também são utilizadas na prática clínica (Schiffman et al., 2007) (Tabela 1).

Tabela 1. Correlação das terminologias utilizadas para lesões escamosas intraepiteliais e invasoras do colo uterino.

Terminologia da displasia	Terminologia original da NIC	Terminologia modificada da NIC	Terminologia do sistema Bethesda (SIL) (1991)
Normal	Normal	Normal	Dentro de limites de normalidade Alterações celulares benignas (infecção ou reparação) ASCUS/AGUS
Atipia	Atipia coilocítica, condiloma plano, sem alterações epiteliais	NIC de baixo grau	LSIL
Displasia leve ou discariose leve	NIC 1	NIC de baixo grau	LSIL
Displasia moderada ou discariose moderada	NIC 2	NIC de alto grau	HSIL
Displasia grave ou discariose grave	NIC 3	NIC de alto grau	HSIL
Carcinoma <i>in situ</i>	NIC 3	NIC de alto grau	HSIL
Carcinoma invasivo	Carcinoma invasivo	Carcinoma invasivo	Carcinoma invasivo

NIC – Neoplasia intraepitelial cervical
 LSIL – Low-grade Squamous Intraepithelial Lesions
 HSIL – High-grade Squamous Intraepithelial Lesions
 ASC-US – Atypical Squamous Cells of Undetermined Significance
 AGUS – Atypical Glandular Cells of Undetermined Significance
 Fonte: IARC (2024)

Embora a maioria das infecções pelo HPV sejam eliminadas pelo sistema imunológico em até dois anos, cerca de 10% evoluem para infecções persistentes, com maior risco de progressão para lesões de alto grau. Diante disso, a detecção precoce dessas alterações representa uma estratégia crucial para interromper a transformação maligna. O rastreamento citológico por meio do exame Papanicolau, especialmente quando combinado à testagem molecular para HPV, continua sendo uma das ferramentas mais eficazes de prevenção secundária (INCA, 2024).

Apesar das estratégias preventivas consolidadas, uma fração das pacientes ainda evoluem para formas avançadas da doença e não respondem adequadamente à quimiorradioterapia (WHO, 2022; Junzo Chino et al, 2020).

Nesses casos, a evasão à apoptose, frequentemente mediada pelas oncoproteínas virais E6 e E7, configura-se como um dos principais mecanismos moleculares associados à resistência terapêutica no CCU (Hanahan e Weinberg, 2011). A investigação desses processos é fundamental para compreender os desfechos clínicos desfavoráveis observados em pacientes não respondedoras.

2.1.4 Mecanismos moleculares da resistência terapêutica no câncer do colo uterino

Apesar dos avanços na triagem citológica e na vacinação contra os principais genótipos oncogênicos do HPV, o câncer do colo do útero ainda representa um importante desafio clínico nos estágios localmente avançados, em que o tratamento padrão combina quimioterapia baseada em platina com radioterapia concomitante. Embora essa abordagem seja eficaz para a maioria das pacientes, uma proporção significativa apresenta resistência, manifestada por progressão tumoral durante o tratamento ou recidiva precoce após a remissão clínica (Zhang et al., 2023)

A resistência terapêutica no CCU é um fenômeno multifatorial e dinâmico, envolvendo desde fatores clínicos, como estadiamento tardio e comorbidades, até mecanismos moleculares complexos que conferem à célula tumoral a capacidade de evadir aos efeitos citotóxicos do tratamento. Dentre esses mecanismos, destacam-se: a evasão à apoptose, alterações epigenéticas, como a hipermetilação de genes supressores tumorais, modulação de vias de sinalização intracelular, como PI3K/AKT, Notch e Hippo, além de alterações no microambiente tumoral, como hipóxia, angiogênese

desregulada e secreção de citocinas imunossupressoras (Zuccherato et al., 2020; Zhang et al., 2023).

A evasão à apoptose, em particular, tem sido amplamente reconhecida como um dos principais determinantes da resistência terapêutica no CCU, uma vez que tanto a quimioterapia quanto a radioterapia dependem da ativação de vias pró-apoptóticas para induzir a morte das células tumorais. Nesse contexto, a inativação de genes supressores tumorais e a ativação de vias de sobrevivência celular criam um ambiente molecular favorável à persistência tumoral, mesmo após insultos terapêuticos (Wu, Y. et al, 2023).

Esse escape apoptótico, frequentemente induzido por oncoproteínas virais como E6 e E7 do HPV de alto risco, constitui um dos mecanismos moleculares centrais associados à resistência terapêutica no câncer do colo do útero (CCU) (Doorbar et al., 2012; Moody e Laimins, 2010). A evasão da morte celular programada, um dos "Hallmarks of Cancer" descritos por Hanahan e Weinberg (2011), permite que células neoplásicas sobrevivam mesmo diante de estímulos citotóxicos. Compreender as vias de sinalização envolvidas nesse processo, como a via Hippo, e investigar genes reguladores pode revelar novos alvos para intervenção terapêutica (Harvey et al., 2013; Aylon e Oren, 2011).

Entre os genes potencialmente associados à resistência terapêutica, *RASSF2* vem ganhando destaque por sua atuação comprovada como supressor tumoral na ativação da via Hippo. Por meio de seu domínio SARAH, *RASSF2* interage diretamente com as quinases MST1 e MST2, desencadeando uma cascata que culmina na fosforilação de YAP/TAZ e ativação de efetores pró-apoptóticos. Alterações na expressão ou função de *RASSF2*, portanto, podem comprometer essa via e favorecer a sobrevivência celular aberrante (Harvey e Hariharan, 2012).

Além de genes já consolidados na literatura, como *RASSF2* destaca-se também a superexpressão de *PNMA3* observada no estudo de Melo Neto (2022) em pacientes não respondedoras à quimiorradioterapia, o que levanta a hipótese de que esse gene possa atuar como modulador de mecanismos de evasão apoptótica ainda pouco explorados nesse contexto tumoral.

Originalmente descrito como um antígeno paraneoplásico do sistema nervoso, PNMA3 pertence à família dos antígenos Ma, frequentemente reconhecidos por autoanticorpos em pacientes com síndromes neurológicas associadas a neoplasias (Dalmau et al., 1999; Rosenfeld et al., 2001).

Esses antígenos fazem parte de um grupo conhecido como antígenos câncer/testículo (CT), caracterizados por uma expressão restrita a tecidos imunoprivilegiados, como testículos e cérebro, mas aberrantemente reativados em diversos tumores malignos (Simpson et al., 2005). Considerando essa expressão anômala e seu potencial papel regulador na via apoptótica, torna-se urgente a investigação de estratégias terapêuticas capazes de restaurar a funcionalidade apoptótica dessas vias, superando os mecanismos de resistência presentes nas pacientes não respondedoras.

Esse cenário reforça a importância da evasão à apoptose como um processo-chave não apenas na manutenção da agressividade tumoral, mas também como ponto estratégico para intervenção terapêutica, conforme os “*Hallmarks of Cancer*” descritos por Hanahan e Weinberg (2022).

2.1.5 *Hallmarks of Cancer*: Apoptose- mecanismos e evasão

Em 2000, Douglas Hanahan e Robert Weinberg propuseram um modelo seminal para entender os princípios fundamentais da biologia do câncer, denominado *Hallmarks of Cancer* (Hanahan e Weinberg, 2000). Esse modelo foi ampliado em 2011, reunindo as principais características adquiridas pelas células tumorais ao longo da carcinogênese, que conferem vantagens proliferativas, evasivas e adaptativas em relação às células normais (Hanahan e Weinberg, 2011).

Entre os processos descritos, destacam-se: sustentação do sinal proliferativo, resistência à inibição do crescimento, indução de angiogênese, evasão à apoptose, imortalidade replicativa, invasão e metástase, reprogramação do metabolismo energético, instabilidade genômica, inflamação tumoral e modulação da resposta imune.

A apoptose é um tipo de morte celular programada que ocorre de forma altamente regulada e ordenada, sendo fundamental tanto em condições fisiológicas, como no desenvolvimento embrionário e na renovação tecidual, quanto em processos patológicos. Distingue-se de formas não programadas de morte celular, como a necrose, por apresentar

características morfológicas e bioquímicas bem definidas, conforme demonstrado na Tabela 2 (Elmore, 2007; Kerr et al., 1972).

A ocorrência da apoptose depende de uma complexa regulação genética que envolve tanto os genes pró-apoptóticos quanto os mecanismos responsáveis pelo reconhecimento e englobamento das células em morte por fagócitos, destacando-se, portanto, a necessidade da participação ativa de células fagocíticas para o sucesso do processo (Elmore, 2007).

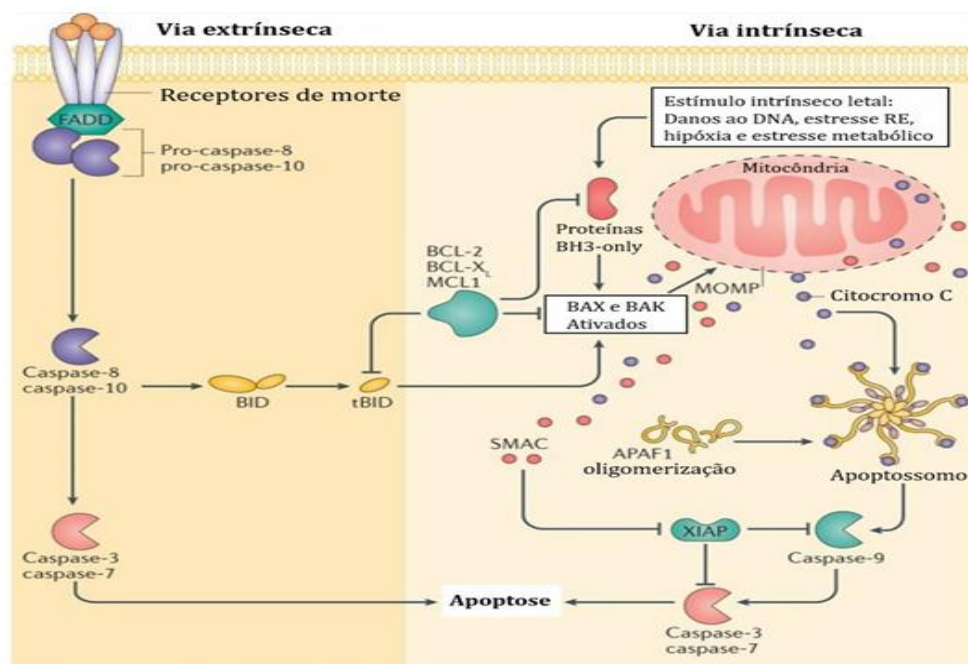
Tabela 2. Características comparativas entre apoptose e necrose

Característica	Apoptose	Necrose
Tipo celular	Células únicas ou pequenos grupos	Células frequentemente contíguas
Alteração celular	Encurtamento celular e convolução	Crescimento celular
Alterações nucleares	Picnose e cariorrexe	Cariólise, picnose e cariorrexe
Membrana celular	Intacta	Ruptura
Produtos finais	Corpos apoptóticos	Liberação citoplasmática
Resposta inflamatória	Ausente	Normalmente presente

Comparação morfológica entre os processos de apoptose e necrose. A apoptose é caracterizada por alterações celulares programadas, como picnose e formação de corpos apoptóticos, sem desencadear resposta inflamatória. Já a necrose envolve ruptura celular, liberação do conteúdo citoplasmático e inflamação local. Fonte: Adaptado de Elmore (2007).

A intensidade dos sinais apoptóticos emitidos pelas células-alvo e pelas fagocíticas determinam se a célula realmente seguirá para apoptose ou retornará à sobrevivência celular (Elmore, 2007). A apoptose pode ser desencadeada por dois mecanismos principais: via intrínseca (mitocondrial) ou extrínseca (mediada por receptores de morte), conforme esquematizado na Figura 13 (Ichim; Tait, 2016).

Figura 13. Mecanismos clássicos da ativação apoptótica



Representação esquemática das vias extrínseca e intrínseca da apoptose. A via extrínseca é ativada por receptores de morte, como FADD, que recrutam e clivam as pró-caspases-8 e -10, ativando a caspase-3. A via intrínseca responde a sinais intracelulares de estresse, com liberação de citocromo c pelas mitocôndrias, formação do apoptossomo e ativação da caspase-9. Ambas as vias convergem para a ativação de caspases executoras, como a caspase-3 e -7, culminando na morte celular programada. Fonte: Adaptado de Ichim e Tait (2016).

A via extrínseca da apoptose é desencadeada por estímulos extracelulares mediados por ligantes da superfamília do fator de necrose tumoral (TNF), como o TRAIL (TNF-related apoptosis-inducing ligand) e o FAS-L (ligante do receptor FAS). Esses ligantes interagem com receptores de morte celular localizados na membrana plasmática, como FAS-R (TNFRSF6), DR4 e DR5, promovendo a formação do complexo DISC (Death-Inducing Signaling Complex). Esse complexo ativa a caspase-8, uma protease iniciadora responsável por desencadear a cascata apoptótica extrínseca (Ichim; Tait, 2016). A ativação subsequente das caspases efetoras, como a caspase-3, culmina na degradação ordenada da célula.

Contudo, evidências indicam que a eficiência dessa via pode ser severamente comprometida em neoplasias ginecológicas, em parte devido a alterações epigenéticas e ao desequilíbrio na expressão dos receptores TRAIL. Braga et al. (2014) demonstraram

que a hipermetilação no gene TRAIL-R2 (DR5) está associada à resistência à apoptose em tumores de ovário, sugerindo que modificações epigenéticas podem comprometer a resposta terapêutica. Em paralelo, a superexpressão do receptor decoy TRAIL-R3 — que compete com DR4 e DR5, mas não possui domínio de morte intracelular — foi relacionada à inibição da sinalização apoptótica em lesões cervicais e tumores (Braga et al., 2011). Esses achados sustentam que o bloqueio da via extrínseca pode ocorrer não apenas por mutações ou falhas proteicas, mas também por mecanismos epigenéticos específicos, contribuindo para a resistência observada em pacientes com CCU.

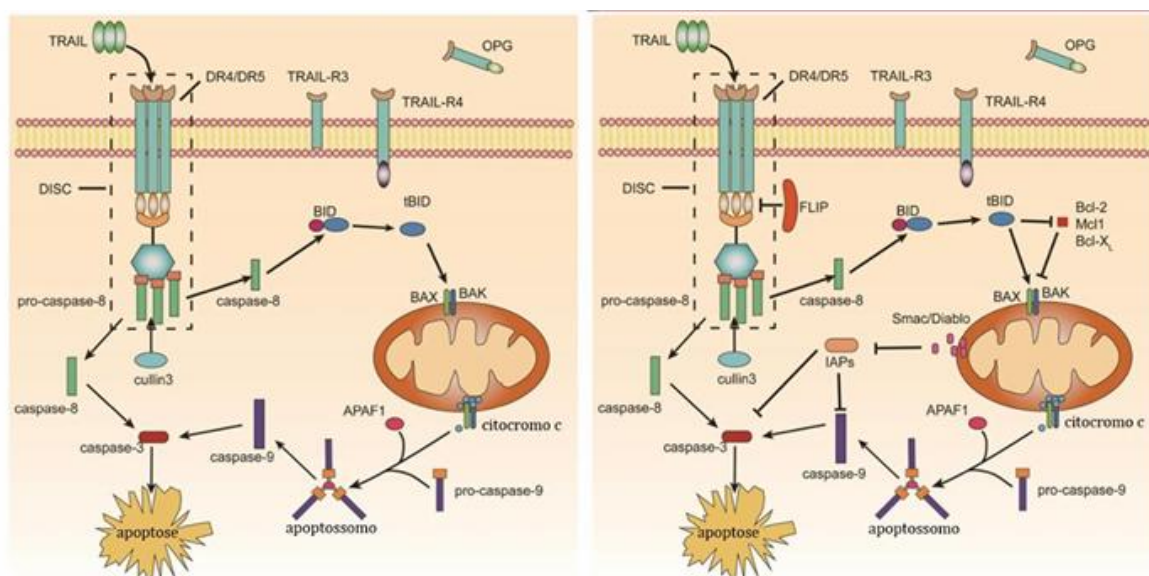
Por outro lado, a via intrínseca ou mitocondrial é ativada por estímulos intracelulares, como estresse oxidativo, dano ao DNA, hipóxia ou depleção de fatores de crescimento (Galluzzi; Kepp; Kroemer, 2012). Esses sinais levam à ativação de proteínas pró-apoptóticas da família BCL-2, como BAX e BAK, que aumentam a permeabilidade da membrana mitocondrial externa. Como consequência, moléculas pró-apoptóticas presentes no espaço intermembranar, como o citocromo c, Smac/DIABLO, AIF (Apoptosis-Inducing Factor) e a endonuclease G, são liberadas no citosol (Loane; Stoica; Faden, 2015).

O citocromo c, em especial, associa-se à proteína APAF-1 (Apoptotic Protease Activating Factor 1) e ao dATP, formando o apoptossomo, um complexo multiproteico responsável pela ativação da caspase-9, que por sua vez ativa caspases efetoras (Wu, Y. et al. 2023). O Smac e o HtrA2 atuam inibindo proteínas que bloqueiam a ativação de caspases, enquanto o AIF e a endonuclease G promovem degradação do DNA de forma independente de caspases.

Embora essas vias tenham origens distintas, há um ponto de interconexão crucial entre elas: a caspase-8, ativada na via extrínseca, pode clivar a proteína BID, gerando sua forma truncada (tBID), que atua diretamente na mitocôndria, amplificando a via intrínseca (H li et al., 1998). Esse mecanismo reforça a redundância do sistema apoptótico e aumenta sua eficiência frente a diferentes tipos de estímulo.

A interligação entre essas vias (Figura 14) é responsável pela ativação coordenada do processo apoptótico, especialmente relevante no contexto tumoral, onde tais vias frequentemente encontram-se desreguladas.

Figura 14. Interconectividade entre vias apoptóticas.



A ativação de receptores de morte da via extrínseca (exemplo: DR5) promove a formação do complexo DISC e a clivagem de BID pela caspase-8, gerando tBID. Esta forma truncada transloca-se para a mitocôndria, onde ativa BAX e BAK, promovendo a liberação de citocromo c e a ativação subsequente da via intrínseca. Esse processo culmina na formação do apoptossomo e na ativação sequencial das caspases 9 e 3. Fonte: Adaptado de H. Li *et al* (1998)

Proteínas como MOAP-1 (PNMA4), inicialmente identificadas como antígenos paraneoplásicos, foram relacionadas à indução da apoptose via interação com BAX, destacando sua importância como alvo terapêutico em câncer de mama (Tan et al., 2016).

Além disso, a superexpressão de PNMA3 e PNMA4 em linhagens tumorais, como MCF-7, tem sido associada à sensibilização a fármacos quimioterápicos e à modulação da via apoptótica mitocondrial (Su; Wang; Meng, 2022). Estudos também sugerem que PNMA2 atua como antagonista de PNMA1 e PNMA4, inibindo a apoptose por meio da redução de marcadores como Anexina V e condensação nuclear (Lee; Pang; Tan, 2016). Em síntese, a compreensão dos mecanismos moleculares da apoptose e seus biomarcadores têm permitido a identificação de alvos terapêuticos e estratégias clínicas promissoras para o tratamento do câncer, incluindo o CCU.

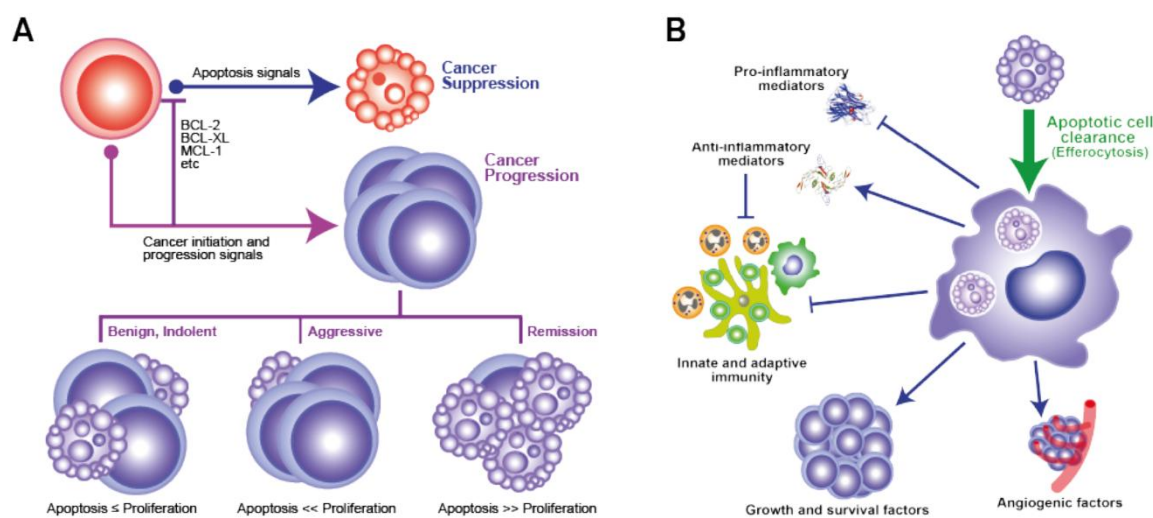
A evasão da apoptose é amplamente facilitada pela ação das oncoproteínas virais E6 e E7 do HPV, que inibem a função das proteínas supressoras tumorais p53 e pRb,

interferem na sinalização imune e promovem um ambiente celular permissivo à sobrevivência tumoral (Moody e Laimins, 2010; Doorbar et al., 2012).

Além desses mecanismos virais, diversos tumores desenvolvem alterações secundárias que reforçam esse *hallmark*, como mutações em genes pró-apoptóticos, desregulação de vias de sinalização de morte celular e remodelação do microambiente tumoral. Tais alterações favorecem a sobrevivência de células danificadas, contribuindo para o que é conhecido como paradoxo da apoptose no câncer, no qual a resistência à morte celular, em vez de impedir o crescimento tumoral, acaba promovendo sua progressão e agressividade.

Esse conceito está ilustrado na Figura 15, que destaca o papel da apoptose como mecanismo supressor ou facilitador da evolução tumoral, dependendo do contexto molecular e celular. No CCU refratário, estudos indicam que alterações epigenéticas e de expressão gênica também contribuem para o bloqueio de vias apoptóticas, dificultando a eficácia terapêutica (Zhang et al., 2023).

Figura 15. O paradoxo da apoptose no câncer



(A) A apoptose atua como um processo supressor tumoral ao eliminar células danificadas. No entanto, quando fatores antiapoptóticos, como os membros da família BCL-2, bloqueiam essa via, há favorecimento da sobrevivência de células mutantes e progressão tumoral. O balanço entre apoptose e proliferação determina se a neoplasia será benigna, agressiva ou responderá ao tratamento (remissão). (B) A remoção eficiente de células apoptóticas pelos fagócitos (eferocitose) ativa programas funcionais com potencial oncogênico, incluindo liberação de mediadores inflamatórios, fatores de crescimento e angiogênese, além de modulação da resposta imune. Fonte: Adaptado de Goodall *et al.* (2022).

Nesse contexto, a via Hippo tem emergido como um dos principais reguladores moleculares da apoptose, atuando de forma crucial no controle da proliferação, diferenciação e morte celular programada. Essa via é altamente conservada entre os eucariotos e funciona como um mecanismo de supressão tumoral, limitando o crescimento celular por meio da inibição da transcrição de genes proliferativos e antiapoptóticos (Yu et al., 2015).

A proteína RASSF2, membro da família RASSF (Ras-association domain family), atua como um ativador *upstream* dessa via, interagindo diretamente com as quinases serina/treonina MST1 e MST2 por meio de seu domínio SARAH. Essa interação promove a ativação em cascata da via Hippo, culminando na fosforilação de LATS1/2 e subsequente inativação dos coativadores YAP/TAZ, que, quando não fosforilados, translocam-se para o núcleo e induzem a expressão de genes antiapoptóticos (Matallanas et al., 2011). Dessa forma, a RASSF2 favorece a sinalização pró-apoptótica da via Hippo, funcionando como um elemento-chave na manutenção da homeostase celular e na prevenção da transformação maligna.

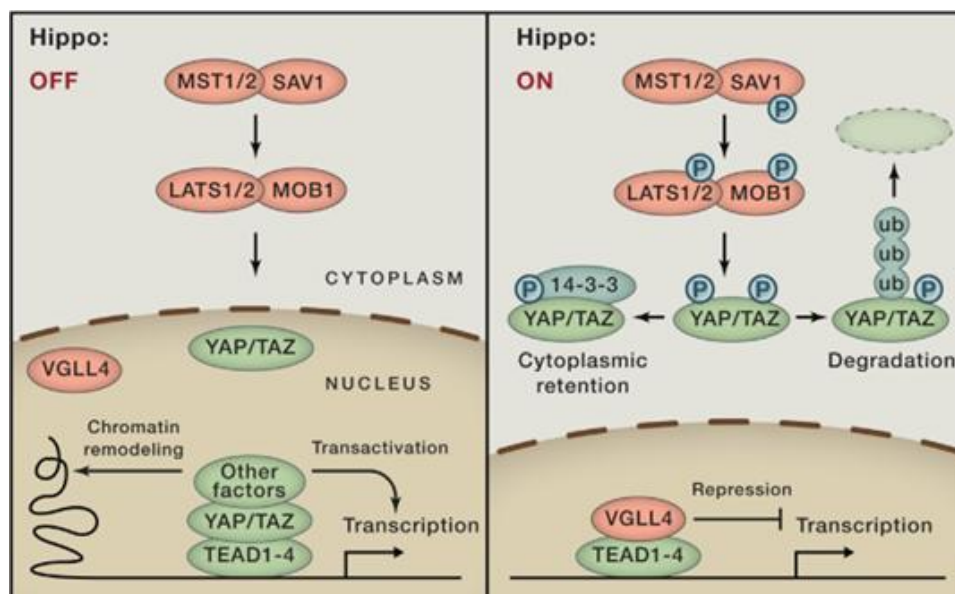
A superexpressão aberrante de PNMA3, por sua vez, pode representar um mecanismo inédito de desregulação da via Hippo, ao interferir fisicamente na associação entre RASSF2 e as quinases MST1/MST2, bloqueando a sinalização pró-apoptótica e favorecendo a evasão da morte celular programada. Essa hipótese, proposta neste trabalho, é sustentada pelo conhecimento prévio de que interações proteína-proteína desempenham papel central na regulação da via Hippo e que seu bloqueio físico pode comprometer a transdução do sinal apoptótico Wang et al. (2014). Tal bloqueio funcional pode ajudar a explicar a resistência terapêutica observada em pacientes com CCU, especialmente naquelas com superexpressão de PNMA3 identificada em transcriptomas de pacientes não respondedoras.

2.1.6 A via Hippo e sua função na regulação apoptótica

A via Hippo é uma cascata de sinalização intracelular altamente conservada entre os eucariotos, inicialmente caracterizada em *Drosophila melanogaster*, onde mutações em genes como *HIPPO* (*HPO*), *WARTS* (*WTS*) e *SALVADOR* (*SAV*) resultavam em um crescimento exacerbado dos tecidos devido à falha na limitação do número celular (Harvey et al., 2003).

Nos mamíferos, essa via desempenha funções análogas, sendo essencial para o controle do tamanho dos órgãos, regulação da proliferação e diferenciação celular, manutenção da homeostase tecidual e indução de morte celular programada. Seu efeito antitumoral ocorre, principalmente, por meio da inibição dos coativadores transcricionais YAP (Yes-associated protein) e TAZ (transcriptional coactivator with PDZ-binding motif), que são sequestrados no citoplasma quando a via está funcional (Yu, Zhao e Guan, 2015) (Figura 16).

Figura 16. Arquitetura central da via Hippo



Nos mamíferos, a via Hippo é ativada pela fosforilação das quinases MST1/2, que, em complexos com SAV1, ativam LATS1/2 por meio da proteína adaptadora MOB1. A ativação de LATS1/2 promove a fosforilação dos coativadores transcricionais YAP e TAZ, resultando em sua retenção no citoplasma por proteínas como 14-3-3 e posterior degradação via proteassoma. Com isso, é bloqueada a ativação de genes associados à proliferação celular, antiapoptose e crescimento tumoral. Quando a via está inativa, YAP/TAZ translocam-se para o núcleo, onde se associam a fatores de transcrição da família TEAD, promovendo a expressão de genes pró-proliferativos e de sobrevivência celular. Fonte: Adaptado de Yu, Zhao e Guan (2015).

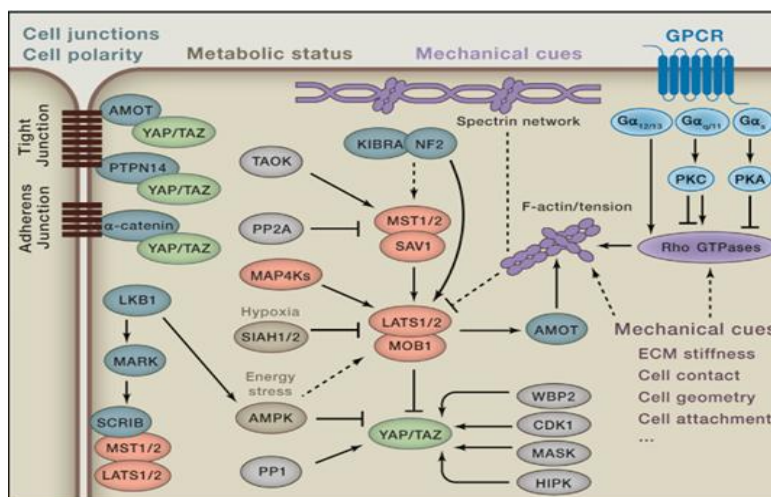
Essa cascata sinalizadora funciona como um verdadeiro “freio” molecular, inibindo a transcrição de genes relacionados ao crescimento celular descontrolado. Quando a via Hippo está funcional, os coativadores YAP/TAZ permanecem fosforilados no citoplasma, o que impede sua translocação para o núcleo e bloqueia a ativação de

genes como *CTGF*, *CYR61*, *BIRC5* e *MYC*, associados à proliferação, sobrevivência e evasão da apoptose.

Por outro lado, a inativação da via, evento comum em diversos tipos de câncer, favorece o acúmulo nuclear de YAP/TAZ, que interagem com fatores da família TEAD, promovendo a expressão de genes pró-proliferativos, antiapoptóticos e pró-angiogênicos (Yu, Zhao e Guan, 2015).

Além do papel no controle do crescimento, a via Hippo é sensível a estímulos do microambiente, como contato célula–célula, rigidez da matriz extracelular, polaridade celular e sinais mecânicos. Esses estímulos são integrados principalmente por receptores ligados à adesão (como integrinas) e por sensores de tensão citosquelética, modulando indiretamente a atividade de MST1/2 e LATS1/2. A perda da sensibilidade a esses estímulos está associada à progressão de diversos tipos de câncer, permitindo que as células escapem da regulação por densidade e prossigam em divisão descontrolada (Figura 17).

Figura 17. Integração de sinais extracelulares pela via Hippo.

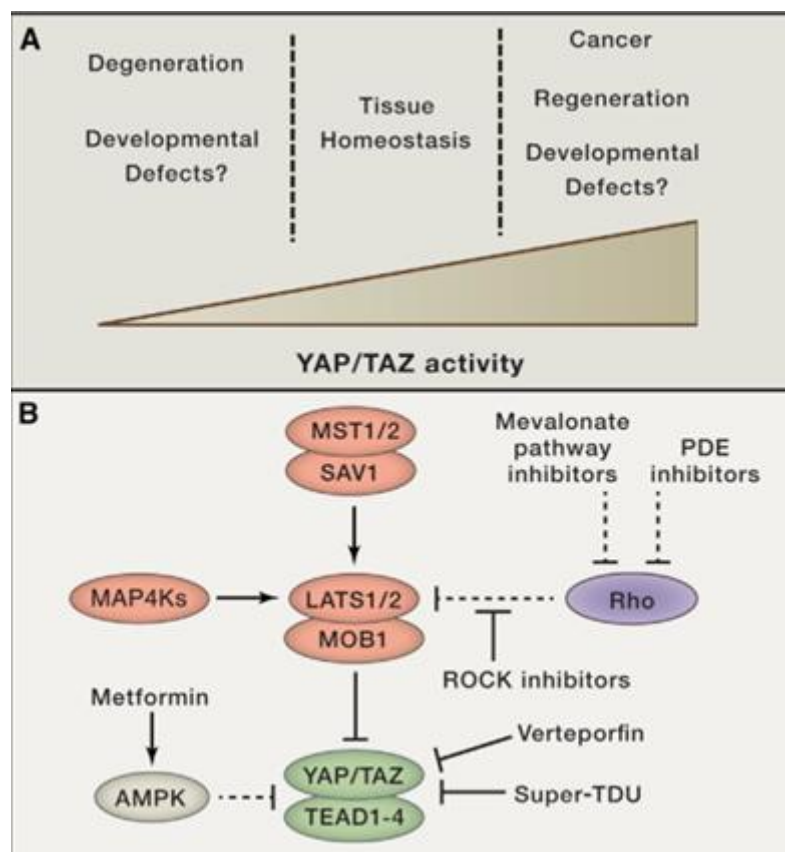


A ativação ou inibição da via Hippo é modulada por uma variedade de sinais, incluindo contato célula–célula, receptores GPCR, fatores solúveis, integrinas, energia celular e rigidez da matriz. Esses estímulos alteram a fosforilação de YAP/TAZ e influenciam seu destino subcelular. Fonte: Adaptado de Yu, Zhao e Guan (2015).

No contexto tumoral, a via Hippo apresenta um papel dual, funcionando tanto como reguladora da apoptose quanto como sensor de estresse celular. Diversas mutações

ou supressões epigenéticas nos genes MST1, LATS1/2 ou nas proteínas adaptadoras SAV1 e MOB1 foram identificadas em amostras tumorais humanas. A consequência funcional dessas alterações é a ativação nuclear constante de YAP/TAZ, promovendo resistência à quimioterapia, evasão à apoptose e aumento do potencial metastático. Esses efeitos estão ilustrados na Figura 18, que resume os impactos funcionais e terapêuticos associados à desregulação da via Hippo no câncer.

Figura 18. Implicações oncológicas da desregulação da via Hippo



- (A) O aumento progressivo da atividade de YAP/TAZ está relacionado a diferentes contextos biológicos, desde homeostase até regeneração e câncer.
- (B) A via Hippo pode ser alvo de inibidores como verteporfina, inibidores de ROCK, e metformina, que visam restaurar a regulação negativa sobre YAP/TAZ.
- Fonte: Adaptado de Yu, Zhao e Guan (2015).

A via Hippo não opera de forma isolada, mas integra uma complexa rede de sinalização interligada a outras vias clássicas da oncogênese, como PI3K/AKT, Wnt/ β -

catenina, Notch, TGF- β e RAS/MAPK. Essa conectividade assegura múltiplos pontos de controle do crescimento e da morte celular, ao mesmo tempo em que introduz redundâncias que favorecem a plasticidade tumoral. Em tumores agressivos, a desregulação simultânea dessas vias compromete o controle da proliferação, tornando o bloqueio de uma única cascata insuficiente para conter a progressão neoplásica.

Nesse cenário, os coativadores YAP/TAZ assumem um papel central ao interagir funcionalmente com diversas dessas vias como Wnt, TGF- β , Notch, EGFR e PI3K/AKT coordenando decisões celulares entre proliferação, diferenciação e sobrevivência (Yu, 2015). Assim, a via Hippo funciona como um hub regulador de sinais oncogênicos convergentes.

Considerando a importância dessa via na regulação da apoptose, estudos recentes têm buscado identificar novos moduladores capazes de interferir em sua estabilidade funcional em contextos tumorais específicos. Um desses candidatos é o gene PNMA3 (Paraneoplastic Ma Antigen 3), cuja expressão aberrante foi detectada em amostras de CCU refratário à quimiorradioterapia, segundo dados transcriptômicos descritos por Melo Neto et al. (2022).

A expressão anômala de PNMA3 levanta a hipótese de que essa proteína possa interferir negativamente na sinalização Hippo, impactando componentes-chave como RASSF2 e as quinases MST1/MST2, com consequente comprometimento da resposta pró-apoptótica.

2.1.7 PNMA3 e seu papel na refratariedade ao tratamento no câncer do colo uterino

Segundo Dalmau et al. (1999), o antígeno Ma1, também denominado PNMA1 (Paraneoplastic Ma1 antígeno), é uma proteína expressa de forma restrita no cérebro e nos testículos, sendo reconhecida por autoanticorpos em pacientes com síndromes neurológicas paraneoplásicas. Esse padrão de expressão restrita a tecidos imuno-privilegiados, como cérebro e testículo, classifica os antígenos da família PNMA como pertencentes ao grupo dos chamados antígenos câncer/testículo (CTAs), cuja ativação aberrante em tumores tem sido associada à progressão neoplásica, à evasão imunológica e à metástase. A caracterização inicial do Ma1 como alvo de resposta autoimune reforça

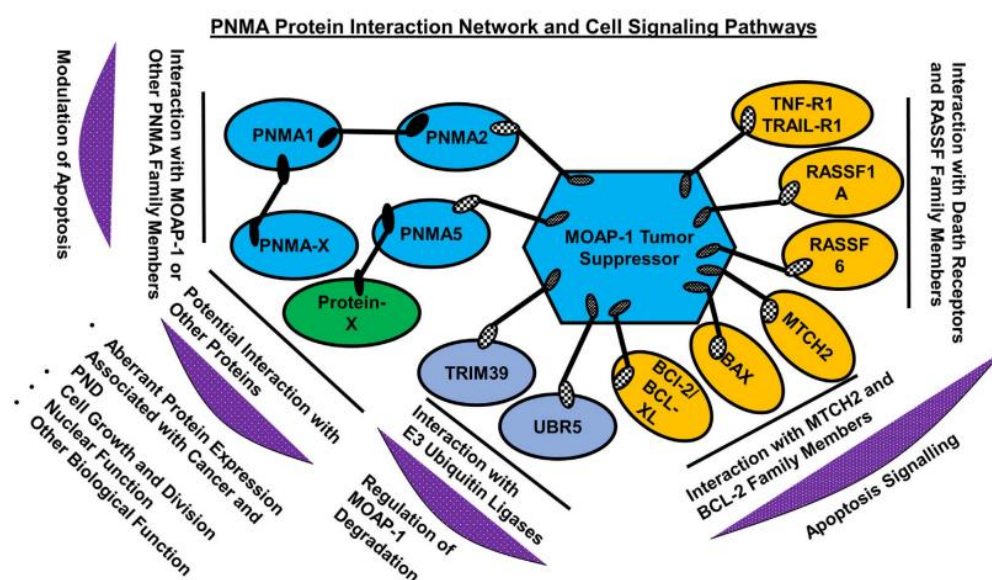
seu potencial papel como biomarcador tumoral e possível alvo terapêutico em cânceres que compartilham esse perfil de expressão.

O gene PNMA3 (Paraneoplastic Ma Antigen 3), também conhecido como, pertence à família dos antígenos paraneoplásicos Ma, tradicionalmente associados a respostas autoimunes em neoplasias do sistema nervoso central. Em condições fisiológicas, a expressão de PNMA3 é majoritariamente restrita ao tecido cerebral, onde participa de processos apoptóticos mediados pela via extrínseca de morte celular. (Pang et al., 2018).

Surpreendentemente, dados recentes do nosso grupo, indicaram uma superexpressão aberrante de PNMA3 em amostras de CCU, especialmente em pacientes que não respondem à quimiorradioterapia. Essa expressão ectópica sugere um possível envolvimento funcional dessa proteína no ambiente tumoral cervical, ainda pouco descrito na literatura. A análise transcriptômica realizada por Melo Neto, et al. (2022) identificou *PNMA3* como um dos genes diferencialmente expressos em pacientes com refratariedade terapêutica, indicando um possível papel como modulador negativo da resposta ao tratamento.

Estudos funcionais em outras linhagens celulares indicam que PNMA3 pode interagir com componentes da via apoptótica, incluindo RASSF1A e proteínas da família Bcl-2, regulando a ativação da caspase-9 e o recrutamento de proteínas pró-apoptóticas como Bax (Tan et al., 2011). No entanto, a atuação de PNMA3 como supressor ou inibidor da apoptose depende do contexto celular e da regulação pós-traducional de suas interações (Figura 19)

Figura 19. Rede de interação das proteínas da família PNMA com MOAP-1, receptores de morte e proteínas da via apoptótica.



Representação esquemática das interações conhecidas entre proteínas da família PNMA (como PNMA1, PNMA2, PNMA5), o supressor tumoral MOAP-1 (PNMA4), proteínas da família RASSF (RASSF1A e RASSF6), receptores de morte celular (TNF-R1, TRAIL-R1) e membros da família BCL-2 (BAX, BCL-XL). O esquema destaca a participação dessas proteínas na modulação da apoptose, via sinalização extrínseca e mitocondrial, além do possível envolvimento funcional de PNMA3, que compartilha homologia estrutural com os demais membros. A interação com ligases E3 (TRIM39, UBR5) sugere mecanismos de regulação pós-traducional associados à estabilidade de MOAP-1. Fonte: Pang et al. (2018).

No contexto do CCU, com os achados em análises de pacientes resistentes ao tratamento, levanta-se aqui neste trabalho a hipótese de que a superexpressão de PNMA3 possa interferir fisicamente na interação entre RASSF2 e as quinases MST1/MST2, componentes essenciais da via Hippo. Essa interferência comprometeria a ativação da cascata pró-apoptótica, contribuindo para a evasão da morte celular programada e, por consequência, para a resistência ao tratamento convencional.

A presença anômala de PNMA3 em tumores não neuroectodérmicos também pode estar associada a processos de reprogramação epigenética e plasticidade celular tumoral, características comuns em tumores agressivos e refratários. Essa desregulação pode permitir a aquisição de funções neoplásicas por proteínas originalmente envolvidas em

respostas neuronais, como já descrito em outros membros da família Ma (Inuzuka et al., 2000).

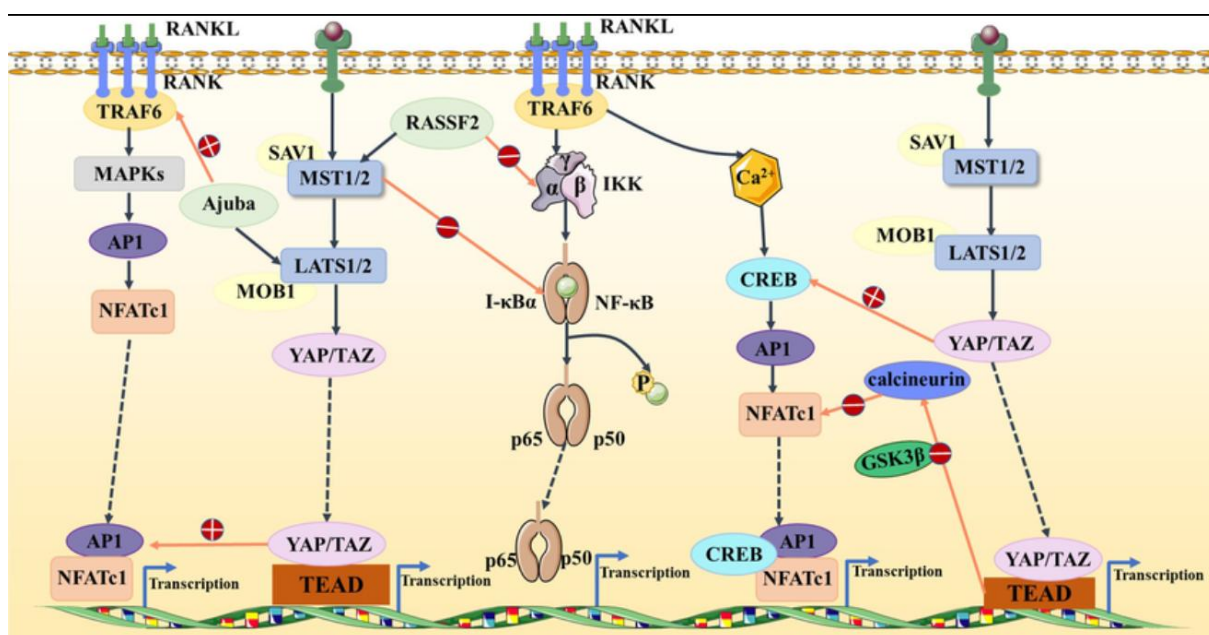
Nesse sentido, o papel de PNMA3 na refratariedade ao tratamento do CCU merece investigação aprofundada, especialmente por meio de abordagens *in silico* capazes de prever suas interações estruturais com alvos-chave da apoptose como a proteína RASSF2. A identificação de fármacos reposicionados que se liguem preferencialmente a PNMA3, impedindo sua interferência sobre a função de RASSF2, constitui uma estratégia terapêutica inovadora, com potencial de restaurar a sensibilidade ao tratamento em pacientes com resistência clínico-molecular.

2.1.8 RASSF2 e a via Hippo na regulação da apoptose

O gene RASSF2 (Ras Association Domain Family Member 2) pertence à família de genes RASSF, conhecida por atuar como reguladora negativa da proliferação celular, promovendo a apoptose e suprimindo a tumorigênese em diferentes tipos de câncer. RASSF2 é considerado um supressor tumoral epigeneticamente silenciado em diversos tumores sólidos, como pulmão, mama, cólon e próstata, estando frequentemente associado à hipermetilação de seu promotor, o que resulta em sua inativação funcional (Van der Weyden e Adams, 2007).

Sua função tumoral está fortemente ligada à via de sinalização Hippo, essencial para a regulação do tamanho tecidual e indução da morte celular programada. RASSF2 possui um domínio C-terminal do tipo SARAH (Salvador/RASSF/Hippo), que permite sua interação direta com as quinases MST1 e MST2, componentes centrais da via Hippo. Essa interação ativa em cascata os elementos downstream da via, resultando na fosforilação de YAP/TAZ e inibição da transcrição de genes pró-proliferativos e antiapoptóticos (Harvey e Hariharan, 2012) (Figura 20).

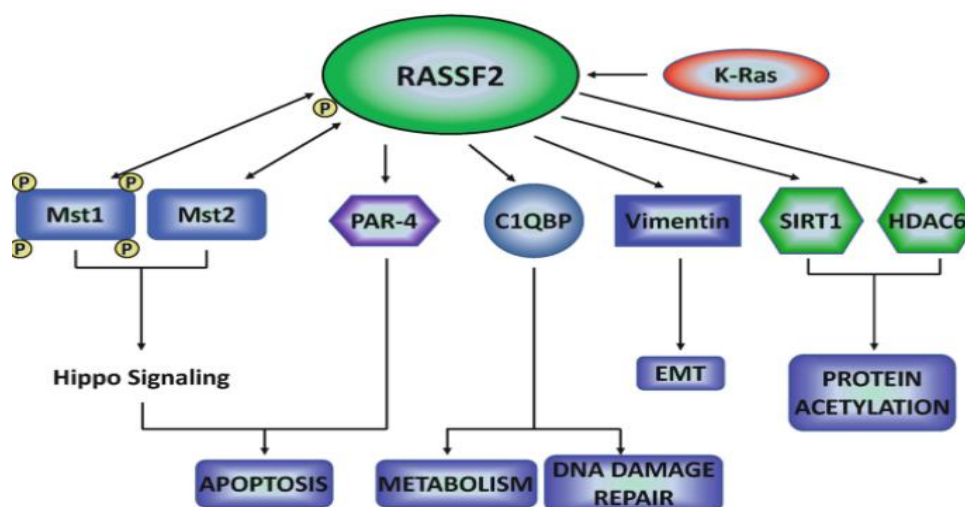
Figura 20. Integração entre a via Hippo, a sinalização RANKL e fatores reguladores de transcrição celular com participação da proteína RASSF2.



Representação esquemática das interações entre a proteína RASSF2, o complexo de quinases MST1/2 e os múltiplos caminhos regulatórios de transcrição celular. A ativação da via Hippo ocorre pela ação de RASSF2 sobre MST1/2, levando à ativação sequencial de MOB1 e LATS1/2, que fosforilam e inativam os coativadores YAP/TAZ, impedindo sua translocação nuclear e a transcrição de genes proliferativos mediados por TEAD. Simultaneamente, RASSF2 exerce efeito inibitório sobre a via NF-κB ao interferir com o complexo IKK e a degradação de I-κBα, bloqueando a translocação nuclear de p65/p50. A sinalização RANKL, por sua vez, atua de maneira pró-tumorigênica ao ativar TRAF6, MAPKs e fatores como NFATc1 e AP1, promovendo a transcrição gênica associada à sobrevivência e diferenciação celular. Componentes adicionais, como CREB, calcineurina e GSK3β, modulam esses caminhos de forma positiva ou negativa. Os ícones de interdição (⊘) indicam pontos de inibição regulatória. O esquema destaca o papel central da RASSF2 como modulador tumoral multifuncional, integrando respostas apoptóticas, inflamatórias e de transcrição celular. Fonte: Adaptado de literatura científica: Volodko,2014; Wu, 2023.

Quando a via Hippo está funcional, há supressão do crescimento celular, indução da apoptose e inibição da tumorigênese. Entretanto, em diversos tipos de câncer, incluindo o CCU, essa via encontra-se desregulada. Evidências sugerem que, nas pacientes não respondedoras à quimiorradioterapia, a função de RASSF2 pode estar comprometida, seja por alterações epigenéticas ou por interferência física em sua capacidade de interagir com MST1/MST2, impedindo a propagação do sinal apoptótico (Van der Weyden e Adams, 2007) (Figura 21).

Figura 21. Interações funcionais da proteína RASSF2 com quinases da via Hippo e outros alvos celulares.



Representação esquemática das interações moleculares mediadas pela proteína RASSF2, destacando seu papel como regulador tumoral. RASSF2 ativa as quinases MST1 e MST2 por meio de seu domínio SARAH, promovendo a sinalização da via Hippo, cuja ativação está associada à indução de apoptose. Além disso, RASSF2 interage com diversas proteínas com funções críticas no metabolismo (C1QBP), reparo de danos ao DNA, transição epitélio-mesênquima (EMT, via Vimentina), acetilação proteica (via SIRT1 e HDAC6) e apoptose mediada por PAR-4. A interação com K-Ras também é destacada, indicando o envolvimento da RASSF2 na modulação de vias oncogênicas. A integridade dessas interações é essencial para a homeostase celular, sendo sua disfunção associada à evasão apoptótica e ao desenvolvimento tumoral. Fonte: Donninger e Clark (2022).

Estudos demonstram que a reativação de RASSF2 em linhagens tumorais leva à restauração da apoptose e à inibição do crescimento tumoral, reforçando seu papel como alvo terapêutico (Van der Weyden e Adams, 2007). No contexto deste estudo, parte-se da hipótese de que a inibição da função de RASSF2, em especial a interrupção de sua ligação com MST1/MST2, seja um fator determinante da resistência observada em pacientes com CCU. Portanto, reverter esse bloqueio representa uma oportunidade terapêutica promissora.

A modelagem computacional da interação entre RASSF2 e seus parceiros da via Hippo, aliada à triagem de fármacos com potencial de restaurar ou mimetizar essa interação, pode fornecer estratégias inovadoras para restaurar a sensibilidade ao

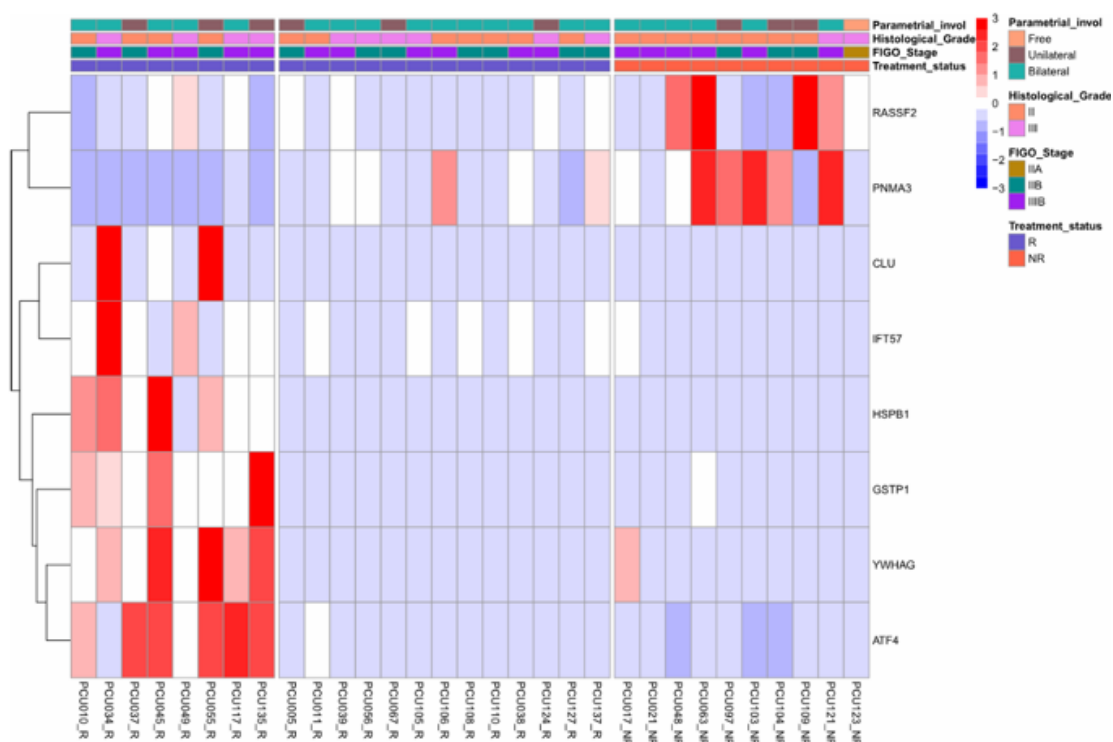
tratamento. A atuação de *RASSF2*, nesse contexto, não apenas reforça a relevância da via Hippo na regulação da apoptose, mas também destaca o valor de abordagens baseadas em reposicionamento racional de fármacos como forma de contornar mecanismos moleculares de resistência no CCU.

2.1.9 Bases transcriptômicas para a seleção de *PNMA3* e *RASSF2* como candidatos terapêuticos em casos de resistência à quimiorradioterapia

Estudos transcriptômicos recentes têm contribuído para a identificação de biomarcadores associados à resistência à quimiorradioterapia no CCU, revelando perfis gênicos diferencialmente expressos entre pacientes que responderam ou não ao tratamento. Zuccherato et al. (2021) realizaram uma análise em células-tronco tumorais cervicais (CCSCs) isoladas por citometria de fluxo de 31 pacientes, das quais 21 foram classificadas como respondedoras (R) e 10 como não respondedoras (NR). A partir do sequenciamento de RNA (RNA-Seq), foram identificados 1.050 genes diferencialmente expressos (DEGs), com uma tendência predominante de subexpressão nas pacientes NR. As vias biológicas mais afetadas nesse grupo incluíram apoptose, metabolismo mitocondrial e síntese de proteínas, sugerindo um microambiente celular menos responsivo a estímulos terapêuticos citotóxicos (Zuccherato et al., 2021).

Dando continuidade a essa linha de investigação, Melo Neto (2022) conduziu um estudo com foco nas células não-tronco tumorais (CNTTs) da mesma coorte de pacientes. Após o sequenciamento e análise de qualidade, foram identificados 2.519 DEGs, com 117 destes, associados à apoptose. Por meio de testes estatísticos, análise de ontologias e modelos preditivos baseados em árvores de decisão (J48 e Random Forest), oito genes foram priorizados como biomarcadores com maior relevância funcional. Entre eles, destacaram-se *PNMA3* e *RASSF2*, os quais apresentaram superexpressão nas pacientes NR e baixa expressão nas R (Melo Neto, 2022) (Figura 22).

Figura 22 – Heatmap da expressão diferencial de genes em pacientes com câncer do colo do útero segundo a resposta à quimiorradioterapia.



Representação visual da expressão relativa de oito genes candidatos em amostras de transcriptoma de pacientes com câncer do colo do útero. As colunas representam pacientes agrupados de acordo com a resposta ao tratamento (R: responsivas; NR: não responsivas), enquanto as linhas correspondem aos genes analisados. Tons vermelhos indicam superexpressão relativa e tons azuis, subexpressão. Observa-se um padrão de superexpressão de *PNMA3* em aproximadamente 50% das pacientes NR, contrastando com baixa ou ausente expressão nas amostras R. A proteína *RASSF2* também apresentou expressão elevada em cerca de 40% das pacientes NR, estando ausente em 95% das pacientes R. Os painéis coloridos superiores indicam o status parametrial, grau histológico, estadiamento FIGO e classificação por resposta terapêutica. Fonte: Melo Neto (2022).

O gene *PNMA3*, pertence à família dos antígenos paraneoplásicos Ma e apresenta, sob condições fisiológicas, expressão predominantemente ao tecido neural. Trabalhos clássicos apontam que sua função original está relacionada a processos apoptóticos mediados por Bax, especialmente em células neuronais e em contextos de doenças neurodegenerativas e síndromes paraneoplásicas (Law et al, 2015).

De acordo com Tan et al. (2011), *MOAP-1* é ativado em resposta a estímulos pró-apoptóticos, interagindo com proteínas da família BCL-2 para promover a translocação de Bax às mitocôndrias e, assim, a liberação de citocromo c. A localização mitocondrial de *MOAP-1* e sua participação na via intrínseca da apoptose conferem a essa proteína um papel importante no equilíbrio entre sobrevivência e morte celular.

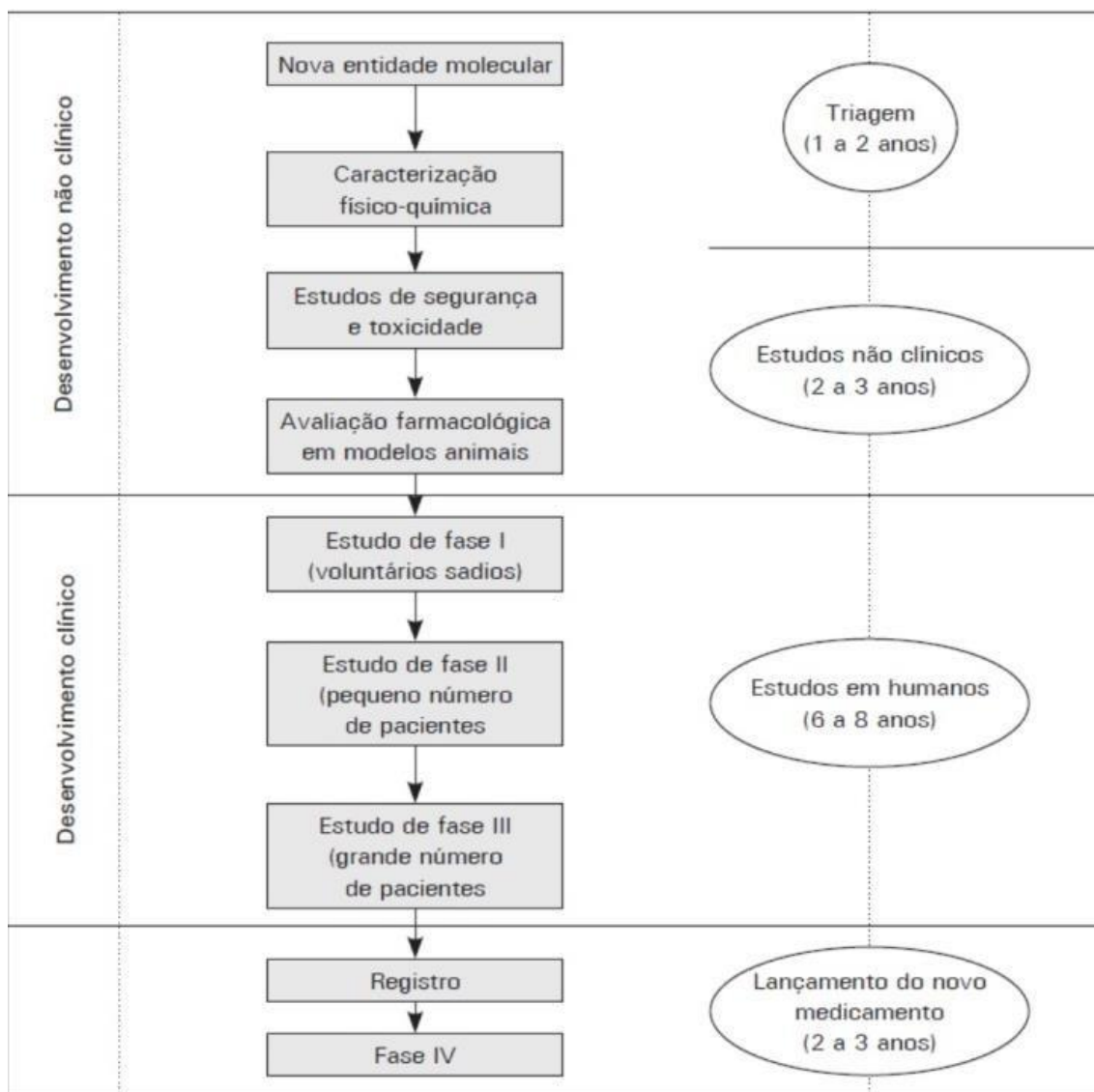
Dessa forma, os achados transcriptômicos obtidos por Melo Neto (2022), combinados com evidências da literatura que associam *RASSF2* à regulação da via Hippo e *PNMA3* à modulação da apoptose em outros contextos tumorais (Tan et al., 2011), fornecem embasamento teórico e experimental robusto para justificar a seleção desses genes como alvos centrais em estratégias terapêuticas que visem restaurar a sensibilidade celular à quimiorradioterapia em pacientes com CCU, por meio de estudos *in silico* para reposicionamento de fármacos com essa finalidade.

2.2 Reposicionamento de fármacos na oncologia

O reposicionamento de fármacos, também conhecido como *drug repurposing* ou *drug repositioning*, consiste na estratégia de identificar novos usos terapêuticos para medicamentos já aprovados para outras indicações. Essa abordagem tem se consolidado como uma alternativa promissora ao desenvolvimento tradicional de medicamentos, especialmente no contexto oncológico, por reduzir o tempo, o custo e os riscos associados às fases iniciais de pesquisa e desenvolvimento (Ashburn e Thor, 2004; Pushpakom et al., 2019).

Enquanto o desenvolvimento tradicional de um novo fármaco pode levar em média de 10 a 15 anos e custar entre 1,5 e 2 bilhões de dólares, o reposicionamento de medicamentos oferece uma alternativa significativamente mais rápida e econômica, com tempo médio de 3 a 6 anos e redução estimada de até 60% nos custos totais (Nosengo, 2016) (Figuras 23 e 24). Essa diferença se deve, sobretudo, ao fato de que fármacos reposicionados já passaram por etapas rigorosas de avaliação toxicológica e farmacocinética, o que acelera sua transição para os ensaios clínicos em novas indicações.

Figura 23. Etapas do processo de desenvolvimento de novos fármacos

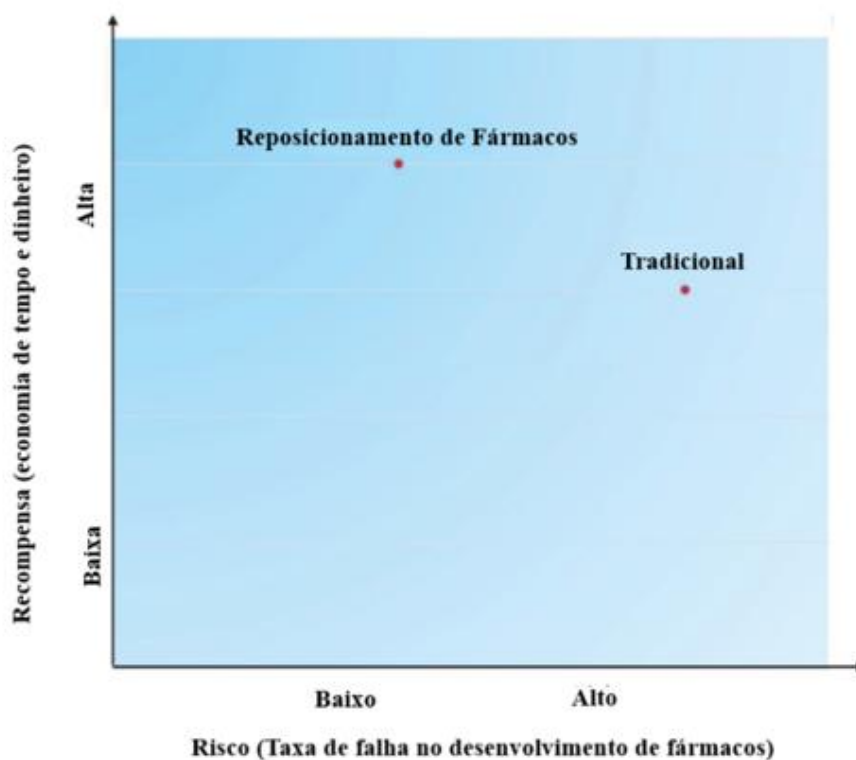


Fluxograma detalhado das fases envolvidas no desenvolvimento de um novo medicamento, desde a identificação de uma nova entidade molecular até o lançamento do medicamento no mercado. As etapas incluem triagem, caracterização físico-química, estudos de segurança e toxicidade, avaliação farmacológica em modelos animais, estudos clínicos de fases I a III, registro e fase IV de farmacovigilância. O tempo estimado para cada etapa também é indicado, destacando a duração total do processo. Fonte: Adaptado de Redigueri, 2015.

Dados da *Pharmaceutical Research and Manufacturers of America (PhRMA)* demonstram que, apesar do crescente investimento em P&D ao longo das últimas décadas, a taxa de aprovação de novos medicamentos pela FDA permaneceu

relativamente constante — evidenciando a necessidade de estratégias alternativas como o reposicionamento racional de fármacos (Nosengo, 2016; Ashburn e Thor, 2004).

Figura 24. Comparativo entre o desenvolvimento tradicional e o reposicionamento de fármacos



Comparativo entre o desenvolvimento tradicional de medicamentos (à direita) e o reposicionamento de fármacos (à esquerda), com base na relação entre risco e recompensa. O eixo horizontal representa o risco (probabilidade de falha no desenvolvimento do fármaco), sendo maior no desenvolvimento tradicional. O eixo vertical representa a recompensa (em termos de economia de tempo e custo), sendo maior no reposicionamento de fármacos, devido ao uso de compostos previamente aprovados com dados já disponíveis de segurança e farmacocinética. Fonte: Adaptado de Pushpakom *et al.* (2019).

Historicamente, diversos exemplos demonstram o sucesso dessa estratégia. Um caso clássico é o da talidomida, inicialmente desenvolvida como sedativo na década de 1950 e retirada do mercado por seus efeitos teratogênicos. Décadas depois, foi reposicionada com sucesso para o tratamento do mieloma múltiplo, após demonstração de sua atividade imunomoduladora e antiangiogênica (Singhal *et al.*, 1999). Outro exemplo amplamente citado é o do ácido acetilsalicílico (AAS), originalmente utilizado como analgésico e anti-inflamatório, que passou a ser indicado na prevenção de eventos

cardiovasculares e, mais recentemente, demonstrou efeito preventivo em certos tipos de câncer (Rothwell et al., 2011).

No cenário oncológico, o reposicionamento de fármacos ganhou destaque por possibilitar a exploração de compostos com perfis de segurança já conhecidos, o que facilita a transição para estudos clínicos em novas indicações. Essa vantagem é particularmente relevante em tipos de câncer refratários a terapias convencionais, como o CCU em estágio avançado.

Estudos recentes demonstraram que fármacos originalmente desenvolvidos para diabetes, como a metformina, ou para hipertensão, como os bloqueadores de canais de cálcio, possuem efeitos antiproliferativos em células tumorais e têm sido investigados como adjuvantes em terapias oncológicas (Verbaander et al., 2017; Hirsch et al., 2009) (Tabela 3).

Tabela 3. Exemplos de fármacos reposicionados com sucesso para novas indicações terapêuticas.

Fármaco	Indicação original	Nova Indicação
Amantadina	Influenza	Doença de Parkinson
Anfotericina B	Infecções fúngicas	Leishmaniose
Aspirina	Dor e inflamação	Antiplaquetário
Atomoxetina	Antidepressivo	Déficit de atenção e hiperatividade
Colchicina	Gota	Pericardites recorrentes
Gabapentina	Epilepsia	Dor neuropática
Metotrexato	Câncer	Artrite reumatoide, Psoríase
Miltefosina	Câncer	Leishmaniose
Propranolol	Hipertensão	Profilaxia da enxaqueca
Ácido retinoico	Acne	Leucemia promielocítica aguda
Ropinirole	Doença de Parkinson	Síndrome das pernas inquietas
Zidovudine	Câncer	HIV/AIDS

A tabela evidencia compostos inicialmente aprovados para usos distintos que, após reavaliação científica, foram empregados em novas patologias com eficácia comprovada. Esses casos reforçam a viabilidade clínica e o valor estratégico do reposicionamento de medicamentos. Fonte: Adaptado de Baldessarini (2005).

A convergência entre biotecnologia, bioinformática e bancos de dados farmacológicos tem impulsionado significativamente o campo do reposicionamento, abrindo caminho para abordagens cada vez mais refinadas, como o reposicionamento *in silico*.

2.2.1 Reposicionamento de fármacos *in silico*

O reposicionamento *in silico* refere-se ao uso de ferramentas computacionais para prever novas aplicações terapêuticas de fármacos já existentes, com base na análise de dados estruturais, genômicos, transcriptômicos e de interação molecular. Essa abordagem permite o rastreio de grandes bibliotecas químicas em tempo reduzido, identificando compostos candidatos a partir de similaridade estrutural, assinatura de expressão gênica, interação proteína-ligante e docking molecular (Li et al., 2015; Ekins et al., 2011).

Diferentemente de estratégias observacionais ou empíricas, alguns casos bem documentados demonstram o sucesso de reposicionamentos que tiveram início exclusivamente com abordagens computacionais. Um exemplo emblemático é o da halicina, identificada por algoritmos de inteligência artificial desenvolvidos pelo MIT. Inicialmente investigado para o tratamento de diabetes, o composto foi redescoberto por modelos preditivos como um potente antibiótico contra bactérias resistentes, representando um marco na aplicação de aprendizado de máquina ao reposicionamento racional (Stokes et al., 2020).

Outro caso relevante foi o reposicionamento do raloxifeno durante a pandemia de COVID-19. A partir de uma triagem *in silico* conduzida pelo consórcio europeu Exscalate4CoV, o raloxifeno, um modulador seletivo do receptor de estrogênio, foi identificado como potencial inibidor do SARS-CoV-2. Posteriormente, foi avaliado em um ensaio clínico randomizado, duplo-cego e controlado por placebo, conduzido na Itália. Os resultados preliminares sugeriram um perfil de segurança aceitável e indicaram benefício clínico em pacientes com COVID-19 leve a moderada, como redução da progressão da doença e carga viral, embora sem eficácia estatisticamente significativa comprovada para todos os desfechos (Bertolazzi et al., 2021; Nicastri et al., 2022).

Também merece destaque o trabalho de Ekins et al. (2011), que utilizaram modelos de aprendizado de máquina para rastrear compostos com atividade contra

Trypanosoma cruzi, agente etiológico da Doença de Chagas. A abordagem resultou na identificação da pyronaridina, um antimalárico com atividade validada *in vitro* e *in vivo*, reforçando o potencial das estratégias *in silico* no contexto de doenças negligenciadas.

No contexto do CCU, estudos precisam ser realizados para preencher essa lacuna e explorar o potencial de fármacos originalmente indicados para outras doenças, utilizando metodologias *in silico* para identificar compostos com afinidade por proteínas envolvidas na resistência terapêutica. A integração de dados de expressão diferencial, ontologias gênicas e modelagem estrutural permite a priorização de alvos moleculares como RASSF2 e PNMA3 foco deste estudo.

2.2.2 Abordagens Computacionais: Docking e Dinâmica Molecular

Segundo Ferreira et al. (2015), os avanços em modelagem molecular têm contribuído significativamente para acelerar a identificação de candidatos terapêuticos, sobretudo em contextos oncológicos de resistência terapêutica, como observado no CCU.

O reposicionamento racional de compostos aprovados tem se mostrado uma estratégia promissora diante dos altos índices de falha terapêutica e mortalidade associados à resistência à quimiorradioterapia (Pushpakom et al., 2019; Zhang et al., 2023). Nesse cenário, a combinação de docking molecular e dinâmica molecular (MD) em ambiente de modelagem estruturada, como o MOE (Molecular Operating Environment), permite explorar com alta precisão o comportamento físico-químico das interações proteína-ligante e prever o potencial de ligação com alvos de relevância clínica. O MOE oferece uma plataforma robusta e integrada para triagem virtual, otimização conformacional e análise energética, sendo amplamente adotado em estudos com validação experimental e translacional.

Um exemplo marcante é o estudo de Smith et al. (2019), que utilizaram a ferramenta de docking molecular BUDE para rastrear uma biblioteca de mais de 8 milhões de compostos, identificando o composto CPD3.1 como um potencial inibidor da interação YAP–TEAD. Este composto demonstrou capacidade de interromper esta interação, inibir a atividade do TEAD, reduzir a proliferação celular e a migração em células tumorais.

De modo semelhante, estudos de reposicionamento de fármacos para glioblastoma têm explorado abordagens *in silico* com auxílio de plataformas como o MOE, visando identificar compostos capazes de modular alvos moleculares específicos. Segundo Bai et al. (2011), o mebendazol foi reposicionado com sucesso para glioblastoma a partir de análises estruturais que demonstraram sua afinidade com a tubulina, sendo posteriormente validado em modelos pré-clínicos. Esses resultados destacam o potencial do reposicionamento racional guiado por modelagem molecular e reforçam como a aplicação de ferramentas como o MOE em estratégias de reposicionamento farmacológico pode integrar modelagem molecular com validação experimental, fornecendo evidências robustas para a seleção racional de candidatos terapêuticos.

Estudos demonstram que o estado protônico, o tautômero predominante e a quiralidade dos ligantes afetam diretamente a energia de ligação e a geometria do encaixe molecular, sendo ajustes cruciais para evitar artefatos estruturais que poderiam comprometer a acurácia preditiva do docking (Kitchen et al., 2004; Sousa et al., 2006). A falha em considerar corretamente o estado protônico pode levar a distorções nas interações de ligação, prejudicando comparações entre compostos e comprometendo a triagem virtual (Sastry et al., 2013). Além disso, a normalização estereoquímica promovida pela função *Wash* é indispensável, considerando que pequenas variações na quiralidade dos ligantes podem levar a grandes diferenças na afinidade de ligação (Kitchen et al., 2004).

A padronização estrutural fornecida por esse módulo do MOE confere maior robustez e reprodutibilidade às etapas subsequentes de triagem virtual e dinâmica molecular, sendo amplamente adotada em estudos de reposicionamento de fármacos (Pushpakom et al., 2019; Lounkine et al., 2012).

Estudos prévios demonstraram que fármacos reposicionados como o celecoxibe (Kurumbail et al., 1996) o triclabendazol (Turanli et al., 2018) e a metformina (Hirsch et al., 2009) foram corretamente avaliados por métodos semelhantes em triagens estruturais, com resultados posteriormente validados por ensaios celulares e clínicos.

ARTIGO

Drug Repurposing Through Molecular Docking Targeting PNMA3 and RASSF2 Proteins Associated with Chemoresistance in Cervical Cancer

Larissa Paula de Carvalho Ferreira^{1,2}, Fábio Ribeiro Queiroz², Angelo Borges de Melo Neto^{1,2}, Bruna Custódio Dias Duarte^{1,2}, Matheus de Souza Gomes¹, Paulo Guilherme de Oliveira Salles^{2,3}, Laurence Rodrigues do Amaral¹, Letícia da Conceição Braga².

¹Laboratório de Bioinformática e Análises Moleculares, Universidade Federal de Uberlândia, Patos de Minas, MG, Brasil; ²Laboratório de Pesquisa Translacional em Oncologia, Instituto Mário Penna, Belo Horizonte, MG, Brasil; ³Hospital Luxemburgo, Instituto Mário Penna, Belo Horizonte, MG, Brasil.

Abstract

Cervical cancer (CC) remains one of the most lethal malignancies among women, particularly in low- and middle-income countries. Its primary etiology is associated with persistent infection by oncogenic human papillomavirus (HPV) genotypes. Worsening this scenario, chemoradiotherapy resistance in certain patients remains a significant clinical challenge. Previous transcriptomic studies identified the overexpression of RASSF2 and PNMA3 genes in non-responsive patients, raising the hypothesis that PNMA3 might disrupt the association between RASSF2 and MST1/MST2 kinases, which are critical components of the Hippo apoptotic pathway. This study aimed to investigate, through structural bioinformatics approaches, whether PNMA3 and RASSF2 interact, and if so, to identify the interaction site and assess its impact on Hippo pathway activation. Rational drug repositioning was also explored as a strategy to modulate or block this interaction. Three-dimensional models of PNMA3 and RASSF2 were obtained from public databases, and a drug library was generated through systematic filtering of the ChEMBL database. Protein–protein and protein–ligand docking analyses, followed by molecular dynamics simulations, were performed using the MOE software, with subsequent data processing in R. The results indicated that PNMA3 forms a strong and stable interaction with RASSF2 at the SARA domain, potentially impairing apoptotic signaling. Virtual screening revealed compounds with differential selectivity. Among the

candidates, Nebivolol stood out as the most promising, exhibiting high affinity for PNMA3 ($S = -9.42$ kcal/mol) and no significant interaction with RASSF2, supporting its potential to selectively disrupt this pathological interaction. In this context, rational drug repositioning emerges as a promising strategy to design alternative therapeutic approaches to overcome resistance in cervical cancer.

Keywords: cervical cancer; therapeutic resistance; PNMA3; RASSF2; Hippo pathway; drug repositioning.

Introduction

Cervical cancer (CC) remains one of the leading causes of cancer-related mortality among women in Brazil and worldwide, with a disproportionate burden in low- and middle-income countries. In these regions, socioeconomic barriers limit access to preventive measures and early diagnosis, contributing to persistently high incidence and mortality rates (WHO, 2021; BRASIL, 2022). Persistent infection with oncogenic genotypes of human papillomavirus (HPV), particularly types 16 and 18, is the primary etiological factor in CC, promoting carcinogenesis through viral DNA integration into the host genome and the induction of progressive cellular alterations (Doorbar et al., 2012).

Despite advances in HPV vaccination and cytological screening, the prognosis remains unfavorable for patients diagnosed at advanced stages or those who develop resistance to standard treatment (Santos et al., 2023). For locally advanced CC, the standard therapeutic approach involves platinum-based chemotherapy combined with radiotherapy. However, a significant proportion of patients exhibit resistance, as evidenced by early relapse or tumor progression during therapy (Zhang et al., 2022).

The molecular basis of such refractoriness is complex and multifactorial, involving epigenetic alterations, suppression of apoptotic pathways, and changes in the tumor microenvironment. Among these mechanisms, apoptosis evasion stands out as a key contributor, underscoring the need to identify molecular targets and biomarkers that can explain and potentially reverse this resistance.

Recent transcriptomic analyses have revealed that the genes RASSF2 and PNMA3 are concurrently overexpressed in patients who fail to respond to chemoradiotherapy (Melo Neto, 2022), suggesting a possible synergistic role in promoting therapy resistance. RASSF2 is a well-characterized tumor suppressor that participates in the Hippo signaling pathway by activating the MST1 and MST2 kinases through its SARAH domain, thereby promoting apoptosis (Harvey & Hariharan, 2012). Although extensively studied in other cancers, the function of RASSF2 in CC remains underexplored, especially in the context of its therapeutic modulation.

In contrast, the overexpression of PNMA3 in cervical cancer is an unexpected and biologically intriguing finding. Traditionally classified as a paraneoplastic antigen with expression restricted to the central nervous system, PNMA3 has been associated with autoimmune responses in paraneoplastic neurological syndromes and, possibly, with neuroectodermal tumors (Schüller, Jenne & Voltz, 2005; Wills et al., 2006). Its aberrant expression in cervical tumor tissue suggests transcriptional dysregulation and the acquisition of oncogenic properties that remain poorly understood.

Based on this evidence, the present study aims to investigate whether PNMA3 physically interacts with RASSF2, potentially blocking its association with MST1/MST2 and suppressing the Hippo pathway, thereby contributing to therapeutic resistance through the inhibition of apoptosis. In this scenario, drug repurposing represents a promising approach for identifying effective treatments for chemoradiotherapy-refractory CC, leveraging existing, approved compounds with known safety profiles to reduce the cost and time associated with drug development (Ashburn & Thor, 2004; Pushpakom et al., 2019).

By integrating molecular modeling, virtual screening, and molecular dynamics simulations, it is possible to evaluate protein–protein and protein–ligand interactions *in silico*, even in the absence of experimentally resolved structures. This computational strategy enables the rational identification of candidate compounds capable of selectively targeting PNMA3.

Therefore, this study proposes a structural bioinformatics workflow to assess whether PNMA3 overexpression disrupts the interaction between RASSF2 and MST1/MST2, leading to inactivation of the Hippo pathway and resistance to apoptosis. Based on this

mechanistic hypothesis, the project further aims to identify repurposed drugs that selectively bind to PNMA3 and could restore RASSF2-mediated activation of Hippo signaling, re-sensitizing tumor cells to apoptosis and improving treatment outcomes.

Materials and Methods

This study was conducted using pre-processed and anonymized transcriptome data from patients with cervical cancer, obtained with institutional authorization from the Instituto Mário Penna (Approval No. 5215479 – SEI 23117.014623/2024-33). Based on prior findings that identified *RASSF2* and *PNMA3* as potentially relevant genes in therapy-resistant profiles, the present work aimed to investigate their possible protein–protein interactions and evaluate the therapeutic potential of drug repositioning strategies targeting this interaction.

The structural modeling and docking analyses were carried out using a combination of in silico techniques, including protein–protein and protein–ligand docking, virtual screening, molecular dynamics simulations, and affinity-based drug filtering. Predicted structures for RASSF2 (UniProt ID: P50749) and PNMA3 (UniProt ID: Q9UL41) were obtained from the AlphaFold database. Structure preparation was conducted in MOE (Chemical Computing Group, version 2022.02) using the QuickPrep module under default parameters. Model validation was performed with the tools VERIFY3D, ERRAT, and PROVE.

For docking analyses, five structural regions were considered for RASSF2: the canonical RAS and SARAH domains as reported in the literature, and three additional binding pockets predicted using the MOE Site Finder tool. For PNMA3, the annotated Zinc Finger domain (residues 412–429) and three Site Finder-predicted cavities were included.

To explore potential protein–protein interaction between PNMA3 and RASSF2, a blind docking strategy was applied using MOE. RASSF2 was defined as the rigid receptor, while PNMA3 was treated as a flexible ligand. Docking simulations were conducted under physiological pH using the MMFF94x force field, and energy minimization was applied before and after docking.

The small molecule library was curated from the ChEMBL database using the following filters: clinical status "approved," molecular weight between 180 and 500 Da, no more than one Lipinski's Rule of Five violation, and documented bioactivity. After filtering, a final drug library was compiled for docking purposes.

Each compound was docked individually against each defined structural region of both

PNMA3 and RASSF2. Protocol validation was performed using a redocking experiment with HIV-1 protease (PDB ID: 1HVR) and the known ligand Amprenavir, to assess the accuracy of pose prediction.

Molecular dynamics (MD) simulations were conducted in MOE to assess the structural stability of protein–protein and protein–ligand complexes under standard conditions (explicit TIP3P solvent model, Na⁺/Cl[−] ions for neutralization, 300 K, 1 atm). Each simulation ran for 100 nanoseconds, with frames saved every 10 picoseconds. Finally, output tables from each docking simulation were processed in R. Compounds were filtered based on binding score thresholds for PNMA3 and RASSF2 to identify candidates with high selectivity toward PNMA3 and minimal interaction with RASSF2.

Results

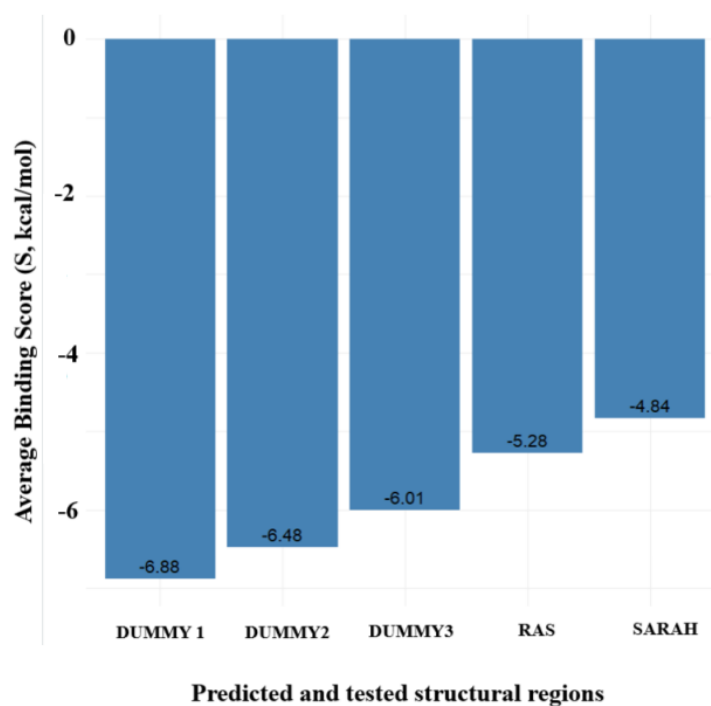
Redocking and Protocol Validation

To validate the molecular docking protocol, a redocking simulation of Amprenavir with HIV-1 protease (PDB ID: 1HVR) was performed using the same parameters applied throughout the study. The ligand was repositioned into the enzyme’s active site, and the five best-ranked poses were analyzed. The top result yielded a binding score (S) of −9.14 kcal/mol and an RMSD of 1.19 Å compared to the crystallographic reference, falling within the acceptable threshold (< 2.0 Å) and confirming the protocol’s predictive reliability.

Binding Pocket Selection

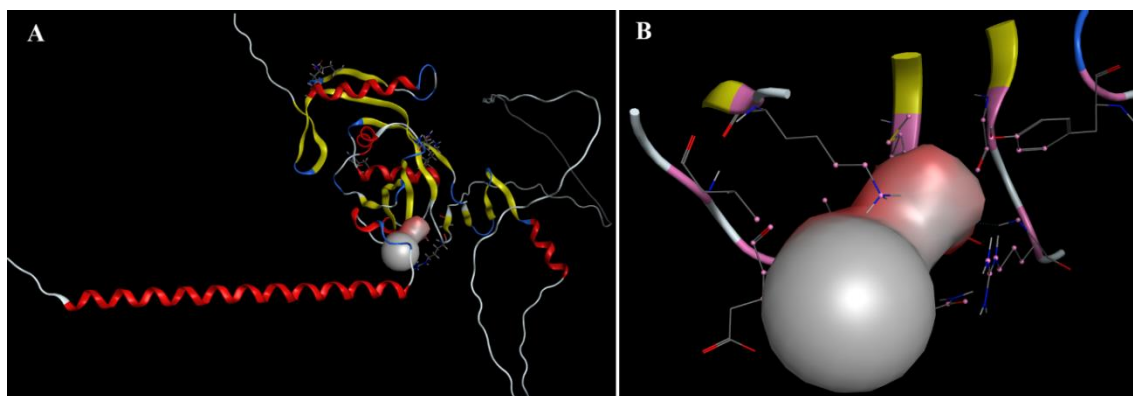
Among the structural regions selected on the RASSF2 protein for docking with the approved drug library, the pocket identified by MOE’s Site Finder yielded the most favorable average binding score (−6.88 kcal/mol), suggesting strong ligand affinity. In contrast, the SARAH domain—despite its well-established functional role in Hippo signaling—exhibited a higher average score (−4.84 kcal/mol), indicating a lower potential for stable interactions. These results are summarized in Figure 1, and the three-dimensional configuration and surface accessibility of the top-ranked binding site are depicted in Figure 2.

Figure 1. Binding affinity profile of RASSF2 across structural regions.



Bar plot showing average docking scores for RASSF2 across five structural regions (RAS, SARAH, DUMMIE1–3). DUMMIE1 showed the strongest affinity (−6.88 kcal/mol), while SARAH exhibited the weakest.

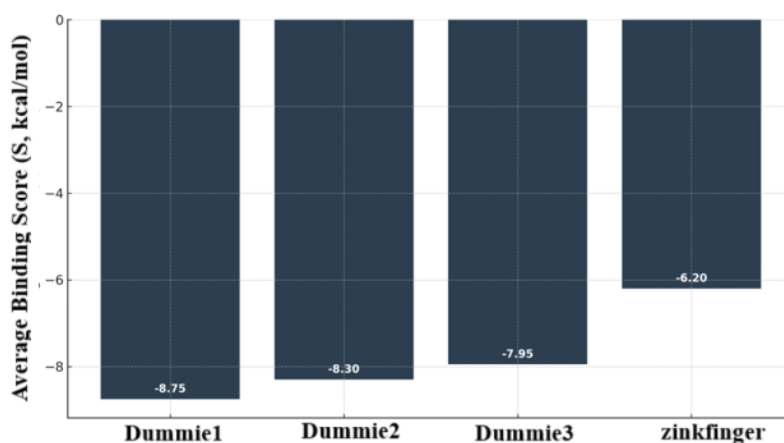
Figure 2. Structural characterization of the DUMMIE1 region in RASSF2.



(A) Full protein with DUMMIE1 cavity highlighted. (B) Close-up of the binding pocket and its 32 key residues involved in ligand interaction.

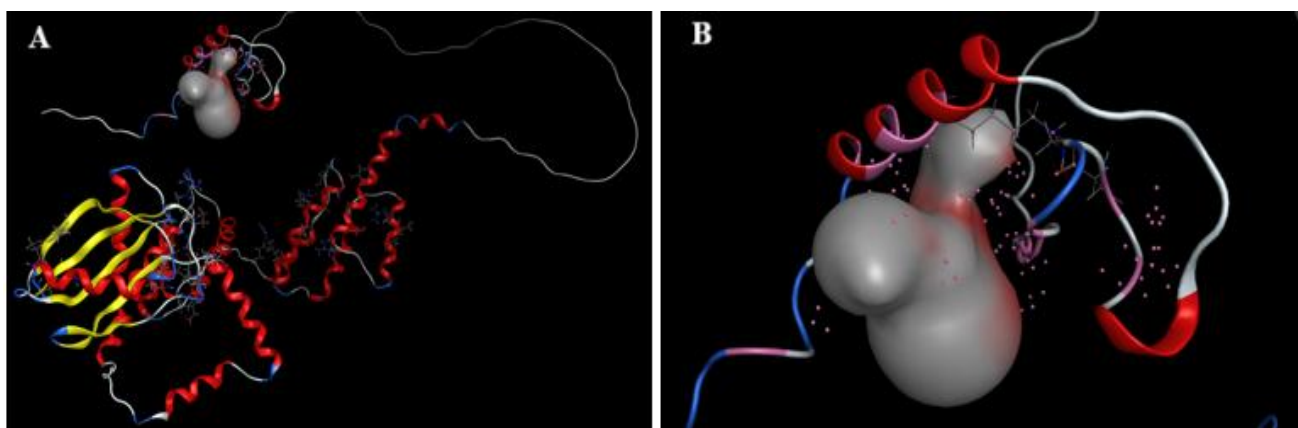
Similarly, for PNMA3, the best-performing region achieved an average score of -8.75 kcal/mol, outperforming DUMMIE2, DUMMIE3, and the canonical Zinc Finger domain (-6.20 kcal/mol), as shown in Figure 3. Structural analysis of this region, presented in Figure 4, revealed a solvent-accessible cavity with favorable topology, comprising 14 key residues, reinforcing its potential as a high-affinity drug-binding site.

Figure 3. Comparative binding affinity across structural regions of PNMA3.



Bar plot summarizing docking scores for PNMA3 across four regions: DUMMIE1–3 and Zinc Finger. DUMMIE1 presented the most favorable score (-8.75 kcal/mol).

Figure 4. Three-dimensional representation of the DUMMIE1 binding site in PNMA3.



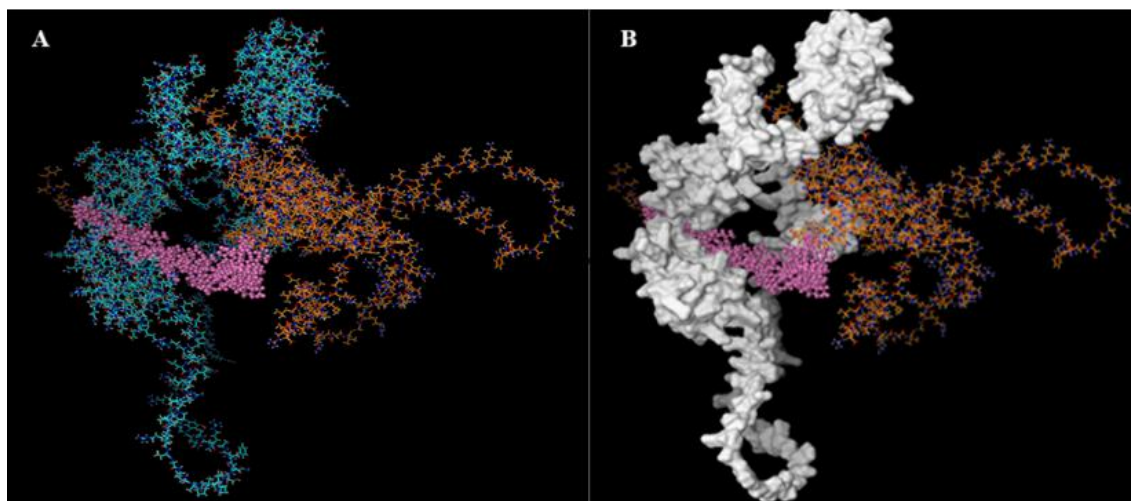
(A) Protein structure with highlighted DUMMIE1 cavity. (B) Enlarged view detailing 14 residues forming the binding pocket.

PNMA3–RASSF2: PPI Interaction

A blind docking strategy was employed to investigate the potential interaction interface between PNMA3 and RASSF2, allowing PNMA3 to explore the entire surface of the RASSF2 protein without predefined constraints. The results indicated that PNMA3 preferentially binds to the SARAH domain, reinforcing the hypothesis that this domain functions as the principal site of molecular recognition between the two proteins.

PNMA3 was observed to insert deeply into a structural groove located on the surface of RASSF2, establishing multiple specific intermolecular contacts with key residues, as shown in Figure 5A. A complementary volumetric surface rendering (Figure 5B) revealed a significant topological overlap at the binding interface, suggesting a steric hindrance mechanism that may prevent the recruitment of MST1/MST2 kinases to RASSF2.

Figure 5. Structural interaction between PNMA3 and RASSF2 with emphasis on the SARAH domain.



(A) Stick model showing protein–protein interaction, with SARAH in pink. (B) Surface rendering suggesting steric overlap that may block MST1/MST2 recruitment.

Table 1 summarizes the residue–residue contacts observed in the docked complex, including interaction types, residue positions, binding energies, and interatomic distances. Notably, the interaction between Lys304 (RASSF2) and Asp181 (PNMA3) exhibited the most favorable binding energy (−14.77 kcal/mol), indicating a strong stabilizing contribution to complex formation.

Table 1. Intermolecular residue interactions between PNMA3 and RASSF2.

Type	ChainA	PosA	SetA	ChainB	PosB	SetB	Energy	Dist
A	2-RASSF2.A	5	His5	1-PNMA3.A	99	Asp99	-0.70	3.68
I	2-RASSF2.A	45	Glu45	1-PNMA3.A	94	Lys94	-1.70	3.55
I	2-RASSF2.A	48	Asp48	1-PNMA3.A	94	Lys94	-0.62	3.94
H	2-RASSF2.A	296	Arg296	1-PNMA3.A	270	Arg270	-2.30	3.05
IH	2-RASSF2.A	304	Lys304	1-PNMA3.A	181	Asp181	-14.77	3.08
H	2-RASSF2.A	311	Met311	1-PNMA3.A	243	Val243	-1.70	3.68

Summary of specific residue interactions between RASSF2 and PNMA3 protein chains modeled from docking. Includes interaction type, residues involved, interaction energy (kcal/mol), and interatomic distance (Å). The Lys304–Asp181 pair exhibited the strongest energy contribution (−14.77 kcal/mol). Interaction types are denoted in the TYPE column and include ionic interactions (I), which occur between oppositely charged side chains such as lysine and aspartate; hydrogen bonds (H), characterized by the sharing of a hydrogen atom between electronegative donors and acceptors; and hydrophobic interactions (A), which involve nonpolar side chains clustering to minimize solvent exposure. In some cases, both ionic and hydrogen bonding (IH) were observed simultaneously, indicating a particularly strong and specific interaction. These interaction categories help clarify the physicochemical nature of the PNMA3–RASSF2 interface and support the structural stability and potential functional relevance of the complex within apoptotic signaling pathways.

Molecular Dynamics Simulation of the PNMA3–RASSF2 Complex

To evaluate the conformational stability of the PNMA3–RASSF2 complex under near-physiological conditions, a 100-nanosecond molecular dynamics (MD) simulation was conducted using MOE. The system was prepared with an explicit TIP3P water model, neutralized with Na⁺/Cl[−] ions, and simulated under standard conditions (300 K, 1 atm). Trajectories were recorded every 10 picoseconds during the production phase.

The simulation revealed a thermodynamically stable profile for the complex, with no evidence of dissociation or structural collapse. Temperature (T) remained tightly controlled throughout the run, ranging from 298.6 to 301.8 K, validating the effectiveness of the thermostat and excluding thermal artifacts that could compromise protein–protein interactions.

Total potential energy (U) steadily decreased and stabilized between −1,088,495 and −1,110,253 kcal/mol, indicating a progressively favorable energetic state. Van der Waals and electrostatic contributions (U_a) followed a similar trend, suggesting persistent attractive forces anchoring the complex.

While pressure (P) fluctuated from 98 to 248 atm, as expected under explicit solvent and NPT ensemble conditions, no abrupt transitions were observed, indicating volumetric and

structural consistency. System volume (V) ranged from 2970 to 3100 nm³, consistent with physiological isotropic expansion.

The RMSD values, which quantify atomic deviations from the initial structure, showed clear convergence after approximately 600–700 ps, stabilizing thereafter. This plateau indicates that the PNMA3–RASSF2 complex reached conformational equilibrium, maintaining local flexibility without compromising key interaction interfaces. Additional parameters such as atomic velocity and box dimensions remained consistent, with no significant distortions.

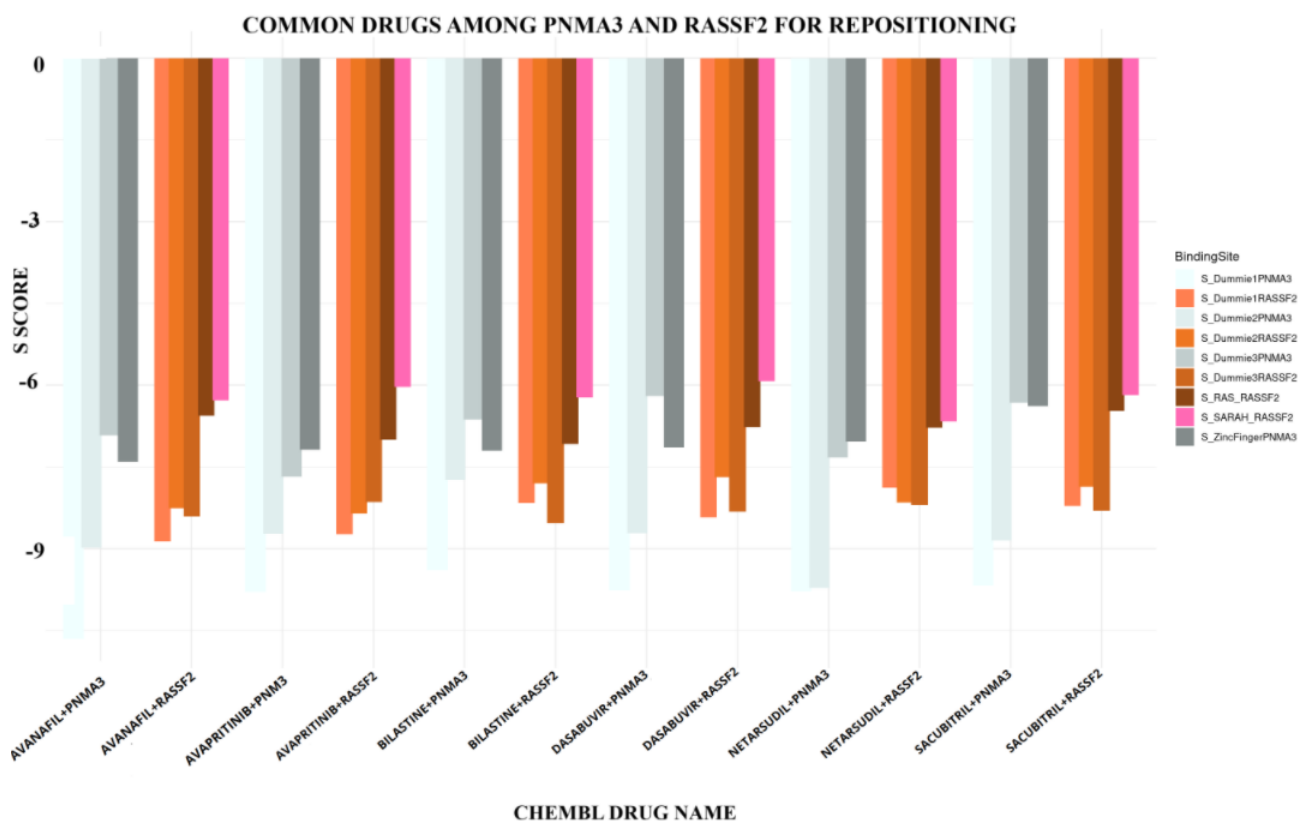
Collectively, these results confirm that the PNMA3–RASSF2 complex retains structural integrity and dynamic stability throughout the 100 ns trajectory. These findings reinforce the docking predictions of a strong, specific interaction, particularly at the SARAH domain of RASSF2. The MD data strongly support the hypothesis that PNMA3 can stably bind and potentially sequester RASSF2, preventing its association with MST1/2 kinases and thereby impairing Hippo pathway activation, a mechanism that may underlie apoptotic resistance in cervical cancer. Notably, the absence of conformational drift, cavity collapse, or dissociation during the simulation validates the biophysical plausibility of the modeled complex.

Comparative Ligand Analysis and Identification of Selective Inhibitors

To identify potential selective inhibitors of PNMA3, a three-stage *in silico* strategy was employed. First, molecular docking results across all predefined structural regions of PNMA3 (Zinc Finger, DUMMIE1–3) and RASSF2 (SARAH, RAS, DUMMIE1–3) were analyzed using R. The top ten ligands from each region, with binding scores (S) ≤ -7.5 kcal/mol, were grouped according to their selectivity profiles: (i) compounds with strong affinity for both proteins and (ii) compounds with high affinity exclusively for PNMA3 or RASSF2.

As shown in Figure 6, compounds such as Avanafil, Netarsudil, and Sacubitril were frequently ranked among the top hits for both PNMA3 and RASSF2, indicating a non-selective binding profile. These molecules, while thermodynamically favorable, also interacted with the SARAH domain of RASSF2, a critical site for pro-apoptotic Hippo signaling, making them unsuitable for disrupting the PNMA3–RASSF2 interaction without unintended functional consequences.

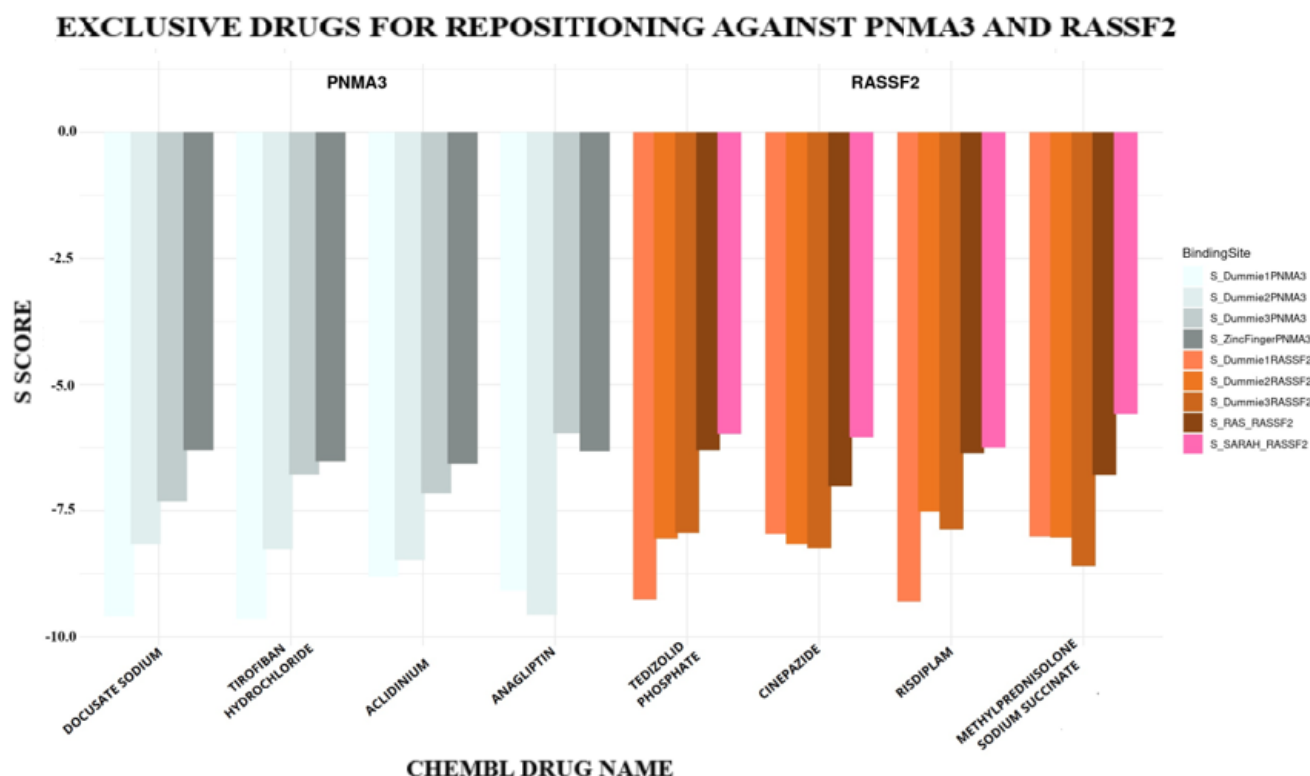
Figure 6. Comparative binding profiles of shared repositioning candidates targeting *PNMA3* and *RASSF2*.



Bar plot showing docking scores of drugs like Avanafil and Netarsudil, which bind strongly to both proteins, indicating non-selective interaction.

Conversely, Figure 7 highlights a subset of compounds, including Docusate sodium, Acridinium, Anagliptin, and Nebivolol, that demonstrated strong binding to PNMA3 ($S \leq -9.0$ kcal/mol) but weak or negligible affinity for RASSF2 across all structural regions ($S \geq -6.0$ kcal/mol).

Figure 7. Binding profiles of exclusive repositioning candidates targeting PNMA3 or RASSF2.



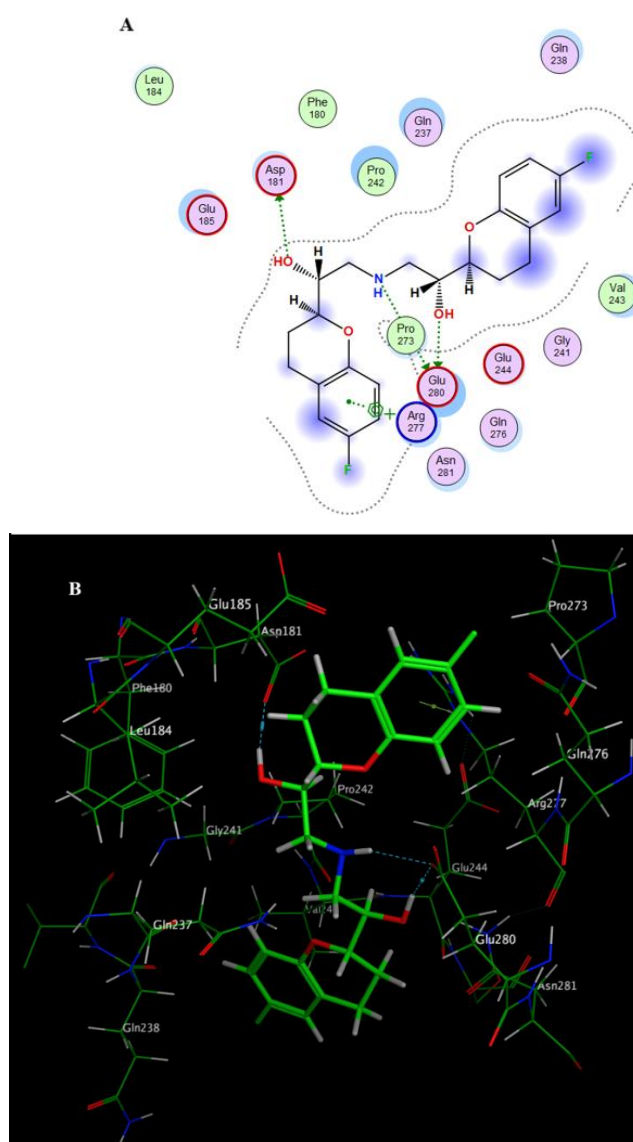
Bar plot of ligands with selective affinity. Nebivolol and Acridinium showed specificity for PNMA3; Tedizolid and Cinepazide for RASSF2.

A third analytical layer was introduced to refine the selection of candidate inhibitors targeting PNMA3. Blind docking simulations were conducted across the entire molecular surfaces of PNMA3 and RASSF2, unconstrained by predefined binding pockets. The goal was to evaluate whether any high-affinity ligands bound near the protein–protein interaction (PPI) interface previously identified between PNMA3 and the SARAH domain of RASSF2. Notably, Nebivolol demonstrated a robust binding affinity ($S = -9.42$ kcal/mol) to a solvent-accessible, topographically favorable region of PNMA3 that spatially overlapped the predicted interaction surface. In contrast, no significant interaction was observed between Nebivolol and RASSF2, including its functional SARAH and RAS domains.

Figures 8A and 8B depict the intermolecular interactions of the PNMA3–Nebivolol complex in two and three dimensions, respectively. The 2D schematic (Figure 8A) reveals a rich interaction network: Nebivolol forms hydrogen bonds with Asp181, Glu280, and

Pro273, alongside a strong electrostatic interaction with Arg277. Additional polar contacts involve Glu244, Pro242, and Gln276, creating a chemically favorable environment for ligand stabilization. The 3D visualization (Figure 8B) highlights Nebivolol's optimal fit within a structurally defined cavity, exhibiting excellent shape complementarity and precise cavity occupation. This pocket, enriched in polar and charged residues, supports both the stability of the interaction and the potential for allosteric modulation of PNMA3 function.

Figure 8. Molecular interactions between Nebivolol and PNMA3.



(A)Two-dimensional schematic representation of the binding interactions. Nebivolol forms hydrogen bonds with Asp181, Glu280, and Pro273 (green dashed lines), and an electrostatic interaction with Arg277.

The binding cavity is enriched with polar and charged residues (e.g., Glu244, Asn281), offering a chemically favorable environment for ligand anchoring. **(B)** Three-dimensional visualization of Nebivolol (in green) docked within the DUMMIE1 site of PNMA3. Key interacting residues are shown in stick representation and labeled. Hydrogen bonds are indicated by blue dashed lines. The spatial arrangement highlights strong shape complementarity and optimal positioning of Nebivolol within the pocket.

Critically, Asp181, a residue previously implicated in mediating the PNMA3–RASSF2 interface, is directly involved in hydrogen bonding with Nebivolol. This observation suggests that the compound may sterically hinder complex formation, preventing PNMA3 from sequestering RASSF2 and thereby restoring RASSF2's ability to interact with MST1/2 kinases and activate the Hippo pathway.

Importantly, across all tested docking regions of RASSF2 (RAS, SARAH, DUMMIE1–3), Nebivolol consistently yielded binding scores above -6.0 kcal/mol, indicating thermodynamically unfavorable or unstable interactions. The absence of interaction in the SARAH domain is particularly significant, as it confirms that Nebivolol does not interfere with the apoptotic signaling cascade mediated by RASSF2.

From a pharmacological standpoint, Nebivolol is a clinically approved β 1-adrenergic receptor antagonist with a well-established safety and pharmacokinetic profile. Its nitric oxide-potentiating vasodilatory properties are well documented in cardiovascular medicine, providing a solid translational basis for its repurposing. The combination of its structural selectivity, thermodynamic stability, and clinical viability makes Nebivolol a compelling candidate for further exploration in oncology, particularly for tumors exhibiting PNMA3 overexpression and resistance to apoptosis.

In summary, Nebivolol emerges as a structurally and functionally selective inhibitor of PNMA3. By targeting a functionally relevant interface without engaging RASSF2, it holds promise for reactivating Hippo pathway signaling in therapy-resistant cervical cancer cells.

Discussion

The findings presented in this study are consistent with current literature regarding the regulation of the Hippo signaling pathway and the molecular mechanisms underlying apoptotic evasion in cervical cancer (CC), particularly in the context of resistance to

chemoradiotherapy. Previous studies have established the role of RASSF2 as a critical mediator of MST1/MST2 kinase activation through its SARAH domain (Matallanas et al., 2007; Fallahi et al., 2016). In this context, the steric hindrance of this domain by PNMA3, as demonstrated in the simulations conducted herein, reinforces the hypothesis that PNMA3 overexpression in non-responsive patients directly impairs the formation of the RASSF2–MST2 complex, thereby disrupting pro-apoptotic Hippo signaling.

This functional blockade is further supported by previously published crystallographic data, which describe the SARAH domain as a highly conserved region crucial for dimerization between RASSF2 and MST1/MST2 (Guo et al., 2019). The topological overlap of contact residues identified in PNMA3–RASSF2 and RASSF2–MST2 interactions suggests a competitive mechanism in which PNMA3 acts as a direct inhibitor of this functional interface. This observation aligns with studies linking Hippo pathway dysregulation to aggressive, treatment-resistant tumor phenotypes (Harvey et al., 2013). Within this framework, the identification of compounds with selective affinity for PNMA3 and minimal interaction with RASSF2 emerges as a promising strategy for therapeutic drug repositioning.

Conclusion

This study presents preliminary evidence supporting the hypothesis that PNMA3 overexpression contributes to apoptotic evasion in cervical cancer (CC) by interfering with the formation of the functional complex between RASSF2 and MST1/MST2 kinases. The *in silico* analyses indicated that PNMA3 can bind with high affinity to the SARAH domain of RASSF2, occupying a critical interface required for activation of the Hippo signaling pathway. Additionally, the comparative screening of approved drugs identified Nebivolol as the leading candidate for selectively modulating the PNMA3–RASSF2 interaction. This compound exhibited strong binding affinity to PNMA3 ($S = -9.42$ kcal/mol) and minimal interaction with RASSF2, including in key functional regions such as the SARAH domain, reinforcing its feasibility as a targeted therapeutic agent. Taken together, the data presented here not only elucidate a potential mechanism of therapeutic resistance in CC patients but also propose a promising candidate for rational drug repositioning. Nebivolol emerges as a highly selective therapeutic alternative, with the potential to restore apoptotic signaling and reverse refractory disease phenotypes. These findings are expected to encourage future experimental and clinical studies aimed at validating the functional efficacy of this innovative strategy in the

oncological setting.

Acknowledgments

The author gratefully acknowledges the institutional and scientific support provided by Instituto Mário Penna throughout the development of this research. Sincere thanks are also extended to all collaborators from the Federal University of Uberlândia (UFU) for their valuable contributions and continued encouragement. The author also expresses deep appreciation for the financial support received from the Coordination for the Improvement of Higher Education Personnel (CAPES), the Brazilian Ministry of Health through the National Program to Support Oncology Care – Pronon (NUP: 25000.159953/2014-18 and NUP: 25000.079266/2015-09), the Research Support Foundation of the State of Minas Gerais (FAPEMIG; APQ-02255-22), and the Minas Gerais Network for Translational Oncology Research (RED 00059-23), which made this work possible

References

Ashburn, T. T., & Thor, K. B. (2004). Drug repositioning: Identifying and developing new uses for existing drugs. *Nature Reviews Drug Discovery*, 3(8), 673–683. <https://doi.org/10.1038/nrd1468>

Aylon, Y., & Oren, M. (2013). The Hippo signaling pathway and cancer: From basic mechanisms to therapeutic opportunities. In M. Oren & Y. Aylon (Eds.), *The Hippo Signaling Pathway and Cancer* (pp. 1–15). Springer.

Bai, R. Y., Staedtke, V., Wanjiku, T., Rudek, M. A., Joshi, A. D., Gallia, G. L., ... & Lattera, J. (2011). Antiparasitic mebendazole shows survival benefit in 2 preclinical models of glioblastoma multiforme. *Neuro-Oncology*, 13(9), 974–982. <https://doi.org/10.1093/neuonc/nor077>

Baldessarini, R. J. (2005). *Chemotherapy in psychiatry: Pharmacologic basis of treatments for major mental illness*. Harvard University Press.

Barreiro, E. J., & Ecker, A. (2006). Drug design strategies for molecular docking and dynamics. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*, 42(4), 529–538.

Bertolazzi, S., Petrone, P. M., Silvestri, R., Francescangeli, O., & D'Abramo, M. (2021). The computational pipeline Exscalate4CoV identifies raloxifene as a potential COVID-19 treatment. *Computational and Structural Biotechnology Journal*, 19, 2321–2330.

Brasil, Ministério da Saúde, Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva. (2021). *Estimativa 2022: Incidência de câncer no Brasil*. INCA. <https://www.inca.gov.br/publicacoes/livros/estimativa-2022-incidencia-de-cancer-no-brasil>

Brown, A. S., & Superti-Furga, G. (2003). *Rediscovering drug discovery with chemical*

biology. *Nature Chemical Biology*, 9, 411–415.

Bruni, L., Diaz, M., Barrionuevo-Rosas, L., Herrero, R., Bray, F., Bosch, F. X., ... & de Sanjosé, S. (2016). Global estimates of human papillomavirus vaccination coverage by region and income level: A pooled analysis. *The Lancet Global Health*, 4(7), e453–e463. [https://doi.org/10.1016/S2214-109X\(16\)30099-7](https://doi.org/10.1016/S2214-109X(16)30099-7)

Clark, J., Freeman, J., & Donninger, H. (2012). Loss of RASSF2 enhances tumorigenicity of lung cancer cells and confers resistance to chemotherapy. *Molecular Biology International*, 2012, Article ID 705948. <https://doi.org/10.1155/2012/705948>

Chemical Computing Group. (2023). MOE (Molecular Operating Environment) User Manual. <https://www.chemcomp.com>

Chino, J., Annunziata, C. M., Beriwal, S., Bradfield, L., Erickson, B., Fields, E. C., ... & Viswanathan, A. N. (2020). Radiation therapy for cervical cancer: Executive summary of an ASTRO clinical practice guideline. *Practical Radiation Oncology*, 10(4), 220–234. <https://doi.org/10.1016/j.prro.2020.04.002>

Cooper, W. N., Dickinson, R. E., Dallol, A., Gründel, C., Chusanov, V., Harada, T., ... & Latif, F. (2009). RASSF2 associates with and stabilizes the proapoptotic kinase MST2. *Oncogene*, 28(33), 2988–2998. <https://doi.org/10.1038/onc.2009.152>

Dalmau, J., Gultekin, S. H., Posner, J. B., & Rosenfeld, M. R. (1999). Ma1, a novel neuron- and testis-specific protein, is recognized by the serum of patients with paraneoplastic neurological disorders. *Brain*, 122(1), 27–39. <https://doi.org/10.1093/brain/122.1.27>

DiMasi, J. A., Grabowski, H. G., & Hansen, R. W. (2016). Innovation in the pharmaceutical industry: New estimates of R&D costs. *Journal of Health Economics*, 47, 20–33. <https://doi.org/10.1016/j.jhealeco.2016.01.012>

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. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2012.06.083>

Elmore, S. (2007). Apoptosis: A review of programmed cell death. *Toxicologic Pathology*, 35(4), 495–516. <https://doi.org/10.1080/01926230701320337>

Eisenberg, D., Lüthy, R., & Bowie, J. U. (1997). VERIFY3D: Assessment of protein models with three-dimensional profiles. *Methods in Enzymology*, 277, 396–404.

Ekins, S., Williams, A. J., Krasowski, M. D., & Freundlich, J. S. (2011). In silico repositioning of approved drugs for rare and neglected diseases. *Drug Discovery Today*, 16(7–8), 298–310.

Fallahi, E., O'Driscoll, N. A., & Matallanas, D. (2016). The MST/Hippo pathway and cell death: A non-canonical affair. *Genes*, 7(6), 28. <https://doi.org/10.3390/genes7060028>

Ferreira, L. G., dos Santos, R. N., Oliva, G., & Andricopulo, A. D. (2015). Molecular docking and structure-based drug design strategies. *Molecules*, 20(7), 13384–13421. <https://doi.org/10.3390/molecules200713384>

Forli, S., & Olson, A. J. (2012). A force field with discrete displaceable waters and desolvation entropy for hydrated ligand docking. *Journal of Medicinal Chemistry*, 55(2), 623–638. <https://doi.org/10.1021/jm2005145>

Galluzzi, L., Kepp, O., & Kroemer, G. (2012). Mitochondria: Master regulators of danger signalling. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 13(12), 780–788. <https://doi.org/10.1038/nrm3479>

Gardino, A. K., Smerdon, S. J., Yaffe, M. B., & Cantley, L. C. (2018). Targeting kinases with precision. *Molecular & Cellular Oncology*, 5(3), e1435183. <https://doi.org/10.1080/23723556.2018.1435183>

Gaulton, A., Bellis, L. J., Bento, A. P., Chambers, J., Davies, M., Hersey, A., ... & Overington, J. P. (2012). ChEMBL: A large-scale bioactivity database for drug discovery. *Nucleic Acids Research*, 40(D1), D1100–D1107.

Ghose, A. K., Viswanadhan, V. N., & Wendoloski, J. J. (1999). A knowledge-based approach in designing combinatorial or medicinal chemistry libraries for drug discovery. *Journal of Combinatorial Chemistry*, 1(1), 55–68.

Halgren, T. A. (1996). Merck molecular force field. I. Basis, form, scope, parameterization, and performance of MMFF94. *Journal of Computational Chemistry*, 17(5–6), 490–519.

Hanahan, D., & Weinberg, R. A. (2000). The hallmarks of cancer. *Cell*, 100(1), 57–70.

[https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(00\)81683-9](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(00)81683-9)

Harvey, K. F., & Hariharan, I. K. (2012). The Hippo pathway. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 4(8), a011288. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a011288>

He, M. M., Smith, A. S., Oslob, J. D., Flanagan, W. M., Braisted, A. C., Whitty, A., ... & Popko, J. (2010). Small-molecule inhibition of TNF- α . *Nature Chemical Biology*, 6(2), 84–90.

Heinrich, M. C., Jones, R. L., von Mehren, M., Schöffski, P., Serrano, C., Kang, Y. K., ... & George, S. (2020). Avapritinib in advanced PDGFRA D842V-mutant gastrointestinal stromal tumour (NAVIGATOR): A multicentre, open-label, phase 1 trial. *The Lancet Oncology*, 21(7), 935–946. [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(20\)30269-2](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(20)30269-2)

Herfs, M., Vargas, S. O., Yamamoto, Y., Howitt, B. E., Wilkin, R. H., Stolnicu, S., ... & Crum, C. P. (2012). A discrete population of squamocolumnar junction cells implicated in the pathogenesis of cervical cancer. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 109(26), 10516–10521. <https://doi.org/10.1073/pnas.1202684109>

Hetényi, C., & van der Spoel, D. (2006). Blind docking of drug-sized compounds to proteins with up to a thousand residues. *FEBS Letters*, 580(5), 1447–1450.

Hirsch, H. A., Iliopoulos, D., Tsiachlis, P. N., & Struhl, K. (2009). Metformin selectively targets cancer stem cells, and acts together with chemotherapy to block tumor growth and prolong remission. *Cancer Research*, 69(19), 7507–7511.

Hopkins, A. L. (2008). Network pharmacology: The next paradigm in drug discovery. *Nature Chemical Biology*, 4(11), 682–690. <https://doi.org/10.1038/nchembio.118>

Huang, N., Shoichet, B. K., & Irwin, J. J. (2006). Benchmarking sets for molecular docking. *Journal of Medicinal Chemistry*, 49(23), 6789–6801. <https://doi.org/10.1021/jm0608356>

International Agency for Research on Cancer (IARC). (2025). Sections on precursor lesions of squamous cell carcinoma. <http://screening.iarc.fr>

Ichim, G., & Tait, S. W. G. (2016). A fate worse than death: Apoptosis as an oncogenic process. *Nature Reviews Cancer*, 16, 539–548. <https://doi.org/10.1038/nrc.2016.58>

Inuzuka, T. (2000). Autoantibodies in paraneoplastic neurological syndrome. *American Journal of Medical Sciences*, 319(4), 217–226. <https://doi.org/10.1097/00000441-200004000-00004>

Jumper, J., Evans, R., Pritzel, A., Green, T., Figurnov, M., Ronneberger, O., ... & Hassabis, D. (2021). Highly accurate protein structure prediction with AlphaFold. *Nature*, 596, 583–589. <https://doi.org/10.1038/s41586-021-03819-2>

Kang, Y.-K., Ryu, M.-H., Yoo, C., Ryoo, B.-Y., Choi, C., Lee, K.-W., ... & Boucher, C. (2021). Avapritinib versus regorafenib in locally advanced unresectable or metastatic gastrointestinal stromal tumor: A randomized, open-label phase III study. *Journal of Clinical Oncology*, 39(28), 3128–3139. <https://doi.org/10.1200/JCO.21.00217>

Kerr, J. F. R., Wyllie, A. H., & Currie, A. R. (1972). Apoptosis: A basic biological phenomenon with wide-ranging implications in tissue kinetics. *British Journal of Cancer*, 26(4), 239–257. <https://doi.org/10.1038/bjc.1972.33>

Kim, E. D., McVary, K. T., Hackett, G., Montorsi, F., Lin, D., & Wyllie, M. (2013). Efficacy and safety of avanafil for the treatment of men with erectile dysfunction: Results of a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *The Journal of Sexual Medicine*, 10(3), 739–747. <https://doi.org/10.1111/jsm.12030>

Kitchen, D. B., Decornez, H., Furr, J. R., & Bajorath, J. (2004). Docking and scoring in virtual screening for drug discovery: Methods and applications. *Nature Reviews Drug Discovery*, 3(11), 935–949.

Kurman, R. J., Carcangiu, M. L., Herrington, C. S., & Young, R. H. (2019). *Blaustein's pathology of the female genital tract* (7th ed.). Springer. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-46334-6>

Kurumbail, R. G., Stevens, A. M., Gierse, J. K., McDonald, J. J., Stegeman, R. A., Pak, J. Y., ... & Stallings, W. C. (1996). Structural basis for selective inhibition of cyclooxygenase-2 by anti-inflammatory agents. *Nature*, 384(6610), 644–648. <https://doi.org/10.1038/384644a0>

Laskowski, R. A., Jabłońska, J., Pravda, L., Vařeková, R. S., & Thornton, J. M. (2018). PDBsum: Summaries and analyses of PDB structures. *Nucleic Acids Research*, 46(D1), D486–D488.

Law, J., Yu, L., Wang, Y., Xu, Y., Liu, Y., Cheng, Y., ... & Lin, Y. (2015). Modulator of Apoptosis 1 (MOAP-1) is a tumor suppressor protein linked to the RASSF1A protein. *Journal of Biological Chemistry*, 290(40), 24100–24118. <https://doi.org/10.1016/j.jbc.2015.08.069>

Le Guilloux, V., Schmidtke, P., & Tuffery, P. (2009). Fpocket: An open source platform for ligand pocket detection. *BMC Bioinformatics*, 10, 168. <https://doi.org/10.1186/1471-2105-10-168>

Leach, A. R., & Hann, M. M. (2010). *Structure-based drug discovery*. Springer. <https://doi.org/10.1007/978-1-4020-4407-6>

Liang, J., Edelsbrunner, H., Fu, P., Sudhakar, P. V., & Subramaniam, S. (1998). Analytical shape computation of macromolecules: I. Molecular area and volume through alpha shape. *Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics*, 33(1), 1–17. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-0134\(19981001\)33:1<1::AID-PROT1>3.0.CO;2-J](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0134(19981001)33:1<1::AID-PROT1>3.0.CO;2-J)

Lee, J., Pang, B., & Tan, K. S. (2016). PNMA2 mediates heterodimeric interactions and antagonizes chemo-sensitizing activities mediated by members of PNMA family. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 473(1), 1–7. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2016.03.083>

Li, H., Zhu, H., Xu, C. J., & Yuan, J. (1998). Cleavage of BID by caspase 8 mediates the mitochondrial damage in the Fas pathway of apoptosis. *Cell*, 94(4), 491–501. [https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(00\)81590-](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(00)81590-)

Li, J., Zheng, S., Chen, B., Butte, A. J., Swamidass, S. J., & Lu, Z. (2016). Computational approaches for drug repurposing and pharmacology. *Current Topics in Medicinal Chemistry*, 16(30), 3646–3656.

Lipinski, C. A., Lombardo, F., Dominy, B. W., & Feeney, P. J. (2001). Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 46(1–3), 3–26.

Lounkine, E., Keiser, M. J., Whitebread, S., Mikhailov, D., Hamon, J., Jenkins, J. L., ... & Urban, L. (2012). Large-scale prediction and testing of drug activity on side-effect targets. *Nature*, 486(7403), 361–367.

Matallanas, D., Romano, D., Yee, K., Meissl, K., Kuceroval, L., Piazzolla, D., ... & Kolch, W. (2007). RASSF1A elicits apoptosis through an MST2 pathway directing proapoptotic transcription by the p73 tumor suppressor protein. *Molecular Cell*, 27(6), 962–975. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2007.08.008>

Melo Neto, Â. B. de. (2022). Análise integrada de expressão gênica e priorização de biomarcadores no câncer de colo uterino [Dissertação de mestrado, Universidade Federal de Uberlândia]. Instituto de Ciências Biomédicas, Patos de Minas.

Meng, X. Y., Zhang, H. X., Mezei, M., & Cui, M. (2011). Molecular docking: A powerful approach for structure-based drug discovery. *Current Computer-Aided Drug Design*, 7(2), 146–157. <https://doi.org/10.2174/157340911795677602>

Moody, C. A., & Laimins, L. A. (2010). Human papillomavirus oncoproteins: Pathways to transformation. *Nature Reviews Cancer*, 10(8), 550–560. <https://doi.org/10.1038/nrc2886>

Morris, G. M., Huey, R., Lindstrom, W., Sanner, M. F., Belew, R. K., Goodsell, D. S., & Olson, A. J. (2009). AutoDock4 and AutoDockTools4: Automated docking with selective receptor flexibility. *Journal of Computational Chemistry*, 30(16), 2785–2791. <https://doi.org/10.1002/jcc.21256>

Münger, K., Baldwin, A., Edwards, K. M., Hayakawa, H., Nguyen, C. L., Owens, M., ... & Lambert, P. F. (2004). Mechanisms of human papillomavirus-induced oncogenesis. *Journal of Virology*, 78(21), 11451–11460. <https://doi.org/10.1128/JVI.78.21.11451-11460.2004>

Muñoz, N., Franceschi, S., Bosetti, C., Moreno, V., Herrero, R., Smith, J. S., ... & Bosch, F. X. (2002). Role of parity and human papillomavirus in cervical cancer: The IARC multicentric case-control study. *The Lancet*, 359(9312), 1093–1101. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(02\)08151-5](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(02)08151-5)

Nayar, R., & Wilbur, D. C. (Eds.). (2015). *The Bethesda system for reporting cervical cytology: Definitions, criteria, and explanatory notes* (3rd ed.). Springer. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-11074-5>

Nosengo, N. (2016). Can you teach old drugs new tricks? *Nature*, 534(7607), 314–316. <https://doi.org/10.1038/534314a>

Pang, S. W., Lahiri, C., Poh, C. L., & Tan, K. O. (2018). PNMA family: Protein interaction network and cell signalling pathways implicated in cancer and apoptosis. *Cellular Signalling*, 45, 54–62. <https://doi.org/10.1016/j.cellsig.2018.01.022>

Pal, M. K., Rashid, M., Das, A., Sharma, P., & Saxena, S. (2018). An improved protein structure evaluation using a semi-empirically derived structure property. *BMC Structural Biology*, 18, 16. <https://doi.org/10.1186/s12900-018-0097-0>

Pontius, J., Richelle, J., & Wodak, S. J. (1996). Deviations from standard atomic volumes as a quality measure for protein crystal structures. *Journal of Molecular Biology*, 264(1), 121–136.

Pushpakom, S., Iorio, F., Eyers, P. A., Escott, K. J., Hopper, S., Wells, A., ... & Pirmohamed, M. (2019). Drug repurposing: Progress, challenges and recommendations. *Nature Reviews Drug Discovery*, 18, 41–58. <https://doi.org/10.1038/nrd.2018.168>

Qian, S., Wu, J., Fu, S., Zhou, S., Chen, X., & Chen, H. (2022). The role of BCL-2 family proteins in regulating apoptosis and cancer therapy. *Frontiers in Oncology*, 12, 985363. <https://doi.org/10.3389/fonc.2022.985363>

Reich, O., Regauer, S., McCluggage, W. G., Bergeron, C., & Redman, C. W. (2017). Defining the cervical transformation zone and squamocolumnar junction: Can we reach a common colposcopic and histologic definition? *International Journal of Gynecological Pathology*, 36(6), 517–522. <https://doi.org/10.1097/PGP.0000000000000381>

Redigui, C. F., Dias, A. P., & Gradim, M. M. (2015). Registro de medicamentos novos. Universidade de São Paulo. http://www.medicinanet.com.br/conteudos/revisoes/6065/registro_de_medicamentos_novos.htm

Rocha, N. P. (2018). Metaloproteínas de matriz e seus moduladores induzidos na infecção pelo HPV in situ e in vitro [Dissertação de mestrado, Fundação Oswaldo Cruz]. <https://www.arca.fiocruz.br/handle/icict/34717>

Rothwell, P. M., Wilson, M., Elwin, C. E., Norrving, B., Algra, A., Warlow, C. P., & Meade, T. W. (2011). Long-term effect of aspirin on colorectal cancer incidence and mortality: 20-year follow-up of five randomised trials. *The Lancet*, 377(9759), 31–41. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(10\)62110-1](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(10)62110-1)

Rosa, M. I., Fachel, J. M. G., Rosa, D. D., Medeiros, L. R., Bozzetti, M. C., & Silva, F. R. (2008). Persistence and clearance of human papillomavirus infection: A prospective cohort study. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, 199(6), 617.e1–617.e7. <https://doi.org/10.1016/j.ajog.2008.06.033>

Rosenfeld, M. R., Eichen, J. G., Wade, D. F., Posner, J. B., & Dalmau, J. (2001). Paraneoplastic syndromes: More than just neurological disorders. *Current Opinion in Neurology*, 14(6), 683–690.

Rothwell, P. M., Fowkes, F. G. R., Belch, J. F., Ogawa, H., Warlow, C. P., & Meade, T. W. (2012). Effect of daily aspirin on risk of cancer metastasis: A study of incident cancers during randomised controlled trials. *The Lancet*, 379(9826), 1591–1601. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(12\)60209-8](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(12)60209-8)

Sánchez-Sanz, G., Matallanas, D., Nguyen, L. K., Kholodenko, B. N., Roska, E., Kolch, W., & Buchete, N.-V. (2015). MST2–RASSF protein–protein interactions through SARAH domains. *Briefings in Bioinformatics*, 17(4), 593–602. <https://doi.org/10.1093/bib/bbv070>

Sasagawa, T., Takagi, H., & Makinoda, S. (2012). Immune responses against human papillomavirus (HPV) infection and evasion of host defense in cervical cancer. *Journal of Infection and Chemotherapy*, 18(6), 807–815. <https://doi.org/10.1007/s10156-012-0485-5>

de Sanjosé, S., Quint, W. G. V., Alemany, L., Geraets, D. T., Klaustermeier, J. E., Lloveras, B., ...& Bosch, F. X. (2010). Human papillomavirus genotype attribution in invasive cervical cancer: A retrospective cross-sectional worldwide study. *The Lancet Oncology*, 11(11), 1048–1056. [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(10\)70230-8](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(10)70230-8)

Santos, M. O., Moreira, A. L. M., Santos, M. A., & Thuler, L. C. S. (2023). Estimativa de incidência de câncer no Brasil, 2023–2025. *Revista Brasileira de Cancerologia*, 69(1), e-3700. <https://doi.org/10.32635/2176-9745.RBC.2023v69n1.3700>

Sastry, G. M., Adzhigirey, M., Day, T., Annabhimoju, R., & Sherman, W. (2013). Protein and ligand preparation: Parameters, protocols, and influence on virtual screening enrichments. *Journal of Computer-Aided Molecular Design*, 27, 221–234. <https://doi.org/10.1007/s10822-013-9644-8>

Scheffner, M., Werness, B. A., Huibregtse, J. M., Levine, A. J., & Howley, P. M. (1990). The E6 oncoprotein encoded by human papillomavirus types 16 and 18 promotes the degradation of p53. *Cell*, 63(6), 1129–1136. [https://doi.org/10.1016/0092-8674\(90\)90409-8](https://doi.org/10.1016/0092-8674(90)90409-8)

Solomon, D., Davey, D., Kurman, R., Moriarty, A., O'Connor, D., Prey, M., ... & Wilbur, D. (2002). The 2001 Bethesda system: Terminology for reporting results of cervical cytology. *JAMA*, 287(16), 2114–2119. <https://doi.org/10.1001/jama.287.16.2114>

Sherman, W., Day, T., Jacobson, M. P., Friesner, R. A., & Farid, R. (2006). Novel procedure for modeling ligand/receptor induced fit effects. *Journal of Medicinal Chemistry*, 49(2), 534–553. <https://doi.org/10.1021/jm050540c>

Schiffman, M., Castle, P. E., Jeronimo, J., Rodriguez, A. C., & Wacholder, S. (2007). Human papillomavirus and cervical cancer. *The Lancet*, 370(9590), 890–907. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(07\)61416-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(07)61416-0)

Schüller, M., Jenne, D., & Voltz, R. (2005). The human PNMA family: Novel neuronal proteins implicated in paraneoplastic neurological disease. *Journal of Neuroimmunology*, 169(1–2), 172–176. <https://doi.org/10.1016/j.jneuroim.2005.08.019>

Simpson, A. J. G., Caballero, O. L., Jungbluth, A., Chen, Y. T., & Old, L. J. (2005). Cancer/testis antigens, gametogenesis and cancer. *Nature Reviews Cancer*, 5, 615–625. <https://doi.org/10.1038/nrc1669>

Singhal, S., Mehta, J., Desikan, R., Ayers, D., Roberson, P., Eddlemon, P., ... & Barlogie, B. (1999). Antitumor activity of thalidomide in refractory multiple myeloma. *New England Journal of Medicine*, 341(21), 1565–1571. <https://doi.org/10.1056/NEJM199911183412102>

Stokes, J. M., Yang, K., Swanson, K., Jin, W., Cubillos-Ruiz, A., Donghia, N. M., ... & Collins, J. J. (2020). A deep learning approach to antibiotic discovery. *Cell*, 180(4), 688–702.e13. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.01.021>

Stubenrauch, F., & Laimins, L. A. (1999). Human papillomavirus life cycle: Active and latent phases. *Seminars in Cancer Biology*, 9(6), 379–386. <https://doi.org/10.1006/scbi.1999.0141>

Su, Y., Wang, W., & Meng, X. (2022). Revealing the roles of MOAP1 in diseases: A review. *Cells*, 11(5), 889. <https://doi.org/10.3390/cells11050889>

Smith, S. A., Sessions, R. B., Shoemark, D. K., Williams, C., Ebrahimighaei, R., McNeill, M. C., & Bond, M. (2019). Antiproliferative and antimigratory effects of a novel YAP–TEAD interaction inhibitor identified using in silico molecular docking. *Journal of Medicinal Chemistry*, 62(3), 1291–1305. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.8b01402>

Snijders, P. J. F., Steenbergen, R. D. M., Heideman, D. A. M., & Meijer, C. J. L. M. (2006). HPV-mediated cervical carcinogenesis: Concepts and clinical implications. *The Journal of Pathology*, 208(2), 152–164. <https://doi.org/10.1002/path.1866>

Swain, A. L., Miller, M. M., Green, J., Rich, D. H., Schneider, J., & Schneider, M. (1990). X-ray crystallographic structure of a complex between a synthetic protease of human immunodeficiency virus 1 and a substrate-based hydroxyethylamine inhibitor. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 87(22), 8805–8809. <https://doi.org/10.1073/pnas.87.22.8805>

Tan, K. O., Tan, K. M., Chan, S. L., Yee, K. S., Bevort, M., Ang, E., ... & Yu, V. C. (2005). MAP-1 is a mitochondrial effector of Bax. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 102(41), 14623–14628. <https://doi.org/10.1073/pnas.0503524100>

Turanli, B., Karagoz, K., Gulfidan, G., Sinha, R., Mardinoglu, A., & Arga, K. Y. (2018). Drug repositioning for effective prostate cancer treatment. *Frontiers in Physiology*, 9, 500. <https://doi.org/10.3389/fphys.2018.00500>

UniProt. (n.d.). UniProtKB database. Retrieved from <https://www.uniprot.org/>

UCLA-DOE LAB. (n.d.). SAVES - Structural Analysis and Verification Server v6.1. Retrieved from <https://saves.mbi.ucla.edu>

Van der Weyden, L., & Adams, D. J. (2007). The Ras-association domain family (RASSF) members and their role in human tumourigenesis. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Reviews on Cancer*, 1776(1), 58–85. <https://doi.org/10.1016/j.bbcan.2007.06.003>

Volodko, N., Gordon, M., Salla, M., Abu Ghazaleh, H., & Baksh, S. (2014). RASSF tumor suppressor gene family: Biological functions and regulation. *FEBS Letters*, 588(16), 2671–2684. <https://doi.org/10.1016/j.febslet.2014.02.041>

Walboomers, J. M. M., Jacobs, M. V., Manos, M. M., Bosch, F. X., Kummer, J. A., Shah, K. V., ... & Meijer, C. J. L. M. (1999). Human papillomavirus is a necessary cause of invasive cervical cancer worldwide. *The Journal of Pathology*, 189(1), 12–19. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1096-9896\(199909\)189:1<12::AID-PATH431>3.0.CO;2-F](https://doi.org/10.1002/(SICI)1096-9896(199909)189:1<12::AID-PATH431>3.0.CO;2-F)

Wang, W., Huang, J., Wang, X., Yuan, J., Li, X., Feng, L., ... & Guan, K.-L. (2014). Defining the protein–protein interaction network of the human Hippo pathway. *Molecular & Cellular Proteomics*, 13(1), 119–131. <https://doi.org/10.1074/mcp.M113.030049>

World Health Organization (WHO). (2021a). Classification of tumours: Female genital tumours (5th ed.). International Agency for Research on Cancer.

Wills, N. M., Gesteland, R. F., Atkins, J. F., & Garcia-Blanco, M. A. (2006). A functional -1 ribosomal frameshift signal in the human paraneoplastic Ma3 gene. *Journal of Biological Chemistry*, 281(10), 7082–7088. <https://doi.org/10.1074/jbc.M511629200>

World Health Organization (WHO). (2021b). Global strategy to accelerate the elimination of cervical cancer as a public health problem. <https://www.who.int/publications/i/item/9789240014107>

Wu, Y., Song, Y., Wang, R., & Wang, T. (2023). Molecular mechanisms of tumor resistance to radiotherapy. *Molecular Cancer*, 22, 96. <https://doi.org/10.1186/s12943-023-01801-2>

Yu, F. X., Zhao, B., & Guan, K. L. (2015). Hippo pathway in organ size control, tissue homeostasis, and cancer. *Cell*, 163(4), 811–828. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2015.10.044>

Zhang, Z., Huang, X., Wang, R., Zhang, X., Wang, H., Liu, W., ... & Liu, Y. (2022). Identification of critical genes associated with radiotherapy resistance in cervical cancer by bioinformatics. *Frontiers in Oncology*, 12, 967386. <https://doi.org/10.3389/fonc.2022.967386>

Zandberg, D. P., Bhargava, R., Badin, S., Cullen, K. J., & Herman, J. G. (2013). The role of human papillomavirus in nongenital cancers. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 63(1), 57–81. <https://doi.org/10.3322/caac.21167>

Zur Hausen, H. (2009). Papillomaviruses in the causation of human cancers — A brief

Zukherato, L. W., Ribeiro, A. L. R., Marques, A. F., Fernandes, B. V., Lavorato-Rocha, A. M., Baiocchi, G., ... & Barciela, M. B. (2021). Cervical cancer stem-like cell transcriptome profiles predict response to chemoradiotherapy. *Frontiers in Oncology*, 11, 639339. <https://doi.org/10.3389/fonc.2021.639339>

4. Conclusão

Por meio de modelagem molecular, docking e simulações de dinâmica molecular, esse estudo mostra a existência de uma interação estável entre as proteínas PNMA3 e RASSF2. Esta interação ocorre preferencialmente na região do domínio SARAH de RASSF2, essencial para a ativação das quinases MST1/MST2 na via Hippo. A formação do complexo PNMA3–RASSF2 pode, portanto, representar um mecanismo funcional de evasão apoptótica em pacientes com câncer cervical uterino resistentes à quimiorradioterapia, ao impedir o recrutamento e ativação dessa cascata sinalizadora.

A partir dessa hipótese, foi conduzida uma estratégia de triagem virtual e reposicionamento de fármacos, com múltiplas etapas analíticas: identificação de compostos com afinidade compartilhada entre PNMA3 e RASSF2, seleção de ligantes exclusivos para PNMA3 e, por fim, docking cego com análise cruzada das superfícies funcionais. Filtros sucessivos de afinidade, seletividade e sobreposição com a interface de interação orientaram a escolha do candidato mais promissor.

Dentre os compostos avaliados, Nebivolol se destacou por apresentar elevada afinidade pela superfície funcional de PNMA3, sem interagir com nenhuma das regiões avaliadas de RASSF2, incluindo o domínio SARAH. As simulações de dinâmica molecular confirmaram a estabilidade estrutural do complexo PNMA3–RASSF2 ao longo do tempo, com preservação dos principais contatos intermoleculares e um perfil conformacional compatível com uma interação funcional. Esses achados reforçam a hipótese de que a ligação entre essas proteínas pode interferir na via Hippo, promovendo evasão da apoptose. Assim, fármacos capazes de competir com essa interface como o Nebivolol podem representar uma estratégia promissora para restaurar a sinalização pró-apoptótica.

Dessa forma, este estudo propõe não apenas um novo modelo funcional de interferência molecular na via Hippo, mas também apresenta um candidato a fármaco reposicionado, cuja atuação seletiva pode justificar futuras investigações *in vitro* e *in vivo*. A integração entre docking, dinâmica molecular e análise comparativa entre proteínas reforça a aplicabilidade de abordagens computacionais para o direcionamento racional de terapias no contexto do câncer resistente ao tratamento convencional.

REFERÊNCIAS

ASHBURN, T. T.; THOR, K. B. Drug repositioning: identifying and developing new uses for existing drugs. *Nature Reviews Drug Discovery*, v. 3, n. 8, p. 673–683, 2004. DOI: 10.1038/nrd1468.

AYLON, Y.; OREN, M. The Hippo signaling pathway and cancer: from basic mechanisms to therapeutic opportunities. In: OREN, M.; AYLON, Y. (Ed.). *The Hippo Signaling Pathway and Cancer*. New York: Springer, 2013. p. 1–15.

BAI, R. Y. et al. Antiparasitic mebendazole shows survival benefit in 2 preclinical models of glioblastoma multiforme. *Neuro-Oncology*, v. 13, n. 9, p. 974–982, 2011. DOI: 10.1093/neuonc/nor077. Acesso em: 15 jan. 2025.

BALDESSARINI, R. J. *Chemotherapy in Psychiatry: Pharmacologic Basis of Treatments for Major Mental Illness*. Cambridge: Harvard University Press, 2005.

BARREIRO, E. J.; ECKER, A. Drug design strategies for molecular docking and dynamics. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*, v. 42, n. 4, p. 529–538, 2006.

BERTOLAZZI, S. et al. The computational pipeline Exscalate4CoV identifies raloxifene as a potential COVID-19 treatment. *Computational and Structural Biotechnology Journal*, v. 19, p. 2321–2330, 2021.

BRASIL. Ministério da Saúde. Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva. Estimativa 2022: incidência de câncer no Brasil. Rio de Janeiro: INCA, 2021. Disponível em: <https://www.inca.gov.br/publicacoes/livros/estimativa-2022-incidencia-de-cancer-no-brasil>. Acesso em: 22 jan. 2025.

BROWN, A. S.; SUPERTI-FURGA, G. Rediscovering drug discovery with chemical biology. *Nature Chemical Biology*, v. 9, p. 411–415, 2003.

BRUNI, L. et al. Global estimates of human papillomavirus vaccination coverage by region and income level: a pooled analysis. *The Lancet Global Health*, v. 4, n. 7, p. e453–e463, 2016. DOI: 10.1016/S2214-109X(16)30099-7.

CLARK, J.; FREEMAN, J.; DONNINGER, H. Loss of RASSF2 Enhances Tumorigenicity of Lung Cancer Cells and Confers Resistance to Chemotherapy. *Molecular Biology International*, v. 2012, Article ID 705948. DOI: 10.1155/2012/705948

CHEMICAL COMPUTING GROUP. MOE (Molecular Operating Environment) User Manual. Montreal: CCG, 2023. Disponível em: <https://www.chemcomp.com>

CHINO, J. et al. Radiation Therapy for Cervical Cancer: Executive Summary of an ASTRO Clinical Practice Guideline. *Practical Radiation Oncology*, v. 10, n. 4, p. 220–234, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.prro.2020.04.002>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32473857/>. Acesso em: 27 maio 2025.

COOPER, W. N. et al. RASSF2 associates with and stabilizes the proapoptotic kinase MST2. *Oncogene*, v. 28, n. 33, p. 2988–2998, 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/onc.2009.152>.

Dalmau, J. et al. Ma1, a novel neuron- and testis-specific protein, is recognized by the serum of patients with paraneoplastic neurological disorders. *Brain*, v. 122, n. 1, p. 27–39, 1999. DOI: 10.1093/brain/122.1.27

DiMASI, J. A. et al. Innovation in the pharmaceutical industry: New estimates of R&D costs. *Journal of Health Economics*, v. 47, p. 20–33, 2016. DOI: 10.1016/j.jhealeco.2016.01.012.

DOORBAR, J. et al. The biology and life-cycle of human papillomaviruses. *Vaccine*, Amsterdam, v. 30, suppl. 5, p. F55–F70, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2012.06.083>.

DROLET, M. et al. Population-level impact and herd effects following human papillomavirus vaccination programmes: a systematic review and meta-analysis. *The Lancet Infectious Diseases*, v. 15, n. 5, p. 565–580, 2015. DOI: 10.1016/S1473-3099(14)71073-4.

ELMORE, S. Apoptosis: a review of programmed cell death. *Toxicologic Pathology*, v. 35, n. 4, p. 495–516, 2007. DOI: <https://doi.org/10.1080/01926230701320337>.

EISENBERG, D.; LÜTHY, R.; BOWIE, J. U. VERIFY3D: Assessment of protein models with three-dimensional profiles. *Methods in Enzymology*, v. 277, p. 396–404, 1997.

EKINS, S. et al. In silico repositioning of approved drugs for rare and neglected diseases. *Drug Discovery Today*, v. 16, n. 7–8, p. 298–310, 2011.

FALLAHI, Emma; O'DRISCOLL, Niamh A.; MATAALLANAS, David. The MST/Hippo pathway and cell death: a non-canonical affair. *Genes (Basel)*, v. 7, n. 6, p. 28, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/genes7060028>.

FDA. Ayvakit (avapritinib) prescribing information. Blueprint Medicines Corporation, 2020. Disponível em: https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2020/212608s000lbl.pdf. Acesso em: 15 jan. 2025.

- FERREIRA, L. G. et al. Molecular docking and structure-based drug design strategies. *Molecules*, v. 20, n. 7, p. 13384–13421, 2015. DOI: 10.3390/molecules200713384.
- FORLI, S.; OLSON, A. J. A force field with discrete displaceable waters and desolvation entropy for hydrated ligand docking. *Journal of Medicinal Chemistry*, v. 55, n. 2, p. 623–638, 2012. DOI: 10.1021/jm2005145
- GALLUZZI, L.; KEPP, O.; KROEMER, G. Mitochondria: master regulators of danger signalling. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, v. 13, n. 12, p. 780–788, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1038/nrm3479>.
- GARDINO, A. K. et al. *Targeting kinases with precision*. *Molecular & Cellular Oncology*, v. 5, n. 3, e1435183, 2018. DOI: 10.1080/23723556.2018.1435183.
- GAULTON, A. et al. ChEMBL: a large-scale bioactivity database for drug discovery. *Nucleic Acids Research*, v. 40, p. D1100–D1107, 2012.
- GHOSE, A. K. et al. A knowledge-based approach in designing combinatorial or medicinal chemistry libraries for drug discovery. *Journal of Combinatorial Chemistry*, v. 1, n. 1, p. 55–68, 1999.
- HALGREN, T. A. Merck molecular force field. *Journal of Computational Chemistry*, v. 17, n. 5–6, p. 490–519, 1996.
- HANAHAN, D.; WEINBERG, R. A. The hallmarks of cancer. *Cell*, v. 100, n. 1, p. 57–70, 2000. DOI: 10.1016/S0092-8674(00)81683-9.
- HARVEY, K. F.; HARIHARAN, I. K. The Hippo pathway. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, New York, v. 4, n. 8, a011288, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a011288>. Disponível em: <https://cshperspectives.cshlp.org/content/4/8/a011288>. Acesso em: 18 jul. 2024.
- HE, M. M. et al. Small-molecule inhibition of TNF- α . *Nature Chemical Biology*, v. 6, n. 2, p. 84–90, 2010.
- Heinrich, M. C. et al. Avapritinib in advanced PDGFRA D842V-mutant gastrointestinal stromal tumour (NAVIGATOR): a multicentre, open-label, phase 1 trial. *The Lancet Oncology*, v. 21, n. 7, p. 935–946, 2020. DOI: 10.1016/S1470-2045(20)30269-2
- HERFS, M. et al. A discrete population of squamocolumnar junction cells implicated in the pathogenesis of cervical cancer. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, Washington, v. 109, n. 26, p. 10516–10521, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1073/pnas.1202684109>. Disponível em: <https://www.pnas.org/doi/10.1073/pnas.1202684109>.
- HETÉNYI, C.; VAN DER SPOEL, D. Blind docking of drug-sized compounds to proteins with up to a thousand residues. *FEBS Letters*, v. 580, n. 5, p. 1447–1450, 2006.

HIRSCH, H. A.; ILIOPOULOS, D.; TSICHLIS, P. N.; STRUHL, K. Metformin selectively targets cancer stem cells, and acts together with chemotherapy to block tumor growth and prolong remission. *Cancer Research*, v. 69, n. 19, p. 7507–7511, 2009.

HOPKINS, A. L. Network pharmacology: the next paradigm in drug discovery. *Nature Chemical Biology*, v. 4, p. 682–690, 2008. DOI: 10.1038/nchembio.118. HOPKINS, Andrew L. Network pharmacology: the next paradigm in drug discovery. *Nature Chemical Biology*, v. 4, p. 682–690, 2008. DOI: 10.1038/nchembio.118

HUANG, Niu; SHOICHET, Brian K.; IRWIN, John J. Benchmarking sets for molecular docking. *Journal of Medicinal Chemistry*, v. 49, n. 23, p. 6789–6801, 2006. DOI: 10.1021/jm0608356

INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER (IARC). Seções de lesões precursoras do carcinoma de células escamosas. Disponível em: <http://screening.iarc.fr>. Acesso em: 27 maio 2025.

ICHIM, G.; TAIT, S. W. G. A fate worse than death: apoptosis as an oncogenic process. *Nature Reviews Cancer*, v. 16, p. 539–548, 2016. DOI: 10.1038/nrc.2016.58.

INUZUKA, T. Autoantibodies in paraneoplastic neurological syndrome. *American Journal of Medical Sciences*, v. 319, n. 4, p. 217–226, 2000. DOI: 10.1097/00000441-200004000-00004.

JUMPER, J. et al. Highly accurate protein structure prediction with AlphaFold. *Nature*, v. 596, p. 583–589, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41586-021-03819-2>

KANG, Yoon-Koo et al. Avapritinib versus regorafenib in locally advanced unresectable or metastatic gastrointestinal stromal tumor: a randomized, open-label phase III study. *Journal of Clinical Oncology*, v. 39, n. 28, p. 3128–3139, 2021. DOI: 10.1200/JCO.21.00217

KERR, J. F. R.; WYLLIE, A. H.; CURRIE, A. R. Apoptosis: a basic biological phenomenon with wide-ranging implications in tissue kinetics. *British Journal of Cancer*, v. 26, n. 4, p. 239–257, 1972. DOI: 10.1038/bjc.1972.33

KIM, E. D. et al. Efficacy and safety of avanafil for the treatment of men with erectile dysfunction: results of a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *The Journal of Sexual Medicine*, v. 10, n. 3, p. 739–747, 2013. DOI: 10.1111/jsm.12030.

KITCHEN, D. B. et al. Docking and scoring in virtual screening for drug discovery: methods and applications. *Nature Reviews Drug Discovery*, v. 3, n. 11, p. 935–949, 2004.

KURMAN, R. J. et al. Blaustein's Pathology of the Female Genital Tract. 7. ed. New York: Springer, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1007/978-3-319-46334-6>. Disponível em: <https://link.springer.com/book/10.1007/978-3-319-46334-6>.

KURUMBAIL, R. G. et al. Structural basis for selective inhibition of cyclooxygenase-2 by anti-inflammatory agents. *Nature*, v. 384, n. 6610, p. 644–648, 1996. DOI: 10.1038/384644a0

LASKOWSKI, R. A. et al. PDBsum: summaries and analyses of PDB structures. *Nucleic Acids Research*, v. 46, p. D486–D488, 2018.

LAW, Jennifer et al. Modulator of Apoptosis 1 (MOAP-1) Is a Tumor Suppressor Protein Linked to the RASSF1A Protein. *Journal of Biological Chemistry*, v. 290, n. 40, p. 24100–24118, 2 out. 2015. DOI: 10.1016/j.jbc.2015.08.069

LE GUILLOUX, Vincent; SCHMIDTKE, Peter; TUFFERY, Pierre. Fpocket: An open source platform for ligand pocket detection. *BMC Bioinformatics*, v. 10, p. 168, 2009. DOI: 10.1186/1471-2105-10-168

LEACH, Andrew R.; HANN, Michael M. *Structure-based Drug Discovery*. Springer, 2010. ISBN: 978-1-4020-4407-6

LIANG, Jie; EDELSBRUNNER, Herbert; FU, Ping; SUDHAKAR, P. V.; SUBRAMANIAM, Shankar. Analytical shape computation of macromolecules: I. Molecular area and volume through alpha shape. *Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics*, v. 33, n. 1, p. 1–17, 1998. DOI: 10.1002/(SICI)1097-0134(19981001)33:1<1::AID-PROT1>3.0.CO;2-J

LEE, J.; PANG, B.; TAN, K. S. PNMA2 mediates heterodimeric interactions and antagonizes chemo-sensitizing activities mediated by members of PNMA family. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, v. 473, n. 1, p. 1–7, 2016. DOI: 10.1016/j.bbrc.2016.03.083.

LIANG, Jie; EDA, Eduardo; SUBRAMANIAM, Shankar. Analytical shape computation of macromolecules: I. Molecular area and volume through alpha shape. *Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics*, v. 33, n. 1, p. 1–17, 1998

Li, H. et al. Cleavage of BID by caspase 8 mediates the mitochondrial damage in the Fas pathway of apoptosis. *Cell*, v. 94, n. 4, p. 491–501, 1998. DOI: 10.1016/S0092-8674(00)81590-

LI, J. et al. Computational approaches for drug repurposing and pharmacology. *Current Topics in Medicinal Chemistry*, v. 16, n. 30, p. 3646–3656, 2016.

LIPINSKI, C. A. et al. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. *Advanced Drug Delivery Reviews*, v. 46, p. 3–26, 2001.

LOUNKINE, E. et al. Large-scale prediction and testing of drug activity on side-effect targets. *Nature*, v. 486, p. 361–367, 2012.

MATALLANAS, D. et al. RASSF1A elicits apoptosis through an MST2 pathway directing proapoptotic transcription by the p73 tumor suppressor protein. *Molecular Cell*,

v. 27, n. 6, p. 962–975, 2007. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2007.08.008>. Acesso em: 14 abr. 2025.

MELO NETO, Â. B. de. Análise integrada de expressão gênica e priorização de biomarcadores no câncer de colo uterino. 2022. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) – Universidade Federal de Uberlândia, Instituto de Ciências Biomédicas, Patos de Minas, 2022.

MENG, X. Y.; ZHANG, H. X.; MEZEI, M.; CUI, M. Molecular docking: a powerful approach for structure-based drug discovery. *Current Computer-Aided Drug Design*, v. 7, n. 2, p. 146–157, 2011. DOI: <https://doi.org/10.2174/157340911795677602>. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3151162/>. Acesso em: 12 ago. 2024.

MOODY, C. A.; LAIMINS, L. A. Human papillomavirus oncoproteins: pathways to transformation. *Nature Reviews Cancer*, v. 10, n. 8, p. 550–560, 2010. DOI: 10.1038/nrc2886. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20592731/>.

MOLINA, Mariano A.; STEENBERGEN, Renske D. M.; PUMPE, Anna; KENYON, Angelique N.; MELCHERS, Willem J. G. HPV integration and cervical cancer: a failed evolutionary viral trait. *Trends in Molecular Medicine*, v. 30, n. 9, p. 890–902, 2024. DOI: 10.1016/j.molmed.2024.05.009. MORRIS, Garrett M. et al. AutoDock4 and AutoDockTools4: Automated docking with selective receptor flexibility. *Journal of Computational Chemistry*, v. 30, n. 16, p. 2785–2791, 2009. DOI: 10.1002/jcc.21256

MÜNGER, K. et al. Mechanisms of human papillomavirus-induced oncogenesis. *Journal of Virology*, v. 78, n. 21, p. 11451–11460, 2004. DOI: <https://doi.org/10.1128/JVI.78.21.11451-11460.2004>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15479788/>. Acesso em: 27 maio 2025.

MUÑOZ, N. et al. Role of parity and human papillomavirus in cervical cancer: the IARC multicentric case-control study. *The Lancet*, London, v. 359, n. 9312, p. 1093–1101, 2002. DOI: 10.1016/S0140-6736(02)08151-5.

NAYAR, R.; WILBUR, D. C. The Bethesda System for Reporting Cervical Cytology: Definitions, Criteria, and Explanatory Notes. 3. ed. Cham: Springer International Publishing, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1007/978-3-319-11074-5>. Disponível em: <https://link.springer.com/book/10.1007/978-3-319-11074-5>. Acesso em: 18 jul. 2024

NOSENKO, N. Can you teach old drugs new tricks? *Nature*, v. 534, p. 314–316, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1038/534314a>.

PANG, S. W.; LAHIRI, C.; POH, C. L.; TAN, K. O. PNMA family: Protein interaction network and cell signalling pathways implicated in cancer and apoptosis. *Cellular Signalling*, v. 45, p. 54–62, maio 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cellsig.2018.01.022>.

PAL, M. K. et al. An improved protein structure evaluation using a semi-empirically derived structure property. *BMC Structural Biology*, v. 18, p. 16, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12900-018-0097-0>

PONTIUS, J.; RICHELLE, J.; WODAK, S. J. Deviations from standard atomic volumes as a quality measure for protein crystal structures. *Journal of Molecular Biology*, v. 264, n. 1, p. 121–136, 1996.

PUSHPAKOM, S. et al. Drug repurposing: progress, challenges and recommendations. *Nature Reviews Drug Discovery*, v. 18, p. 41–58, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1038/nrd.2018.168>.

QIAN, S. et al. The role of BCL-2 family proteins in regulating apoptosis and cancer therapy. *Frontiers in Oncology*, v. 12, 985363, 2022. DOI: 10.3389/fonc.2022.985363

REICH, O. et al. Defining the cervical transformation zone and squamocolumnar junction: can we reach a common colposcopic and histologic definition? *International Journal of Gynecological Pathology*, v. 36, n. 6, p. 517–522, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1097/PGP.0000000000000381>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28639968/>. Acesso em: 18 jul. 2024

REDIGUIERI, C. F.; DIAS, A. P.; GRADIM, M. M. Registro de medicamentos novos. Universidade de São Paulo – USP, São Paulo, SP, 2015. Disponível em: http://www.medicinanet.com.br/conteudos/revisoes/6065/registro_de_medicamentos_novos.htm#. Acesso em: 25 abr. 2024.

ROCHA, Natália Pereira. Metaloproteínas de matriz e seus moduladores induzidos na infecção pelo HPV in situ e in vitro. Rio de Janeiro, 2018. Disponível em: <https://www.arca.fiocruz.br/handle/icict/34717>. Acesso em: 27 maio 2025.

ROTHWELL, P. M. et al. Long-term effect of aspirin on colorectal cancer incidence and mortality. *The Lancet*, v. 377, p. 31–41, 2011. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(10\)62110-1](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(10)62110-1).

ROSA, M. I. et al. Persistence and clearance of human papillomavirus infection: a prospective cohort study. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, v. 199, n. 6, p. 617.e1–617.e7, 2008. DOI: 10.1016/j.ajog.2008.06.033.

ROSENFELD, M. R. et al. Paraneoplastic syndromes: more than just neurological disorders. *Current Opinion in Neurology*, v. 14, n. 6, p. 683–690, 2001.

ROTHWELL, P. M. et al. Effect of daily aspirin on risk of cancer metastasis: a study of incident cancers during randomised controlled trials. *The Lancet*, v. 379, n. 9826, p. 1591–1601, 28 abr. 2012. DOI: 10.1016/S0140-6736(12)60209-8.

SÁNCHEZ-SANZ, Goar; MATALLANAS, David; NGUYEN, Lan K.; KHOLODENKO, Boris N.; ROSKA, Edina; KOLCH, Walter; BUCHETE, Nicolae-Viorel. MST2–RASSF protein–protein interactions through SARAH domains. *Briefings in Bioinformatics*, [S.l.], v. 17, n. 4, p. 593–602, 2015. DOI: 10.1093/bib/bbv070.

SASAGAWA, T.; TAKAGI, H.; MAKINODA, S. Immune responses against human papillomavirus (HPV) infection and evasion of host defense in cervical cancer. *Journal of Infection and Chemotherapy*, v. 18, n. 6, p. 807–815, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10156-012-0485-5>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1341321X12702040>. Acesso em: 18 jul. 2024.

Sanjosé, et al. Human papillomavirus genotype attribution in invasive cervical cancer: a retrospective cross-sectional worldwide study. *Lancet Oncology*, v. 11, n. 11, p. 1048–1056, 2010. DOI: 10.1016/S1470-2045(10)70230-8S

SANTOS, M. O. et al. Estimativa de incidência de câncer no Brasil, 2023–2025. *Revista Brasileira de Cancerologia*, Rio de Janeiro, v. 69, n. 1, e-3700, 2023. DOI: <https://doi.org/10.32635/2176-9745.RBC.2023v69n1.3700>. Disponível em: <https://rbc.inca.gov.br/index.php/revista/article/view/3700>. Acesso em: 27 maio 2025.

SASTRY, G. M. et al. Protein and ligand preparation: parameters, protocols, and influence on virtual screening enrichments. *Journal of Computer-Aided Molecular Design*, v. 27, p. 221–234, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10822-013-9644-8>.

SCHEFFNER, M., WERNESS, B. A., HUIBREGTSE, J. M., LEVINE, A. J., HOWLEY, P. M. The E6 oncoprotein encoded by human papillomavirus types 16 and 18 promotes the degradation of p53. *Cell*, v. 63, n. 6, p. 1129–1136, 1990. DOI: [https://doi.org/10.1016/0092-8674\(90\)90409-8](https://doi.org/10.1016/0092-8674(90)90409-8).

SOLOMON, D. et al. The 2001 Bethesda System: terminology for reporting results of cervical cytology. *JAMA*, Chicago, v. 287, n. 16, p. 2114–2119, 2002. DOI: <https://doi.org/10.1001/jama.287.16.2114>.

SHERMAN, W. et al. Novel procedure for modeling ligand/receptor induced fit effects. *Journal of Medicinal Chemistry*, v. 49, p. 534–553, 2006. DOI: <https://doi.org/10.1021/jm050540c>.

SCHIFFMAN, M. et al. Human papillomavirus and cervical cancer. *The Lancet*, v. 370, n. 9590, p. 890–907, 2007. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(07\)61416-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(07)61416-0)

SCHÜLLER, M.; JENNE, D.; VOLTZ, R. The human PNMA family: novel neuronal proteins implicated in paraneoplastic neurological disease. *Journal of Neuroimmunology*, Amsterdam, v. 169, n. 1–2, p. 172–176, 2005. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jneuroim.2005.08.019>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0165572805003723>. Acesso em: 15 set. 2024.

SIMPSON, A. J. G. et al. Cancer/testis antigens, gametogenesis and cancer. *Nature Reviews Cancer*, v. 5, p. 615–625, 2005. DOI: 10.1038/nrc1669.

SINGHAL, S. et al. Antitumor activity of thalidomide in refractory multiple myeloma. *New England Journal of Medicine*, v. 341, n. 21, p. 1565–1571, 1999. DOI: <https://doi.org/10.1056/NEJM199911183412102>.

SOUSA, S. F. et al. Protein-ligand docking: current status and future challenges. *Proteins*, v. 65, n. 1, p. 15–26, 2006. DOI: <https://doi.org/10.1002/prot.21082>.

STOKES, J. M. et al. A deep learning approach to antibiotic discovery. *Cell*, v. 180, n. 4, p. 688–702.e13, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.01.021>.

STUBENRAUCH, F.; LAIMINS, L. A. Human papillomavirus life cycle: active and latent phases. *Seminars in Cancer Biology*, v. 9, n. 6, p. 379–386, 1999. DOI: <https://doi.org/10.1006/scbi.1999.0141>.

SU, Yanfang; WANG, Weixia; MENG, Xianfang. Revealing the roles of MOAP1 in diseases: a review. *Cells*, v. 11, n. 5, p. 889, 2022. DOI: 10.3390/cells11050889.

Smith, S. A., Sessions, R. B., Shoemark, D. K., Williams, C., Ebrahimighaei, R., McNeill, M. C., & Bond, M. (2019). Antiproliferative and Antimigratory Effects of a Novel YAP–TEAD Interaction Inhibitor Identified Using in Silico Molecular Docking. *Journal of Medicinal Chemistry*, 62(3), 1291–1305. DOI: 10.1021/acs.jmedchem.8b01402

SNIJEDERS, P. J. F. et al. HPV-mediated cervical carcinogenesis: concepts and clinical implications. *The Journal of Pathology*, Hoboken, v. 208, n. 2, p. 152–164, 2006. DOI: 10.1002/path.1866. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/path.1866>. Acesso em: 10 jul. 2024

SWAIN, A. L. et al. X-ray crystallographic structure of a complex between a synthetic protease of human immunodeficiency virus 1 and a substrate-based hydroxyethylamine inhibitor. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, v. 87, n. 22, p. 8805–8809, 1990. DOI: 10.1073/pnas.87.22.8805. Acesso em: 21 nov. 2024

TAN, K. O. et al. MAP-1 is a mitochondrial effector of Bax. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, v. 102, n. 41, p. 14623–14628, 2005. DOI: <https://doi.org/10.1073/pnas.0503524100>. Acesso em: 15 out. 2024.

TURANLI, B. et al. Drug repositioning for effective prostate cancer treatment. *Frontiers in Physiology*, v. 9, p. 500, 2018. DOI: 10.3389/fphys.2018.00500.

UNIPROT. UniProtKB database. Disponível em: <https://www.uniprot.org/>.

UCLA-DOE LAB. *SAVES - Structural Analysis and Verification Server v6.1*. Disponível em: <https://saves.mbi.ucla.edu>.

VAN DER WEYDEN, L.; ADAMS, D. J. The Ras-association domain family (RASSF) members and their role in human tumorigenesis. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Reviews on Cancer*, v. 1776, n. 1, p. 58–85, 2007. DOI: 10.1016/j.bbcan.2007.06.003.

VERBAANDERD, C.; MAES, H.; SCHAAF, M. B.; SUKHATME, V. P.; PANTZIARKA, P.; SUKHATME, V.; AGOSTINIS, P.; BOUCHE, G. Repurposing Drugs in Oncology (ReDO)—chloroquine and hydroxychloroquine as anti-cancer agents. *Ecancermedicalscience*, v. 11, p. 781, 2017. DOI: 10.3332/ecancer.2017.781.

VOLODKO, Natalia; GORDON, Marilyn; SALLA, Mohamed; ABU GHAZALEH, Haya; BAKSH, Shairaz. RASSF tumor suppressor gene family: Biological functions and regulation. *FEBS Letters*, v. 588, n. 16, p. 2671–2684, 2014. DOI: 10.1016/j.febslet.2014.02.041.

WALBOOMERS, J. M. M. et al. Human papillomavirus is a necessary cause of invasive cervical cancer worldwide. *The Journal of Pathology*, Hoboken, v. 189, n. 1, p. 12–19, 1999. DOI: 10.1002/(SICI)1096-9896(199909)189:1<12::AID-PATH431>3.0.CO;2-F. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10451482/>. Acesso em: 10 jul. 2024.

WANG, W. et al. Defining the protein–protein interaction network of the human Hippo pathway. *Molecular & Cellular Proteomics*, v. 13, n. 1, p. 119–131, 2014. DOI: 10.1074/mcp.M113.030049.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). Classification of tumours: female genital tumours. 5. ed. Lyon: International Agency for Research on Cancer, 2021. (WHO Classification of Tumours Series, v. 4).

WILLS, N. M. et al. A functional -1 ribosomal frameshift signal in the human paraneoplastic Ma3 gene. *Journal of Biological Chemistry*, Bethesda, v. 281, n. 10, p. 7082–7088, 2006. DOI: <https://doi.org/10.1074/jbc.M511629200>.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). Global strategy to accelerate the elimination of cervical cancer as a public health problem. Geneva: WHO, 2021. Disponível em: <https://www.who.int/publications/i/item/9789240014107>. Acesso em: 22 jan. 2025.

WU, Y.; SONG, Y.; WANG, R.; WANG, T. Molecular mechanisms of tumor resistance to radiotherapy. *Molecular Cancer*, v. 22, Article number: 96, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12943-023-01801-2>.

YU, F. X.; ZHAO, B.; GUAN, K. L. Hippo pathway in organ size control, tissue homeostasis, and cancer. *Cell*, v. 163, n. 4, p. 811–828, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cell.2015.10.044>

ZHANG, Z. et al. Identification of critical genes associated with radiotherapy resistance in cervical cancer by bioinformatics. *Frontiers in Oncology*, Lausanne, v. 12, 967386, 2022. DOI: <https://doi.org/10.3389/fonc.2022.967386>. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fonc.2022.967386/full>. Acesso em: 17 nov 2024.

ZANDBERG, D. P. et al. The role of human papillomavirus in nongenital cancers. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, Hoboken, v. 63, n. 1, p. 57–81, 2013. DOI: 10.3322/caac.21167. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23258613/>. Acesso em: 10 jul. 2024

ZUR HAUSEN, H. Papillomaviruses in the causation of human cancers — a brief historical account. *Virology*, v. 384, n. 2, p. 260–265, 2009. DOI: 10.1016/j.virol.2008.11.046. Acesso em: 15 jul. 2024.

ZUKHERATO, L. W. et al. Cervical cancer stem-like cell transcriptome profiles predict response to chemoradiotherapy. *Frontiers in Oncology*, v. 11, p. 639339, 2021. DOI: <https://doi.org/10.3389/fonc.2021.639339>.