



PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DE GOIÁS  
PROGRAMA DE MESTRADO EM GENÉTICA

GUILHERME PETITO

**DETECÇÃO E GENOTIPAGEM DE HPV EM CARCINOMAS DE CAVIDADE  
ORAL E OROFARINGE**

Dissertação de Mestrado

Goiânia

2014

GUILHERME PETITO

**DETECÇÃO E GENOTIPAGEM DE HPV EM CARCINOMAS DE CAVIDADE  
ORAL E OROFARINGE**

Dissertação de Mestrado apresentada ao programa de mestrado em Genética da Pontifícia Universidade Católica de Goiás como requisito parcial para obtenção do Título de Mestre em Genética.

Orientadora: Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup>. Vera Aparecida Saddi

Goiânia

2014

Dados Internacionais de Catalogação da Publicação (CIP)  
(Sistema de Bibliotecas PUC Goiás)

Petito, Guilherme.

P491d Detecção e genotipagem do HPV em carcinomas de cavidade oral e orofaringe [manuscrito] / Guilherme Petito. – Goiânia, 2014.

59 f.: il.; 30 cm.

Dissertação (mestrado) – Pontifícia Universidade Católica de Goiás, Programa de Mestrado em Genética, 2014.

“Orientadora: Profa. Dra. Vera Aparecida Saddi”.

Bibliografia.

1. Câncer. 2. Papillomavírus humano. I. Título.

CDU 575:616.21(043)



**PUC  
GOIÁS**

PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DE GOIÁS  
PRÓ-REITORIA DE GRADUAÇÃO

Av. Universitária, 1069 • Setor Universitário  
Caixa Postal 86 • CEP 74605-010  
Goiânia • Goiás • Brasil  
Fone: (62) 3946.1021 • Fax: (62) 3946.1397  
www.pucgoias.edu.br • prograd@pucgoias.edu.br

**ATA COMPLEMENTAR Nº 90/2014**

**MESTRADO EM GENÉTICA DA PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DE GOIÁS**

**DISCENTE: GUILHERME PETITO**

**DEFENDIDA EM 25 DE JUNHO DE 2014 E aprovado COM CONCEITO A.**

O título foi alterado (  ) não (  ) sim \_\_\_\_\_

**BANCA EXAMINADORA**

Profª. Dra. Vera Aparecida Saddy  
(presidente-orientador)

Prof. Dr. Paulo Roberto de Melo Reis / PUC Goiás  
(membro interno)

Profª. Dra. Megmar Aparecida Santos Carneiro / UFG  
(membro externo)

## DEDICATÓRIA

---

**Dedico este trabalho...**

À minha esposa Anamaria Donato C. Petito, à minha Mãe Tânia Cristina Gomide, ao meu irmão Pedro Henrique e ao meu filho Guilherme, por serem tão especiais na minha vida. O apoio e a presença de vocês foram a minha motivação para a conclusão deste trabalho.

## AGRADECIMENTOS

---

Agradeço à DEUS, acima de tudo, pelo direcionamento e pelas oportunidades que têm colocado no meu caminho, me permitindo ser uma pessoa melhor, crescer e evoluir mentalmente e espiritualmente.

A minha esposa, Anamaria, por ser uma peça fundamental nesse processo de crescimento, pela paciência, companheirismo, amizade, confidencialidade e pelo amor que demonstra a cada dia. Você foi um presente de DEUS e minha responsabilidade com você é imensa.

Ao meu filho, Guilherme, que me trouxe alegria, responsabilidade e paz. Também foi um presente que DEUS me deu e que tenho o maior orgulho e amor eterno. Você é minha motivação de vida.

A minha mãe, Dona Tânia, guerreira, exemplo de resiliência, de coragem e persistência. Sem seu apoio, de todas as formas que foi dado, jamais teria chegado ao final deste trabalho. Parabéns, pela mãe que você é e principalmente por me ensinar a ser forte, enfrentar os problemas de frente e seguir sempre adiante.

Ao meu irmão Pedro, companheiro e amigo, pelo apoio dado e por fazer parte da minha vida. É mais que um irmão, quase um filho, e suas conquistas me motivam a seguir em frente. E a minha cunhada, Ana Clara, por ter entrado em nossas vidas e agregado valores imensuráveis.

Aos meus familiares, Tios e Tias, pelo cuidado que sempre tiveram comigo, em especial minha Avó, Josefina e ao meu Avô, Alisson (*in memoriam*), pelo carinho e pela criação que me deram.

Aos meus sogros, Helena e José Marinho, pois o apoio e compreensão de vocês foram fundamentais nessa trajetória.

À Dr<sup>a</sup>. Vera Aparecida Saddi, que demonstrou em cada orientação que este não é somente um trabalho de defesa de mestrado e sim uma pesquisa científica, e como tal, deve ser feita com responsabilidade maior. Durante todo

este período se tornou para mim um exemplo de profissional e uma referência que pretendo seguir e espero um dia alcançar. Obrigado por tudo.

À FACER – Ceres, e aos meus colegas de trabalho, que me deram todo apoio profissional necessário, sempre que precisei. Hoje mais que uma empresa empregadora é uma extensão da minha casa e tem todo meu respeito.

Aos meus colegas do mestrado, Caio Bruno e em especial Tatiane Ribeiro, pela parceria, ajuda e suporte dado durante todo processo de pesquisa, escrita e conclusão do trabalho. Juntos formamos uma equipe, e os problemas do dia a dia ficaram mais fáceis de serem enfrentados.

Aos mestres e aos funcionários do Programa de Mestrado em Genética da Pontifícia Universidade Católica de Goiás, pelo apoio e dedicação.

Aos funcionários da Hospital Araújo Jorge, dos diferentes departamentos, que em cada momento da pesquisa foram solícitos e determinantes para a finalização deste trabalho.

À FAPEG, pelo apoio financeiro dado na reta final deste trabalho, fundamental para a conclusão do curso.

Aos pacientes, não só os que participaram desta pesquisa, mas a todos que enfrentaram e estão enfrentando o câncer. Todo trabalho e dificuldade na construção deste trabalho não se compara a um segundo do desafio que enfrenta um paciente e seus familiares. Fazer parte da elaboração de um trabalho que possa, mesmo que como uma gota no oceano, contribuir para um futuro melhor foi uma motivação a mais. Que DEUS abençoe todos vocês e seus familiares.

## LISTA DE FIGURAS E TABELAS

---

<b>Figura 1</b> - Anatomia da Cavidade Oral .....	11
<b>Figura 2</b> - Anatomia da Orofaringe .....	12
<b>Figura 3</b> - Esquema representativo da ação da p16 sobre a proliferação celular em circunstâncias normais (A) e quando há alteração na expressão desta proteína (B) .....	18
<b>Figura 4</b> - Regulação da expressão da p16. (A) pRb e E2F associadas, baixa expressão da p16. (B) pRb fosforilada e E2F livre, maior expressão da p16.....	19
<b>Figura 5</b> - Super expressão da p16 em células tumorais infectadas pelo HPV de alto risco.....	22
<b>Tabela 1</b> - Estimativas de novos casos de carcinoma de cavidade oral, por sexo e região/estado e taxas brutas de incidência por 100.000 habitantes, no ano de 2014.....	15
<b>Tabela 2</b> - Detecção do DNA do HPV e genotipagem do HPV 16 em pacientes com carcinoma de células escamosas de cavidade oral/orofaringe em países no período de 2000 a 2013 .....	24

### TABELAS DO ARTIGO

<b>Tabela 1</b> - Conjuntos de oligonucleotídeos iniciadores do gene GAPDH para a confirmação de presença e integridade do DNA .....	34
<b>Tabela 2</b> - Conjuntos de oligonucleotídeos iniciadores SPF 1/2 para detecção de HPV .....	35



<b>Tabela 3</b> - Conjuntos de oligonucleotídeos iniciadores para detecção de HPV16 e HPV18 .....	35
<b>Tabela 4</b> - Análise descritiva das características sociodemográficas do grupo estudado.....	36
<b>Tabela 5</b> - Análise descritiva das características clinicopatológicas do grupo estudado.....	37
<b>Tabela 6</b> - Características sociodemográficas dos pacientes HPV(-) e HPV(+) .....	38
<b>Tabela 7</b> - Características clinicopatológicas dos pacientes HPV(-) e HPV(+) .....	39
<b>Tabela 8</b> - Características clinicopatológicas entre os diferentes genótipos encontrados .....	40
<b>Tabela 9</b> - Detecção do DNA do HPV e genotipagem do HPV 16 em pacientes com carcinoma de células escamosas de cavidade oral/orofaringe em países no período de 2000 a 2013 .....	42

## LISTA DE ABREVIATURAS

---

<b>ACCG</b>	Associação de Combate ao Câncer de Goiás
<b>CCE</b>	Carcinoma de Células Escamosas
<b>CCECP</b>	Carcinomas de Células Escamosas de Cabeça e Pescoço
<b>CDK4</b>	Quinase dependente de ciclina 4
<b>CDK6</b>	Quinase dependente de ciclina 6
<b>DNA</b>	Ácido Desoxiribonucléico
<b>DST</b>	Doença Sexualmente Transmissível
<b>E2</b>	Oncoproteína viral precoce 2
<b>E6</b>	Oncoproteína viral precoce 6
<b>E7</b>	Oncoproteína viral precoce 7
<b>E2F</b>	Fator de Transcrição
<b>EUCAN</b>	Agência Europeia de Câncer
<b>Fase G1</b>	Fase pré-síntese de DNA do ciclo celular
<b>Fase S</b>	Fase de síntese de DNA do ciclo celular
<b>GAPDH</b>	Gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase
<b>GST</b>	Glutathione - S - transferase
<b>H AJ</b>	Hospital Araújo Jorge
<b>HPV</b>	Papilomavírus Humano
<b>HPV 16</b>	Papilomavírus Humano tipo 16
<b>HPV 18</b>	Papilomavírus Humano tipo 18
<b>IARC</b>	Agência Internacional de Pesquisa sobre o Câncer
<b>INCA</b>	Instituto Nacional do Câncer
<b>KI-67</b>	Antígeno de Proliferação Celular
<b>L1</b>	Oncoproteína viral tardia 1
<b>L2</b>	Oncoproteína viral tardia 2
<b>p16</b>	Proteína 16
<b>p53</b>	Proteína 53
<b>pb</b>	Pares de bases

<b>PCR</b>	do inglês: <i>Polymerase Chain Reaction</i> (Reação em cadeia da Polimerase)
<b>pRb</b>	Proteína retinoblastoma
<b>SEER</b>	do inglês: <i>Surveillance, Epidemiology, and Results Program</i>
<b>SPF</b>	do inglês: <i>short PCR fragment</i>
<b>TP16</b>	Gene codificante da proteína 16
<b>TP53</b>	Gene codificante da proteína 53
<b>TPRb</b>	Gene codificante da proteína retinoblastoma

## SUMÁRIO

---

RESUMO .....	xii
ABSTRACT .....	xiii
1. INTRODUÇÃO .....	14
1.1. Tumores cavidade oral e orofaringe .....	14
1.2. Carcinomas escamosos de cavidade oral e orofaringe .....	15
1.3. História natural dos carcinomas de cavidade oral e orofaringe .....	16
1.4. Epidemiologia dos carcinomas de cavidade oral .....	17
1.5. Fatores de risco .....	19
1.6. Genética dos carcinomas de cavidade oral .....	20
1.7. Tratamento dos carcinomas de cavidade oral .....	23
1.8. HPV e carcinogênese .....	23
1.9. Prevalência do HPV nos carcinomas de cavidade oral e orofaringe .....	26
1.10. Associações entre a presença do HPV e as características clínicas dos carcinomas de cavidade oral e orofaringe .....	27
2. JUSTIFICATIVA .....	29
3. OBJETIVOS .....	30
3.1. Objetivo Geral: .....	30
3.2. Objetivos específicos .....	30
4. PUBLICAÇÃO .....	31
4.1. Artigo a ser submetido à Oral Oncology .....	31
5. CONCLUSÕES .....	50
6. REFERÊNCIAS .....	51
7. ANEXOS .....	56
7.1. Anexo 1 – Ficha de coleta de dados clinicopatológicos dos carcinomas de cavidade oral e orofaringe do HAJ .....	56
7.2. Aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa da Associação de Combate ao Câncer em Goiás (CEPAACCG) .....	57

## RESUMO

---

O Papilomavírus humano (HPV), tem sido associado com o risco e o prognóstico dos carcinomas da cavidade oral e orofaringe. Este estudo teve como objetivo estimar a prevalência e a distribuição genotípica do HPV 16 e 18 em carcinomas de cavidade oral e orofaringe, bem como suas associações aos fatores clínicos e histopatológicos dos tumores. É um estudo retrospectivo descritivo, com dados coletados análise de 82 prontuários e de blocos de parafina contendo espécimes de carcinomas de cavidade oral e orofaringe diagnosticados no Hospital Araújo Jorge (HAJ), em Goiânia-GO, entre 2005 e 2007. A reação em cadeia da polimerase (PCR) foi usada para detecção e genotipagem do HPV. Dentre os 82 pacientes avaliados, 78% eram do sexo masculino. A média de idade dos pacientes foi de 58 anos. Fatores de risco, como tabagismo (78%) e etilismo (70,8%) foram registrados no grupo estudado. O DNA do HPV foi detectado em 21 casos (25,6%; IC 95%: 16,9 – 36,6) dos quais 33,3% eram o HPV 16 e 14,3% o HPV 18. A presença de metástases linfonodais e os óbitos foram menos frequentes nos tumores que apresentaram HPV, sugerindo um melhor prognóstico para esses casos, porém, as diferenças entre os grupos não foram estatisticamente significativas. Os dados descritos no presente estudo, com relação à presença do genoma do HPV, incluindo os genótipos de alto risco, HPV16 e HPV18, destacam a importância de vacinação contra o HPV no controle dos carcinomas de cavidade oral e orofaringe.

**Palavras-chave:** Carcinoma cavidade oral; Carcinoma de orofaringe  
Papilomavírus Humano; Fatores de risco

## ABSTRACT

---

The human papillomavirus (HPV) has been associated with the risk and prognosis of oral cavity and oropharynx carcinomas. This study aimed to estimate the prevalence and genotype distribution of HPV 16 and 18 in oral cavity and oropharyngeal carcinomas, as well as their associations with clinical and histopathological factors of tumors. It is a retrospective descriptive study, with gathered data analysis of 82 medical records and paraffin blocks containing specimens of oral cavity carcinomas and oropharynx diagnosed at the Hospital Araújo Jorge (HAJ), in Goiânia-GO, between 2005 and 2007. The chain reaction polymerase (PCR) was used for HPV detection and genotyping. Among the 82 evaluated patients, 78% were male. The average age of patients was 58 years. Risk factors, like smoking (78 %) and ethylism (70.8 %), were registered in the studied group. HPV DNA was detected in 21 cases (25.6%; 95% CI: 16.9 to 36.6) of which 33.3% were HPV 16 and 14.3% HPV 18. The presence of metastases lymph node and deaths were less common in tumors with HPV, suggesting a better prognosis for these cases, however, the differences between the groups were not statistically significant. The data described in the present study, regarding the presence of the HPV genome, and the high risk oncogenic genotypes, HPV16 and HPV18, in oral cavity and oropharynx carcinomas highlights the importance of vaccination against HPV in such tumours.

**Key words:** Oral cavity carcinoma; oropharynx carcinoma; Human Papillomavirus; Risk Factors

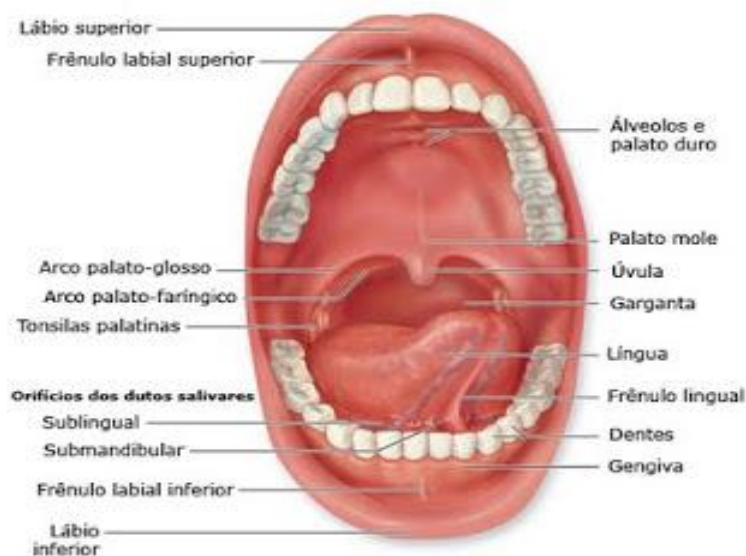
## 1. INTRODUÇÃO

---

### 1.1. Tumores cavidade oral e orofaringe

Carcinomas de células escamosas de cabeça e pescoço (CCECP) ocupam o sexto lugar dentre os carcinomas mais frequentes no mundo (CHATURVEDI, 2012). Neste grupo estão incluídos os carcinomas de cavidade oral e orofaringe (QUINTERO et al., 2013).

A cavidade oral representa toda região que se estende desde as pregas dos lábios até o palato. A área delimitada pelos dentes e gengiva também integra essa região. Possui na porção superior, o palato duro e na porção posterior, o palato mole. Na porção inferior, estão a língua e o assoalho da boca. Nas laterais, a porção que se estende desde a comissura dos lábios até a região retromolar (Figura 1) (BARNES, 2005).

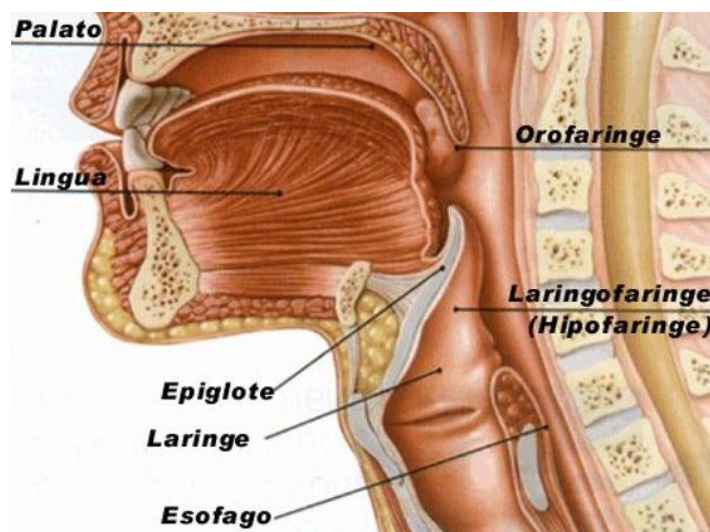


**Figura 1** Anatomia da Cavidade Oral

Fonte: <http://magicnumbers-parussolo.blogspot.com.br/2011/05/sistema-digestorio.html>

A orofaringe é a porção da faringe que mantém íntimo contato com a cavidade oral. É a extensão da cavidade oral que vai desde o palato mole até a parede da faringe. É delimitado superiormente pelo palato mole e inferiormente por uma linha horizontal imaginária que passa pela epiglote (Figura 2). Lateralmente encontram-se as tonsilas palatinas. Ambas as regiões são

drenadas por um rico plexo linfático que se subdivide em marginal e central. (BARNES, 2005).



**Figura 2** Anatomia da Orofaringe

Fonte: <http://www.ufrj.br/institutos/it/de/acidentes/garganta.gif>

A histologia da cavidade oral pode variar nas diferentes regiões anatômicas. Basicamente, é revestida por um tecido epitelial estratificado escamoso com lâmina própria repousando sobre o periósteo. A região orofaríngea possui a mesma constituição histológica que compõem a maior parte da cavidade oral, ou seja, um tecido epitelial estratificado escamoso não queratinizado. Difere-se da nasofaringe uma vez que esta é composta por um tecido tipo respiratório com epitélio pseudoestratificado colunar ciliado (GONZÁLEZ et al., 2007).

A grande maioria dos carcinomas de cavidade oral e orofaringe são descritos em células escamosas e as causas epidemiológicas que levam ao desenvolvimento destas neoplasias são variadas (TERMINE et al., 2008). As variações nos fatores epidemiológicos tornam os grupos de pacientes, antes homogêneos, agora mais heterogêneos (WESTRA, 2009).

## **1.2. Carcinomas escamosos de cavidade oral e orofaringe**

Os carcinomas de células escamosas (CCE) representam a grande maioria dos carcinomas que acometem a região da cabeça e pescoço,



representando de 90% a 95% das neoplasias (DEDIVITIS et al., 2004; MOTTA et al., 2009).

O CCE de orofaringe geralmente tem um diagnóstico mais tardio, provavelmente por ser uma região com menos inervações e menos suscetível ao aparecimento de sintomas imediatos. Uma explicação para diferenças no comportamento clínico e biológico nos diferentes sítios de CCECP é a identificação de alterações genéticas e mudanças funcionais em diferentes conjuntos de genes, porém, o mecanismo completo ainda não está totalmente esclarecido (WITTEKINDT et al., 2012).

### **1.3. História natural dos carcinomas de cavidade oral e orofaringe**

O estudo da história natural dos CCE de cavidade oral e orofaringe identifica características da doença, desde suas possíveis causas até o resultado final (NGUYEN *et al.*, 2009). O CCE de cavidade oral e orofaringe tem início a partir de agressões, causadas por agentes químicos, físicos ou biológicos que levam à formação de células diferenciadas que podem evoluir para um tumor (GRAVITT, 2011). Alterações na genética da célula levam à formação de um processo que culmina na proliferação de células anormais que, se não diagnosticadas e tratadas a tempo, desencadeiam a formação de um processo tumoral com prognóstico desfavorável ao paciente (TABY; ISSA, 2010).

A evolução depende de fatores causais, além do sítio acometido. Isoladamente, fatores como tabagismo, etilismo e a presença de HPV de alto risco podem desencadear o processo de carcinogênese, porém, com uma velocidade e forma de agressividade menor do que quando esses fatores estão associados (HONG et al., 2010).

O estadiamento do câncer de cavidade oral e orofaringe associado aos fatores epidemiológicos destes carcinomas é fundamental no diagnóstico, prognóstico e principalmente no planejamento do tratamento mais adequado (MONTORO et al., 2008; ZHAO et al., 2009).

O prognóstico destes tumores ainda é sombrio, apesar da evolução nas técnicas de diagnóstico e tratamento, pois apresentam baixas taxas de sobrevida em 5 anos, em torno de 58,3% para carcinomas de cavidade oral e

52,7 para carcinomas de orofaringe (OLIVEIRA; RIBEIRO-SILVA; ZUCOLOTO, 2006). Campanhas de vacinação contra o HPV são medidas que podem influenciar na história natural dos carcinomas associados ao vírus (SANCHES, 2010).

#### **1.4. Epidemiologia dos carcinomas de cavidade oral**

As últimas estimativas da Agência Internacional de Pesquisa sobre o Câncer (IARC) relatam que, no mundo, os tumores de cavidade oral corresponderam a cerca de 264 mil casos novos e 128 mil óbitos, no ano de 2008. A incidência é maior nos homens do que nas mulheres, com estimativa aproximada de 2,3:1 (IARC, 2012).

Nos Estados Unidos, de acordo com o *Surveillance Epidemiology and End Results* (SEER), para 2014, a estimativa é de 42.440 novos casos de carcinomas de cavidade oral e orofaringe, com 8.590 mortes. A média de idade dos pacientes diagnosticados com carcinoma de cavidade oral e orofaringe é de 62 anos, sendo que as maiores incidências estão entre os 55 e 64 anos, correspondendo a 29,5% de todos os casos. A taxa de incidência é estimada em 11 casos por 100.000 habitantes (SEER, 2014).

Na União Européia, os últimos dados indicam uma incidência de 73.014 casos com 28.171 óbitos para carcinomas de cavidade oral e orofaringe, com uma taxa de 12 novos casos por 100.00 habitantes, de acordo com dados da EUCAN, 2012. A Hungria está no topo da lista com uma taxa de 24 novos casos por 100.000 habitantes. O país com maior número de casos foi a Alemanha com 15.891 novos casos e 5.016 óbitos, em 2012, e uma taxa de incidência de 14 novos casos por 100.000 habitantes (EUCAN, 2012).

Segundo o Instituto Nacional de Cancer no Brasil, (INCA), a estimativa de câncer de cavidade oral no Brasil, em 2014, é de 15.290 novos casos, com 4.891 mortes e uma taxa de 11,54 novos casos por 100.000 habitantes para homens e 3,92 novos casos por 100.000 para mulheres. Estes dados são estimativas de acordo com os casos registrados nos anos anteriores para cada região e variam consideravelmente entre os estados, como pode ser observado na tabela 1 (INCA, 2014).

No estado de Goiás, a estimativa de casos de carcinoma de cavidade oral é de 370 casos, em 2014, sendo 260 em homens e 110 casos em mulheres, e uma taxa de incidência de 9,1 casos novos por 100.000 habitantes (INCA, 2014).

**Tabela 1** Estimativas de novos casos de carcinoma de cavidade oral, por sexo e região/estado e taxas brutas de incidência por 100.000 habitantes, no ano de 2014.

REGIÃO/ESTADO	HOMEM	Taxa Bruta	MULHER	Taxa Bruta	TOTAL
<b>NORTE*</b>	<b>270</b>	<b>3,21</b>	<b>140</b>	<b>1,9</b>	<b>410</b>
Amazonas	60	3,54	20	1,14	80
Pará	120	3,06	70	1,8	190
Rondônia	30	3,89	15	1,24	45
Roraima	15	3,26	15	2,57	30
Tocantins	30	3,89	15	1,91	35
<b>NORDESTE</b>	<b>1960</b>	<b>7,16</b>	<b>1060</b>	<b>3,72</b>	<b>3020</b>
Alagoas	90	5,57	40	2,56	130
Bahia	610	8,07	350	3,22	960
Ceará	310	6,97	220	4,70	530
Maranhão	70	2,06	50	1,51	120
Paraíba	170	9,25	120	6,06	290
Pernambuco	410	9,23	200	4,17	610
Piauí	70	4,31	50	3,03	120
Rio Grande do Norte	140	8,9	90	5,27	230
Sergipe	90	9,28	40	4,1	130
<b>CENTRO - OESTE</b>	<b>590</b>	<b>8,6</b>	<b>250</b>	<b>3,2</b>	<b>840</b>
Distrito Federal	90	7,05	50	3,18	150
Goiás	260	8,5	110	3,35	370
Mato Grosso	120	7,1	40	2,68	160
Mato Grosso do Sul	120	10,01	50	4,1	170
<b>SUDESTE</b>	<b>6320</b>	<b>15,48</b>	<b>2110</b>	<b>4,88</b>	<b>8430</b>
Espírito Santo	290	16,41	110	6,04	400
Minas Gerais	1100	10,75	420	3,69	1520
Rio de Janeiro	1480	18,71	530	6,12	2010
São Paulo	3450	16,49	1050	4,74	4510
<b>SUL</b>	<b>2140</b>	<b>15,21</b>	<b>450</b>	<b>3,09</b>	<b>2590</b>
Paraná	880	16,14	190	3,34	1070
Rio Grande do Sul	840	15,48	190	3,4	1030
Santa Catarina	420	13,14	70	2,1	490
<b>TOTAL</b>	<b>11280</b>	<b>11,54</b>	<b>4010</b>	<b>3,92</b>	<b>15290</b>

Fonte: Estimativa 2014, Ministério da Saúde, Brasil. \* Acre e Amapá não possuem dados computados.

## 1.5. Fatores de risco

O tabagismo, o etilismo e a infecção pelo HPV são os fatores de risco mais relevantes para os carcinomas de cavidade oral e orofaringe (KREIMER et al., 2005; MOTTA et al., 2009). O tabagismo e o consumo de álcool juntos representam os principais fatores de risco associados a uma grande parte dos carcinomas de cavidade oral e orofaringe (ZHAO et al., 2009). Os carcinomas associados ao tabagismo e etilismo incluem as neoplasias mais agressivas e com pior prognóstico (OLIVEIRA; RIBEIRO-SILVA; ZUCOLOTO, 2006). Estas substâncias, isoladamente oferecem riscos de carcinogênese na cavidade oral e orofaringe, porém, quando associadas a outros fatores, como falta de higiene oral, fatores genéticos e à infecção por HPV, o risco torna-se consideravelmente maior (MONTORO et al., 2008; OLIVEIRA et al., 2008).

Tabagismo e etilismo, associados a polimorfismos genéticos em genes GSTs (Glutathione-S-transferases), que metabolizam os componentes do cigarro, aumentam os riscos de CCECP, sendo que o tabagismo resulta em aumento de até 3,5 vezes na susceptibilidade ao câncer, comparado a um indivíduo não tabagista (SINGH et al., 2008).

Tumores de cavidade oral e orofaringe, induzidos pelo tabaco ocorrem a partir de efeitos genotóxicos de componentes do tabaco, como nitrosaminas e hidrocarbonetos policíclicos, na mucosa destas regiões. O Metabólito do álcool, o acetaldeído, também interfere na síntese e no reparo do DNA. O álcool aumenta consideravelmente o potencial cancerígeno do tabaco, pois funciona como solvente para os constituintes desta substância (WITTEKINDT et al., 2012).

Com aumento de campanhas anti tabagismo e contra o consumo abusivo do álcool no mundo todo, o número de casos de carcinoma oral associados ao HPV ganhou destaque (D'SOUZA et al., 2014). A prevalência do HPV foi relatada em diversos estudos que avaliam a frequência deste vírus em carcinomas da cavidade oral e orofaringe. (LIM et al., 2007; OLIVEIRA et al., 2008; HONG et al., 2010; MONTALDO et al., 2010). Prática de sexo oral desprotegido, além da própria prática do sexo sem proteção contribuem para a disseminação do vírus e a mudança natural de sua localização, uma vez que o

HPV é mais comum na região genital. Estes fatores são agravados com o aumento do número de parceiros (WESDRA, 2009; PALEFSKY, 2010). A infecção pelo HPV, sobretudo pelos tipos 16 e 18, parecem direcionar a evolução do tumor e o prognóstico para um quadro diferenciado (CHATURVEDI et al., 2011; PANNONE et al., 2011).

A caracterização genotípica do HPV na região anogenital relacionada aos casos nos quais o mesmo genótipo do vírus foi encontrado na região oral parece ser relevante e vêm sendo estudada (SHIRISH SHUKLA et al., 2009). Por se tratar de uma infecção sexualmente transmissível, a associação entre a prevalência do HPV na região anogenital e também na mucosa oral de um mesmo indivíduo se torna importante, a fim de confirmar o mecanismo de transmissão (CASTRO et al., 2009).

### **1.6. Genética dos carcinomas de cavidade oral**

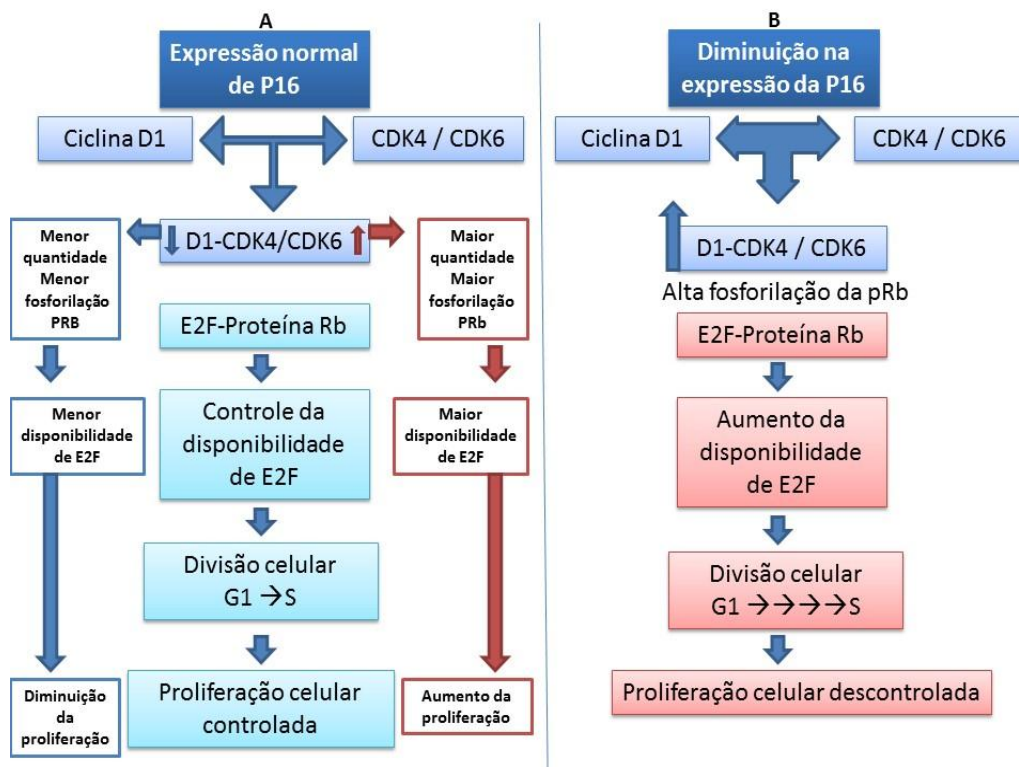
Células tumorais possuem alterações genéticas que determinam a evolução, agressividade e prognóstico de um carcinoma. Contudo, as vias e os diferentes mecanismos que desencadeiam este processo ainda não estão elucidados (FERRARI; BERK; KURDISTANI, 2009). Tumores podem surgir por alterações em genes supressores de tumor, ativação de oncogenes, alteração na expressão em múltiplos genes ou por alterações cromossômicas como deleções, ampliações ou translocações (TABY e ISSA, 2010).

Quer seja por polimorfismos em um único nucleotídeo ou deleções cromossômicas múltiplas, uma única célula alterada, que adquire propriedades de proliferação e imortalidade, é capaz de dar início à formação de um tecido tumoral (OLIVIERI et al., 2009; TABY; ISSA, 2010). Polimorfismos genéticos das GSTs, famílias multigênicas de enzimas de desintoxicação, aumentam os riscos de carcinomas por comprometimento na capacidade de metabolização de compostos tóxicos, como os presentes no tabaco, sendo que estes polimorfismos, variando de indivíduo para indivíduo, conferem a alguns uma maior susceptibilidade ao câncer (SINGH et al., 2008).

Dentre os diferentes mecanismos genéticos, destacam-se nos CCECP, sobretudo nos carcinomas de cavidade oral e orofaringe, alterações

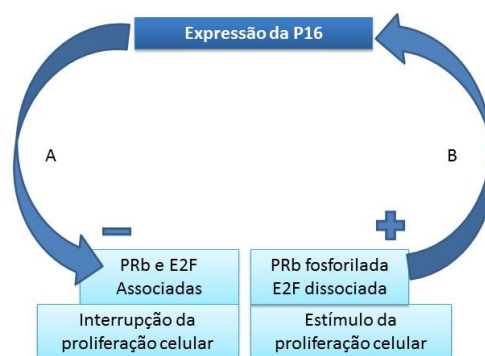
significativas nas propriedades dos produtos dos genes supressores de tumor TP16, TP53 e Rb (MUÑOZ et al., 2006).

O produto do gene TP16 (p16), mapeado em 9p21, é um inibidor da associação da ciclina D1 com as quinase dependentes de ciclinas CDK4 e CDK6. Esta associação, por sua vez, ocasiona a fosforilação da proteína pRb, associada ao fator de transcrição E2F (Figura 3). Isto permite a liberação da E2F que promove a passagem da fase G1 para fase S, dando sequência no processo da divisão celular. A expressão da p16 é regulada pela fosforilação da proteína retinoblastoma (pRb) e pela disponibilidade do E2F (Figura 4) (LIM et al., 2007; ŠKAMPERLE et al., 2013). A p16, portanto, tem um papel fundamental no ciclo celular e sua baixa expressão ou sua inativação contribui fortemente para um processo de proliferação celular, pois leva ao aumento da disponibilidade do fator de transcrição E2F. A baixa expressão desta proteína em CCECP, sinaliza para um pior prognóstico (PANNONE et al., 2011).



**Figura 3.** Esquema representativo da ação da p16 sobre a proliferação celular em circunstâncias normais (A) e quando há alteração na expressão desta proteína (B).

O produto do gene TP53 (p53), mapeado em 17p13, atua na estabilidade do genoma e no controle da proliferação celular. Uma vez que ocorram falhas no DNA, durante o processo de transcrição, e que estas falhas não sejam corrigidas, tem-se a indução da apoptose. Alterações em TP53 são descritas em diversos tumores, como os carcinomas cervicais, sobretudo pela degradação de p53 induzida pela proteína viral E6 (MUÑOZ et al., 2006; FERRARI; BERK; KURDISTANI, 2009; CHATURVEDI, 2012).



**Figura 4** - Regulação da expressão da p16. A. pRb e E2F associadas, baixa expressão da p16. B. pRb fosforilada e E2F livre, maior expressão da p16.

A proteína retinoblastoma (pRb) codificada pelo gene RB, mapeado em 13q14, atua em associação ao fator de transcrição E2F e está diretamente relacionada com a transição da fase G1 para fase S, no processo de divisão celular. A fosforilação da pRb, libera o fator de transcrição E2F que por sua vez atua favorecendo a divisão celular (CAO et al., 2010). Seja pela diminuição da expressão da p16, ou por ação direta da oncoproteína viral E7, que induz a degradação da pRb associada à E2F, via proteossomas, alterações no funcionamento normal da pRb são descritas em vários tumores, dentre eles os carcinomas de cavidade oral e orofaringe ( LIM et al., 2007; ELANGO et al., 2011). Aumento na expressão de p16 é observada em situações onde há presença do Papilomavírus Humano de alto risco, como o HPV 16 e 18. A

degradação de pRb, induzida por E7, resulta em aumento da expressão de p16. (ELANGO et al., 2011).

Outras alterações na expressão de proteínas correlacionadas ao comportamento do tumor, incluem o caso da proteína Ki-67, uma proteína expressa pelo gene mapeado em 10q25 e que tem sua expressão aumentada em situações onde há aumento da proliferação celular (MOTTA et al., 2009). Aumento na expressão de Ki-67 tem sido associada ao prognóstico dos carcinomas de cavidade oral e orofaringe (FERRAZ; SANTOS; DISCACCIATI, 2012).

### **1.7. Tratamento dos carcinomas de cavidade oral**

O tratamento dos carcinomas de cavidade oral e orofaringe geralmente é feito por cirurgia ou radioterapia, isoladamente ou associadas, podendo incluir também o uso de quimioterapia como alternativa para melhorar o prognóstico. O diagnóstico precoce e os fatores que levam ao câncer determina o tipo e a eficiência esperada do tratamento (HONG et al., 2010).

Tumores causados pelo abuso de tabaco e álcool são os mais agressivos e de difícil tratamento, com altas taxas de metástases e um prognóstico mais crítico. Por outro lado, aqueles nos quais o HPV está diretamente associado apresentam um prognóstico mais favorável e melhor resposta ao tratamento (SNIETURA et al., 2011; WITTEKINDT et al., 2012). Estudos sugerem que para carcinomas associados ao HPV, o tratamento com cirurgia e radioterapia adjuvante é tão bom quanto o tratamento com radioterapia definitiva, com ou sem quimioterapia (HONG et al., 2010)

Portanto, o diagnóstico precoce, a história natural do carcinoma, levando-se em conta os fatores desencadeantes do processo, como uso de tabaco, álcool ou a presença de HPV de alto risco são determinantes na escolha do tratamento mais adequado (BERGONZINI et al., 2010).

### **1.8. HPV e carcinogênese**

O HPV é um vírus com elevada prevalência em carcinomas cervicais e de outras regiões genitais, porém, sua prevalência e relação etiológica nos



carcinomas de cavidade oral e orofaringe ainda estão sendo investigados, sendo que nos últimos anos diversos estudos reforçam esta ideia (RINGSTRÖM et al., 2002; ELANGO et al., 2011; SAINI et al., 2010). O vírus, associado a outros fatores, como tabagismo e etilismo, aumenta o risco de desenvolvimento de CCE na cavidade oral e orofaringe, e a presença do genoma do HPV 16 aumenta esse risco em até 50% (GILLISON et al., 2012).

O HPV apresenta genoma circular com aproximadamente 8000 pares de bases, contendo moldura de leitura com oito genes, regulada por uma longa região de controle não codificante. Nessas sequencias são codificadas as proteínas necessárias à replicação e ao revestimento viral (MUÑOZ et al., 2006). Essas proteínas são identificadas como proteínas precoces, responsáveis pela replicação do genoma viral (E1 e E2), transcrição viral (E2), reorganização do citoesqueleto (E4) e transformação da célula (E6 e E7); e as proteínas tardias, responsáveis pela formação dos componentes estruturais do capsídeo viral (L1 e L2). O capsídeo é formado pela união de 72 pentâmeros compostos por cinco monômeros L1 (DEDIVITIS *et al.*, 2004; ELANGO *et al.*, 2011; SNIETURA *et al.*, 2011)

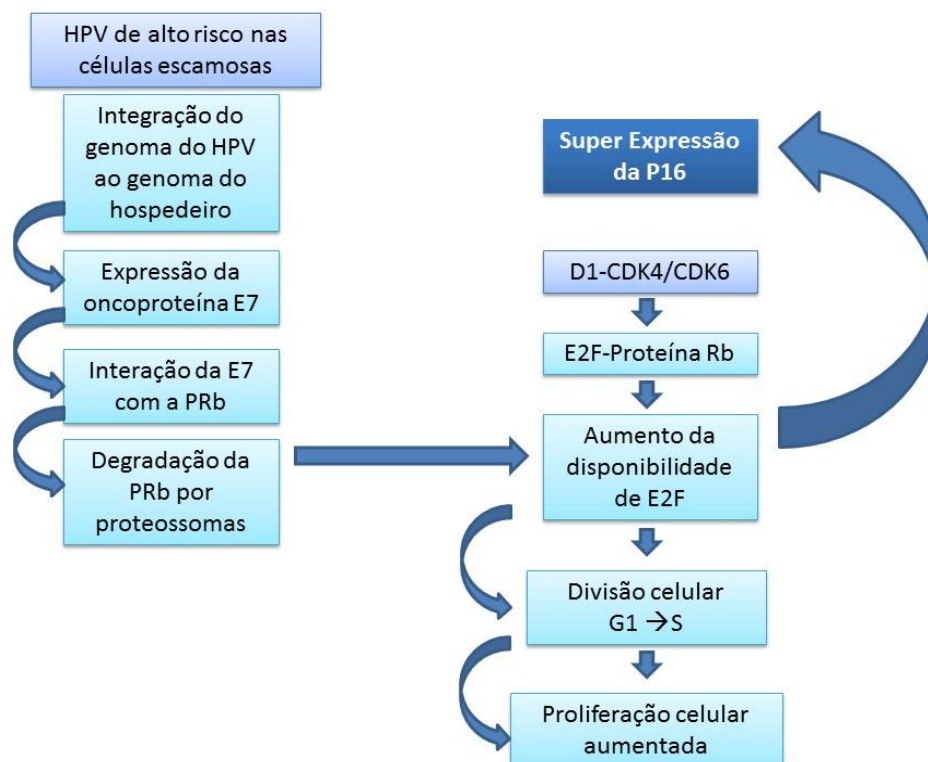
No grupo das proteínas precoces, a proteína E2 tem sido alvo de estudos pela sua participação na replicação viral e expressão gênica (MUÑOZ et al., 2006). Acredita-se que a ligação de E2 à longa região de controle do genoma viral reprima a expressão gênica do vírus, regulando a expressão de E6 e E7, contribuindo assim para a diminuição da proliferação celular (DOORBAR et al., 2012).

Contudo, pode haver integração do genoma viral ao genoma da célula hospedeira, levando a uma diminuição da expressão de E2, ocorrendo então aumento nos níveis de E6 e E7, consideradas proteínas de maior potencial oncogênico. Em consequência, tem-se o aumento da proliferação celular. Este mecanismo é identificado e bem esclarecido nos tumores cervicais. Como já descrito anteriormente, a oncoproteína E6 associa-se à proteína celular p53, comprometendo sua ação supressora de tumor, impedindo a apoptose e o reparo (LIM et al., 2007; ELANGO et al., 2011;).

A oncoproteína E7 interage com a proteína retinoblastoma, pRb, promovendo sua degradação por ação de proteossomas (BRAGAGNOLO;ELI;HASS, 2010). Esta interação e consequente degradação

da pRb leva ao aumento da proliferação celular. Conseqüentemente, haverá uma super expressão da p16, uma vez que ocorrerá um aumento significativo do fator de transcrição E2F (Figura 5) (KREIMER et al., 2005; PANNONE et al., 2011).

Mais de 200 tipos de HPV já foram identificados, variando em função poder oncogênico. Destacam-se os tipos 16 e 18 relacionados, por exemplo, com 90% dos casos de câncer cervical invasivo (FERRAZ; SANTOS; DISCACCIATI, 2012). Nas lesões orais, os tipos 2, 4, 6, 7, 11, 13 e 32 estão relacionados com as lesões benignas e considerados de baixo risco. Os tipos 16, 18, 31, 33, 35, 39, 42, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68, 73 e 82 estão relacionados às lesões malignas e assim considerados de alto risco. Vários trabalhos relatam que o HPV 16 é o tipo mais prevalente na região oral e de orofaringe (GONZÁLEZ et al., 2007; QUINTERO et al., 2013; SNIETURA et al., 2011; ZHAO et al., 2009). Identificar a presença do HPV e caracterizar seus diferentes genótipos, permite que sejam fortalecidas as estratégias de vacinação contra os carcinomas de cavidade oral e orofaringe (BASU et al., 2009; D'SOUZA et al., 2014).



**Figura 5.** Super expressão da p16 em células tumorais infectadas pelo HPV de alto risco.

## 1.9. Prevalência do HPV nos carcinomas de cavidade oral e orofaringe

Estudos realizados em diferentes regiões geográficas investigaram a presença do DNA do HPV em carcinomas de cavidade oral e orofaringe (Tabela 2). A identificação dos principais genótipos do HPV presentes nesses tumores vem sendo realizada, com o objetivo de prever o potencial efeito das vacinas contra o HPV nos carcinomas de cavidade oral e orofaringe. (RINGSTRÖM et al., 2002; OLIVEIRA et al., 2008 ; ZHAO et al., 2009; HONG et al., 2010; ELANGO et al., 2011; HUANG et al., 2012; QUINTERO et al., 2013).

Conforme descrito na tabela 2, a presença de DNA do HPV nos estudos revisados variam de 5%, em um estudo realizado nos Estados Unidos, avaliando 29 tumores (SIMONATO et al., 2008), a 100%, em um estudo que analisou 20 tumores na Malásia (LIM et al., 2007). Um estudo realizado no Brasil, demonstrou a presença do HPV em 19,5% dos casos avaliados (OLIVEIRA et al., 2008). Em conjunto, os 13 estudos descritos na tabela 2 avaliaram 1.216 casos de carcinoma de cavidade oral e orofaringe e o HPV foi detectado, em média, em 36,45% dos casos. Nos 13 estudos apresentados na tabela 2, o HPV 16 foi o genótipo mais prevalente, presente em 22% a 100% dos casos positivos para detecção do HPV.

**Tabela 2** – Detecção do DNA do HPV e genotipagem do HPV 16 em pacientes com carcinoma de célula escamosa de cavidade oral/orofaringe em diferentes países no período de 2000 a 2013.

Autores	Ano	País/Região	n	HPV (%)	HPV 16 (%)
Gillison et al	2000	USA/Baltimore	253	25,0	90,0
Ringström et al	2002	USA	89	20,0	100,0
Lim et al	2007	Malásia	20	100,0	30,0
Gonzales et al	2007	Argentina	16	43,7	28,6
Simonato et al	2008	USA	29	5,0	17,2
Oliveira et al	2008	Brasil	87	19,5	22,0
Zhao et al	2009	China	52	40,4	63,5
Montaldo et al	2010	Itália	68	60,3	51,0
Hong et al	2010	Austrália	198	42,0	87,0

Snietura et al	2011	Polônia	66	14,0	100,0
Elango et al	2011	Ásia	60	50,0	96,0
Huang et al	2012	Taiwan	103	30,1	51,6
Quintero et al	2013	Colômbia	175	23,9	82,0

Todos os estudos apresentados na tabela 2 utilizaram a Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) para detecção do genoma do HPV nos carcinomas avaliados. O método de PCR apresenta alta sensibilidade para detecção do genoma viral, porém, resultados diferentes podem ser obtidos em decorrência dos diferentes conjuntos de oligonucleotídeos iniciadores (*primers*) usados na reação (CASTRO et al., 2009). Os oligonucleotídeos denominados SPF 1/2 (*short PCR fragment*) amplificam um pequeno fragmento de 65 pares de bases (pb) da região L1 da maioria dos genótipos clinicamente relevantes e conhecidos como HPV de alto risco (KLETER et al., 1998). Os oligonucleotídeos SPF 1/2 permitem a detecção do genoma do HPV, mesmo em amostras de DNA cuja integridade não é ótima (AGUIAR et al., 2014).

#### **1.10. Associações entre a presença do HPV e as características clínicas dos carcinomas de cavidade oral e orofaringe**

Não há dúvida de que fatores ambientais e comportamentais, sobretudo o uso de tabaco e o consumo álcool, influenciam na progressão e prognóstico dos carcinomas de cabeça e pescoço. Com o crescente aumento de estudos sobre a prevalência do HPV em carcinomas de cavidade oral e orofaringe, cresce também o interesse em investigar a associação entre a presença deste vírus e os fatores prognósticos destes tumores (OLIVIERI et al., 2009).

Vários estudos investigam as potenciais associações entre a presença do HPV e as características clínicas dos carcinomas de cavidade oral e orofaringe. Entretanto esses resultados ainda são controversos. Uma associação inversa entre a presença do HPV e hábitos como tabagismo e etilismo tem sido relatada (GILLISON et al., 2000; OLIVEIRA et al., 2008), ou seja, o HPV parece ser mais prevalente nos tumores de pacientes não fumantes e não etilistas. Entretanto, o HPV esteve associado ao tabagismo e etilismo em outros estudos (RINGSTRÖM et al., 2002; ZHAO et al., 2009).

Melhor prognóstico e menor recorrência são relatados para os carcinomas de cavidade oral e orofaringe que apresentam o genoma do HPV ( GILLISON et al., 2000; RINGSTRÖM et al., 2002; ZHAO et al., 2009; HONG et al., 2010; ELANGO et al., 2011), bem como maior prevalência desses tumores em indivíduos mais jovens (QUINTERO et al., 2013; RINGSTRÖM et al., 2002).

Associação entre o HPV e fatores comportamentais ligados à prática sexual, sobretudo o sexo oral, e fatores como o tabagismo e etilismo apresenta considerável importância em populações jovens, que em muitos países fazem parte de um grupo com alto consumo de álcool, tabaco e vida sexual ativa. Assim, é crescente a incidência desses tumores em jovens, reportados nos estudos realizados sobre carcinomas de cavidade oral e orofaringe relacionadas ao HPV (UPILE et al., 2012; D'SOUZA et al., 2014;).

Dois tipos de vacinas, a Cervarix<sup>®</sup>, bivalente (HPV16/18), e Gardasil<sup>®</sup>, quadrivalente (HPV6/11/16/18), são utilizadas em campanhas de prevenção do HPV (SYRJÄNEN, 2010). Estas campanhas podem ser eficientes no controle de novos casos de CCE de cavidade oral e orofaringe, especialmente em função da alta prevalência do HPV 16 e HPV 18 nesses tumores (QUINTERO et al., 2013; D'SOUZA et al., 2014).

## **2. JUSTIFICATIVA**

---

A relação do HPV, sobretudo os tipos 16 e 18, com carcinomas de cavidade oral e orofaringe vêm sendo demonstrada por diversos estudos no mundo.

No Brasil e nos demais países da América do Sul, esses estudos ainda são raros e não demonstram claramente a prevalência e distribuição genotípica do HPV nesses carcinomas.

Na região Norte, Nordeste e Centro-Oeste não há nenhum estudo desta natureza publicado.

Compreender melhor a relação da infecção por HPV e carcinomas de cavidade oral e orofaringe é fundamental para estratégias de prevenção, bem como o estabelecimento de intervenções terapêuticas.

### **3. OBJETIVOS**

---

#### **3.1. Objetivo Geral:**

Estimar a prevalência do HPV e sua distribuição genotípica em carcinomas de cavidade oral e orofaringe e sua associação com aspectos clinicopatológicos destes carcinomas.

#### **3.2. Objetivos específicos**

Descrever os principais aspectos clínicos, demográficos e histopatológicos de 82 casos de carcinomas de cavidade oral e orofaringe.

Estimar a prevalência do HPV e dos genótipos 16 e 18 nos carcinomas de cavidade oral e orofaringe.

Analisar as possíveis associações entre a detecção/genotipagem do HPV com os fatores clinicopatológicos e sociodemográfico dos tumores avaliados.

Avaliar o impacto dos diferentes genótipos do HPV na severidade, grau de diferenciação e prognóstico dos pacientes com carcinomas de cavidade oral e orofaringe.

## 4. PUBLICAÇÃO

---

### 4.1. Artigo

#### **DETECÇÃO E GENOTIPAGEM DE HPV EM CARCINOMAS DE CAVIDADE ORAL E OROFARINGE DIAGNOSTICADOS NO HOSPITAL ARAÚJO JORGE, EM GOIÂNIA**

Guilherme Petito MS<sup>1</sup>, Vera Aparecida Saddi PhD<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Programa de Mestrado em Genética e Laboratório de Biodiversidade Genética, Pontifícia Universidade Católica de Goiás, Goiânia, Brasil.

<sup>2</sup>Departamento de Patologia, Laboratório de Oncogenética e Radiobiologia do Hospital Araújo Jorge, Associação de Combate ao Câncer em Goiás, Goiânia, Brasil.

\*Endereço para correspondência

Rua T-5, 1200 – Ed. Bougainville – apt. 1501, St. Bueno

74230-040 – Goiânia, GO, Brasil

Fone: 55 62 3941-4533

E-mail: [guilherme.petito@hotmail.com](mailto:guilherme.petito@hotmail.com)



## RESUMO

O Papilomavírus humano (HPV), tem sido associado com o risco e o prognóstico dos carcinomas da cavidade oral e orofaringe. Este estudo teve como objetivo estimar a prevalência e a distribuição genotípica do HPV 16 e 18 em carcinomas de cavidade oral e orofaringe, bem como suas associações aos fatores clínicos e histopatológicos dos tumores. É um estudo retrospectivo descritivo, com dados coletados análise de 82 prontuários e de blocos de parafina contendo espécimes de carcinomas de cavidade oral e orofaringe diagnosticados no Hospital Araújo Jorge (HAJ), em Goiânia-GO, entre 2005 e 2007. A reação em cadeia da polimerase (PCR) foi usada para detecção e genotipagem do HPV. Dentre os 82 pacientes avaliados, 78% eram do sexo masculino. A média de idade dos pacientes foi de 58 anos. Fatores de risco, como tabagismo (78%) e etilismo (70,8%) foram registrados no grupo estudado. O DNA do HPV foi detectado em 21 casos (25,6%; IC 95%: 16,9 – 36,6) dos quais 33,3% eram o HPV 16 e 14,3% o HPV 18. A presença de metástases linfonodais e os óbitos foram menos frequentes nos tumores que apresentaram HPV, sugerindo um melhor prognóstico para esses casos, porém, as diferenças entre os grupos não foram estatisticamente significativas. Os dados descritos no presente estudo, com relação à presença do genoma do HPV, incluindo os genótipos de alto risco, HPV16 e HPV18, destacam a importância de vacinação contra o HPV no controle dos carcinomas de cavidade oral e orofaringe.

**Palavras-chave:** Carcinoma cavidade oral; Carcinoma de orofaringe  
Papilomavírus Humano; Fatores de risco

## 1. INTRODUÇÃO

Carcinomas de células escamosas de cabeça e pescoço (CCECP), nos quais se incluem os de cavidade oral e orofaringe, representam o sexto tipo de câncer mais comum no mundo, com uma estimativa anual de 633.000 novos casos e 355.000 mortes<sup>1</sup>. No Brasil, foram estimados 15.290 novos casos de CCECP, em 2014, sendo 11.280 em homens e 4.010 em mulheres<sup>2</sup>.

O principal tipo histológico dos carcinomas de cavidade oral e orofaringe é o carcinoma de células escamosas (CCE) que perfaz mais de 90% dos casos. Carcinomas orais e de orofaringe representam mais de 80% do total de casos entre os CCECP<sup>3</sup>. O prognóstico desses tumores é incerto e de difícil definição, sendo na maioria das vezes sombrio. A sobrevida em cinco anos é baixa, em torno de 58%<sup>4</sup>.

Fatores como idade e sexo, além do estadiamento tumoral (sistema TNM), que avalia o tamanho do tumor, a presença de metástases linfonodais e as metástases à distância são utilizados na determinação do prognóstico<sup>5</sup>. Além destes, o grau de diferenciação histológica e a expressão de certos marcadores moleculares (p16, pRb e Ki-67) permitem uma melhor compreensão do comportamento tumoral e sua evolução<sup>5,6</sup>.

O tratamento dos CCE de cavidade oral e orofaringe geralmente é realizado por cirurgia ou radioterapia, isoladamente ou associadas, podendo incluir também o uso de quimioterapia como alternativa para melhorar as chances de cura<sup>7</sup>. Estudos sugerem que para os CCE de cavidade oral e orofaringe associados ao Papilomavírus Humano (HPV), o tratamento com cirurgia e radioterapia adjuvante é tão bom quanto o tratamento com radioterapia definitiva, com ou sem quimioterapia<sup>7,8</sup>.

Fatores como tabagismo e etilismo são considerados os principais responsáveis pela alta incidência de tumores na cavidade oral e orofaringe<sup>7,9</sup>. Contudo, com intensificação de campanhas contra o tabagismo e o etilismo, o papel do HPV nos CCE cavidade oral e orofaringe têm ganhado destaque<sup>9,10</sup>. Um número crescente de estudos sustenta a hipótese de associação do HPV aos carcinomas de cavidade oral e orofaringe<sup>5,8,10,19,30</sup>.

Os HPVs são vírus de DNA de fita dupla, que pertencem à família *Papillomaviridae*. Inicialmente, o genoma desses vírus foi identificado, clonado e sequenciado a partir de amostras de tumores cervicais e posteriormente, estabelecidos como importantes agentes etiológicos da carcinogênese de vários tumores humanos. Mais de 200 tipos de HPV já foram identificados, sendo que grupos específicos apresentam tropismo particular para sítios anatômicos definidos<sup>11,12</sup>.

O HPV é transmitido sexualmente, por isso, fatores como início precoce da vida sexual, alto número de parceiros sexuais, sexo desprotegido e prática de sexo oral, estão sendo incluídos como fatores de risco associados à infecção pelo HPV na mucosa da cavidade oral e orofaringe<sup>13</sup>. A crescente incidência dos carcinomas de cavidade oral e orofaringe associados ao HPV em jovens tem sido demonstrada<sup>10,14,30</sup>.

A prevalência do HPV em CCE de cavidade oral e orofaringe é o foco de diversos estudos pelo mundo, sendo o genótipo 16 considerado o mais prevalente e de maior impacto na epidemiologia desses carcinomas<sup>15,16,17,18,19</sup>. Uma metanálise, com levantamento de 4.852 amostras, demonstrou que a relação do HPV com CCE de cavidade oral e orofaringe é evidente e merece mais atenção<sup>9</sup>. Contudo, no Brasil existem poucos estudos investigando esta associação e nenhum realizado na região Centro-Oeste<sup>15</sup>.

Estudos investigam o impacto do HPV, com destaque para os tipos 16 e 18, sobre os fatores clinicopatológicos desses tumores<sup>15,16,20,30</sup>. Melhor prognóstico, maior sobrevida em 5 anos, baixa incidência de metástases linfonodais e metástases à distância e maior grau de diferenciação, foram observados em associação com o HPV em tumores de cavidade oral e orofaringe<sup>7,8</sup>. Assim, um grupo diferente de CCE de cavidade oral e orofaringe tem sido descrito, formado principalmente por pacientes mais jovens, não tabagistas ou tabagistas mais leves e com maior proporção de homens<sup>21</sup>.

A região Centro-Oeste do Brasil abriga um importante centro de referência no tratamento do câncer, o Hospital Araújo Jorge (HAJ), e incidências crescentes de carcinomas de cabeça e pescoço têm sido reportadas nesta região<sup>2</sup>. Estimar a prevalência e a distribuição genotípica do HPV é fundamental para

prever o impacto das vacinas na prevenção do CCE de cavidade oral e orofaringe nesta região.

Este estudo teve como objetivo estimar a prevalência do HPV e sua distribuição genotípica em carcinomas de cavidade oral e orofaringe e investigar as possíveis associações entre a presença do vírus e os aspectos clinicopatológicos dos carcinomas de cavidade oral e orofaringe, a partir da análise de 82 casos diagnosticados e tratados entre 2005 e 2007, no HAJ em Goiânia, Goiás.

## **2. METODOLOGIA**

Tipo de estudo e casuística: Estudo transversal retrospectivo que utilizou dados clinicopatológicos coletados a partir dos prontuários e análise de blocos de parafina contendo espécimes de carcinomas de cavidade oral e orofaringe. O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos do Hospital Araújo Jorge (HAJ), sob o nº CAAE 13580613.5.0000.0031. A prevalência e a genotipagem de HPV foram investigadas em 82 espécimes de CCE de cavidade oral e orofaringe diagnosticados no HAJ, Goiânia-GO, no período de 2005 a 2007. Inicialmente foram levantados 312 casos de CCE de cavidade oral e orofaringe, diagnosticados no período de 2005 a 2007. Em seguida foram eliminadas as duplicidades e selecionados casos para detecção e genotipagem de HPV. Nesta seleção foram incluídos aqueles que tinham prontuários disponíveis para coleta de dados clinicopatológicos o que totalizou 174 casos. Após análise dos 174 prontuários, foram excluídos os casos em que o paciente havia recebido tratamento quimioterápico/radioterápico antes da cirurgia, restando 108 casos. Os 108 casos foram pesquisados junto ao Departamento de Patologia do HAJ para levantamento dos blocos disponíveis. Em função da quantidade de material tumoral presente em cada bloco e a fim de preservar o tecido disponível, 82 casos foram selecionados para extração de DNA e detecção de HPV.

Extração de DNA: O DNA genômico foi purificado de amostras de tumores fixados em formol e incluídos em parafina, de acordo com protocolo já padronizado no Laboratório de Diversidade Genética da Pontifícia Universidade Católica Goiás (PUC Goiás)<sup>37</sup>. As etapas de desparafinização e hidratação

foram realizadas e para extração e purificação do DNA usou-se o kit comercial Wizard® (Promega).

Detecção do genoma do HPV nas amostras tumorais: A detecção do DNA do HPV foi realizada por meio de Reação em Cadeia da Polimerase (PCR), utilizando oligonucleotídeos iniciadores (Tabela 1) denominados *Short PCR Fragment* (SPF)<sup>35</sup>, que amplificam um fragmento de 65 pares de bases (pb) do genoma viral e desenvolvidos para a amplificação sensível da maioria dos genótipos clinicamente relevantes do HPV. O ensaio é capaz de detectar os genótipos conhecidos atualmente como HPVs de alto risco (16, 18, 26, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 53, 56, 58, 59, 66, 68, 73 e 82), bem como genótipos de HPVs de baixo risco (6, 11, 40, 43, 44, 54, 70) e alguns tipos adicionais. A detecção do HPV foi realizada no Laboratório de Diversidade Genética da PUC-Goiás. A PCR com oligonucleotídeos iniciadores SPF foi realizada em um volume final de reação de 25 µL, contendo 2 µL do DNA purificado, 10 mmol/L TrisHCl, pH 9,0, 50 mmol/L KCl, 2,5 mmol/L MgCl<sub>2</sub>, 200 mmol/L de cada deoxi-nucleotídeo (dNTPs), 10 pmol de cada oligonucleotídeo iniciador e 0,25 U de Taq Polimerase (Invitrogen, Brasil). As condições de ciclagem incluíram: pré-aquecimento por um minuto a 94°C, seguido de 40 ciclos de um minuto a 94°C, um minuto a 45°C e um minuto a 72°C, com uma extensão final de cinco minutos a 72°C. Cada experimento de PCR foi realizado juntamente com controles positivos e negativos, previamente testados no Laboratório de Diversidade Genética da PUC-Goiás. Um fragmento do gene humano GAPDH, com 99 pb foi amplificado, utilizando-se um conjunto de oligonucleotídeos iniciadores (Tabela 2)<sup>11</sup>, a partir de cada amostra de DNA extraído, a fim de confirmar a presença e a capacidade de amplificação do DNA extraído de cada amostra.

**Tabela 1** - Conjuntos de oligonucleotídeos iniciadores SPF 1/2 para detecção de HPV.

<b>Designação do oligonucleotídeo iniciador</b>	<b>Sequência 5' -&gt; 3'</b>
SPF1A	GCiCAGGGiCACAATAATGG
SPF1B	GCiCAGGGiCATAACAATGG
SPF1C	GCiCAGGGiCATAATAATGG
SPF1D	GCiCAAGGiCATAATAATGG
SPF2B-bio	GTiGTATCiACAACAGTAACAAA
SPF2D-bio	GTiGTATCiACTACAGTAACAAA

**Tabela 2** - Conjuntos de oligonucleotídeos iniciadores do gene GAPDH para a confirmação de presença e integridade do DNA.

<b>Designação do oligonucleotídeo iniciador</b>	<b>Sequência 5' -&gt; 3'</b>
GAPDH(F).275	TTGTCATCAATGGAAATCCCATCA
GAPDH(R).374	CAGTGGACTCCACGACGTACTIONAG

A genotipagem do HPV 16 e do HPV 18 foi realizada nas amostras em que o genoma do HPV foi detectado. O conjunto de oligonucleotídeos utilizado para a detecção do HPV 16 amplifica 108 pb e para o HPV 18 um fragmento de 104 pb (Tabela 3)<sup>36</sup>. Os dois conjuntos de oligonucleotídeos iniciadores amplificam parte da região E7 de cada genótipo. As reações de amplificação para detecção HPV e dos genótipos 16 e 18 foram repetidas três vezes e não houveram resultados divergentes.

**Tabela 3** - Conjuntos de oligonucleotídeos iniciadores para detecção de HPV16 e HPV18.

<b>Designação do oligonucleotídeo iniciador</b>	<b>Sequência 5' -&gt; 3'</b>
HPV16E7.667	GATGAAATAGATGGTCCAGC
HPV16E7.774	GCTTTGTACGCACAACCGAAGC
HPV18E7.696	AAGAAAACGATGAAATAGATGGA
HPV18E7.799	GGCTTCACACTTACAACACA

Análises estatísticas: As informações obtidas foram codificadas e armazenadas em um banco de dados no programa Excel<sup>®</sup> e os dados analisados pelo aplicativo *GraphPad Prism*. Os dados clinicopatológicos e sociodemográficos foram processados para análise estatística descritiva e os dados de detecção de HPV em relação às diferentes variáveis foram analisados por meio de teste exato de Fisher e Chi-quadrado, considerando significativas as diferenças que forneceram valor de  $P \leq 0,05$ .

### 3. RESULTADOS

Características clinicopatológicas e sociodemográficas: Um grupo de 82 casos de CCE de cavidade oral e orofaringe foram selecionados e avaliados com relação às características clinicopatológicas e sociodemográficas, que estão descritas nas tabelas 4 e 5, respectivamente. Todos os dados foram coletados por meio de revisão de prontuários no HAJ. Dentre os pacientes avaliados,

78% eram do gênero masculino. A maior parte dos pacientes (54,9%) estava na faixa etária abaixo dos 59 anos e 62,2% eram casados. Fatores de risco, como tabagismo (78%) e etilismo (70,8%) foram registrados na amostra estudada. Dados associados ao comportamento e orientação sexual, como número de parceiros, idade ao início da atividade sexual e prática de sexo oral não foram relatados nos prontuários.

**Tabela 4** - Análise descritiva das características sociodemográficas e comportamentais dos 82 casos estudados.

Variável	Todos os casos (n=82)	
	N	%
Gênero		
Feminino	18	22,0
Masculino	64	78,0
Idade ao diagnóstico		
Média	58	-
≤ 59	45	54,9
≥ 60	37	45,1
Estado Civil		
Solteiro	15	18,2
Casado	51	62,2
Outros	16	19,6
Tabagismo		
Sim	64	78,0
Não	18	22,0
Etilismo		
Sim	58	70,8
Não	24	22,0
Procedência		
Grande Goiânia	42	51,2
Interior de Goiás	36	43,9
Outros estados	04	4,9

O tratamento escolhido para o grupo foi, de maneira geral, uma combinação de cirurgia, quimioterapia e radioterapia, sendo que 27% dos pacientes foram submetidos somente à cirurgia. Metástases linfonodais foram detectadas em 42 pacientes (51,2%) e um paciente (1,2%) apresentou metástase à distância. Apesar de todos os pacientes não terem sido seguidos por um longo período

de tempo, ao final do período de coleta de dados, vinte e oito pacientes tinham óbitos registrados nos respectivos prontuários (34,1%).

**Tabela 5** – Análise descritiva das características clinicopatológicas do grupo estudado.

Variável	Todos os casos (n=82)	
	N	%
Localização do tumor		
Cavidade oral	39	47,6
Orofaringe	43	52,4
Estadiamento		
I e II	14	17,1
III e IV	68	82,9
Tamanho		
T1 e T2	35	42,7
T3 e T4	47	57,2
Metástase Linfonodal		
Sim	42	51,2
Não	40	48,8
Metástase a distância		
Sim	01	1,2
Não	81	98,8
Grau de diferenciação		
Baixo	13	15,8
Moderado, alto	69	84,2
Óbito		
Sim	28	34,1
Não	54	65,9
Tratamento		
Somente Cirurgia	27	32,9
Cirurgia + Radioterapia	22	26,9
Radioterapia + Quimioterapia	12	14,6
Outro	21	25,6

Deteção e genotipagem de HPV nas amostras de CCE de cavidade oral e orofaringe: Das 82 amostras analisadas, 21 foram positivas para deteção do DNA de HPV (25,6%). Características sociodemográficas do grupo HPV(+) estão descritas na tabela 6. Quanto ao gênero, predominou o sexo masculino (85,7%), e a maioria dos pacientes era casada (71,4%). A média de idade ao



diagnóstico foi de 53 anos, sendo que a faixa etária abaixo dos 59 anos foi a mais frequente (66,7%). Fatores de risco como tabagismo (76,2%) e etilismo (71,4%) foram identificados nos casos HPV(+).

**Tabela 6** Características sociodemográficas dos grupos HPV (-) e HPV (+).

Variável	HPV (-) (n=61)		HPV (+) (n=21)		P
	N	%	N	%	
<b>Gênero</b>					
Feminino	15	24,6	03	14,3	0,38
Masculino	46	75,4	18	85,7	
<b>Idade ao diagnóstico</b>					
Média	60	-	53	-	0,31
≤ 59	31	50,8	14	66,7	
≥ 60	30	49,2	07	33,3	
<b>Estado Civil</b>					
Solteiro	12	19,7	03	14,3	0,74
Casado	36	59,0	15	71,4	
Outros	13	21,3	03	14,3	
<b>Tabagismo</b>					
Sim	48	78,7	16	76,2	0,77
Não	13	21,3	05	23,8	
<b>Etilismo</b>					
Sim	43	70,5	15	71,4	1,00
Não	18	29,5	06	28,6	
<b>Procedência</b>					
Grande Goiânia	31	50,8	11	52,4	1,00
Interior de Goiás	25	41,0	08	38,1	
Outros estados	5	8,2	02	9,5	

Todos os valores de P foram calculados com Teste Exato de Fisher

A tabela 7 descreve as características clinicopatológicas dos casos HPV(-) e HPV(+) avaliados. Dentre as 21 amostras HPV (+), 47,4% foram localizadas em cavidade oral e 52,6% em orofaringe. Quanto ao estadiamento, 4,8% estavam nos estágios I e II, enquanto 95,2% estavam nos estágios III e IV. Metástases linfonodais foram detectadas em 42,9% dos casos HPV (+) e em 57,4% HPV (-) (P=0.08). Metástase à distância não foi detectada nos casos HPV (+), enquanto nos HPV (-) foi detectada em um caso (1,6%) (P=0.46). Com relação ao grau de diferenciação, 85,7% dos casos HPV (+) apresentaram grau moderado a alto. Houve um maior número de óbitos no grupo HPV(-) (39,3%) em comparação ao grupo HPV(+) (19,1%), entretanto

essa diferença não foi significativa (P=0.11). Com relação à genotipagem do HPV foram detectadas sete (33,3%) amostras com presença do HPV 16 e três (14,3%) com HPV 18.

**Tabela 7 - Características clinicopatológicas dos pacientes HPV (-) e HPV(+)**

	HPV (-) (n=61)		HPV (+) (n=21)		P
	N	%	N	%	
Localização do tumor					
Cavidade oral	29	47,5	10	47,4	1.00
Orofaringe	32	54,5	11	52,6	
Estadiamento					
I e II	13	21,3	1	4,8	0.10
III e IV	48	78,7	20	95,2	
Tamanho					
T1 e T2	26	42,6	09	33,3	1.00
T3 e T4	35	57,4	12	66,7	
Metástase Linfonodal					
Sim	35	57,4	07	42,9	0.08
Não	26	42,6	14	57,1	
Metástase a distância					
Sim	01	1,6	00	0,00	0.46
Não	60	98,4	21	100,0	
Grau de diferenciação					
Baixo	10	16,4	03	14,3	1.00
Moderado, alto	51	83,6	18	85,7	
Óbitos registrados					
Sim	24	39,3	04	19,1	0.11
Não	37	60,6	17	80,9	
Tratamento					
Somente Cirurgia	24	39,5	03	14,3	0,32
Cirurgia + Radioterapia	14	22,9	08	38,1	
Radioterapia + Quimioterapia	09	14,7	03	14,3	
Outro	14	22,9	07	33,3	
Tipo de HPV					
HPV 16	-	-	07	33,3	-
HPV 18	-	-	03	14,3	
Outros	-	-	11	42,4	

Todos os valores de P foram calculados com Teste Exato de Fisher

A análise entre os tumores HPV(+) com genótipo 16 e os demais tumores (aqueles não genotipados e os positivos para HPV 18), em relação aos aspectos clinicopatológicos, foram avaliadas e estão descritas na tabela 8. Associações estatisticamente significativas não foram encontradas, porém, a média de idade foi menor nos casos com HPV 16 (50 anos) em comparação aos casos com outros tipos de HPV (56 anos). O número de óbitos nos casos com HPV 16 também apresentaram valores maiores (28,6%) em relação aos casos com HPV 18 e os demais tipos de HPV (14,3%).

**Tabela 8** - Características clinicopatológicas entre os diferentes genótipos encontrados.

Variável	HPV 16 (n=07)		HPV 18 e outros genótipos(n=14)		P
	N	%	N	%	
Topografia					
Cavidade Oral	02	28,6	08	57,2	0,36
Orofaringe	05	71,4	06	42,8	
Idade					
Média	50		56		
≤ 59	05	71,4	09	64,3	1,00
≥ 60	02	28,6	05	35,7	
Estadiamento					
I e II	00	00,0	01	7,1	1,00
III e IV	07	100	13	92,9	
T status					
T1 e T2	02	28,6	07	50,0	0,64
T3 e T4	05	71,4	07	50,0	
Metástase Linfonodal					
Sim	04	57,2	05	35,7	0,39
Não	03	42,8	09	64,3	
Metástase a distância					
Sim	00	0,00	00	0,00	1,00
Não	07	100,0	14	100,0	
Diferenciação					
Pouco	02	28,6	01	7,1	0,24
Moderado, muito	05	71,4	13	92,9	
Óbitos registrados					
Sim	02	28,6	02	14,3	0,57
Não	05	71,4	12	85,7	

Todos os valores de P foram calculados com Teste Exato de Fisher

#### 4. DISCUSSÃO

Neste estudo foram analisadas 82 amostras de CCE de cavidade oral e orofaringe, diagnosticadas no HAJ, em Goiânia-GO, utilizando PCR como método de detecção do genoma do HPV.

De acordo com características sócio-demográficas, observou-se que 54,9% dos pacientes tinham menos de 59 anos. Vários estudos descrevem a faixa etária dos pacientes com carcinoma de cavidade oral e orofaringe próxima ao valor encontrado em nosso estudo<sup>5,24,25</sup>. Em um estudo realizado na Itália, a média de idade foi de 65,6 anos<sup>18</sup>. O acúmulo de exposição aos diferentes fatores de risco, como o tabagismo e o etilismo, ao longo da vida, contribui para a maior prevalência desses tumores em idades mais avançadas<sup>5</sup>.

A maioria dos casos de carcinoma de cavidade oral e orofaringe foi observada em indivíduos do sexo masculino (78,0%). Esta informação foi previamente relatada por outros autores, porém, CHATURVEDI<sup>1</sup> descreve que em diferentes países da Europa há uma tendência no aumento da incidência de carcinomas de orofaringe nas mulheres. O estado civil é pouco descrito nos artigos relacionados ao tema, no entanto, em um estudo no qual esta informação foi apresentada, a maioria era casada<sup>24</sup>, sendo o mesmo observado em nosso estudo.

Hábitos como tabagismo e o etilismo são descritos por diversos autores como os principais fatores de risco associados aos carcinomas de cavidade oral e orofaringe<sup>7,9,23</sup>. O presente estudo confirmou a alta frequência de indivíduos tabagistas (78,0%) e etilistas (70,8%) no grupo. Apesar de não ser considerado como fator prognóstico, carcinomas de cavidade oral e orofaringe associados ao tabagismo e etilismo, costumam ser mais agressivos<sup>1</sup>. O tabaco e o álcool podem induzir o CCE de cavidade oral e orofaringe por meio da agressão sobre extensas áreas, levando a um fenômeno conhecido como cancerização em campo<sup>5</sup>, que se caracteriza por alterações moleculares em células de reserva que levam à formação de um campo epitelial alterado. Este campo sofre expansão e se estende sobre a superfície da mucosa, aumentando a possibilidade de formação de um novo carcinoma<sup>34</sup>.

O perfil de pacientes com carcinoma de cavidade oral e orofaringe associados ao HPV, tende a ser formado por um grupo de pacientes mais jovens, com

idade inferior a 60 anos, não tabagistas ou tabagistas leves, não etilistas e com comportamento sexual promiscuo, entretanto, esses dados são controversos<sup>21,39</sup>. Nosso estudo não foi capaz de apresentar dados referentes ao comportamento sexual dos pacientes. Por ser um trabalho retrospectivo, estes dados não constavam nos prontuários pesquisados. Maior frequência de indivíduos abaixo dos 59 anos foi observada no grupo HPV(+) (66,7%) em relação aos HPV(-) (50,8%), entretanto, essas diferenças não foram significativas. Resultados semelhantes aos descritos em nosso estudo, com relação à faixa etária, foram descritos em um estudo realizado nos Estados Unidos<sup>30</sup>. Outro estudo<sup>19</sup>, também nos Estados Unidos, com uma casuística total de 253 casos, descreve 50% dos pacientes abaixo dos 60 anos. Em nosso estudo, a média de idade para indivíduos HPV(+) pesquisados foi de 53 anos, enquanto no grupo HPV(-) foi de 60 anos. Um estudo<sup>10</sup> realizado na cidade de Medellín, Colômbia, confirma uma menor média de idade dos pacientes HPV(+) em relação ao grupo HPV(-), porém com uma média maior que a descrita em nosso estudo, ou seja, com 60,1 anos. Associação significativa entre a presença do HPV e ausência de hábitos como tabagismo e etilismo não foi reportada em nosso estudo, corroborando com outros estudos<sup>5,16</sup>.

O prognóstico dos carcinomas de cavidade oral e orofaringe é incerto e difícil de prever<sup>4</sup>. Identificar fatores que possam direcionar o tratamento e prever a evolução do tumor e a sobrevida do paciente, auxilia os médicos em suas condutas<sup>7</sup>. CCE de cavidade oral e orofaringe associados ao HPV apresentam melhor prognóstico quando tratados com cirurgia e radioterapia adjuvante ou radioterapia definitiva com ou sem quimioterapia<sup>8</sup>. O presente estudo, verificou que pouco mais da metade dos casos (52,4%) em que o genoma do HPV foi detectado foram tratados com cirurgia mais radioterapia adjuvante (38,1%) ou com radioterapia mais quimioterapia (14,3%). Limitações na coleta de dados, em nosso estudo, impediram a análise de sobrevida associada à terapia utilizada. Uma revisão sistemática destaca a necessidade de se avaliar pacientes com carcinoma de orofaringe associados ao HPV, para se prever a melhor terapia, uma vez que estes carcinomas associados ao vírus demonstram características moleculares distintas em comparação aos grupos

HPV(-)<sup>7</sup>. Contudo, poucos estudos descrevem uma associação direta entre tratamento, presença do genoma do HPV e sobrevida<sup>7,8</sup>.

Estudos associam a presença do genoma do HPV nos carcinomas de cavidade oral e orofaringe a um melhor prognóstico, incluindo tumores bem diferenciados, com menor risco de metástases linfonodais e metástases à distância e menor número de óbitos<sup>7,27</sup>. Em nosso estudo estas características foram detectadas, porém, as diferenças entre os grupos não foram significativas. Metástases à distância não foram detectadas no grupo HPV(+). Apesar de não serem estatisticamente diferentes, nos casos em que o genoma do HPV foi detectado, houve um menor índice de metástases linfonodais e menos óbitos em relação ao grupo HPV(-), o que sugere um melhor prognóstico para esses casos.

Tumores menos diferenciados são mais agressivos e mais propensos à metástase<sup>29</sup>. O grau de diferenciação foi avaliado em nosso estudo, porém não houve diferenças significativas entre os grupos HPV(-) e HPV(+), sendo que ambos apresentaram maior percentual, 83,6% e 85,7%, respectivamente, de tumores com grau de diferenciação moderado a alto. O estudo de ZHAO<sup>16</sup> apresenta resultados diferentes dos nossos em relação ao grau histológico, vez que a maioria dos casos HPV(+) apresentava baixo grau de diferenciação. Apesar disso, o autor confirma que há uma melhor sobrevida nos grupos HPV(+) analisados. O abandono no tratamento por parte dos pacientes, em um percentual dos casos selecionados, não nos permitiu uma análise da sobrevida em cinco anos.

O HPV 16 e o HPV 18 têm sido descritos como os mais prevalentes nos carcinomas de cavidade oral e orofaringe, e sua associação com estes carcinomas é relevante<sup>30</sup>. Neste estudo, das 21 amostras positivas para o HPV, o genoma do HPV 16 foi detectado em 33,3% e do HPV 18 em 14,3%. Identificar a prevalência dos tipos 16 e 18 do HPV é importante para se prever o impacto de vacinação sobre esses tumores, uma vez que estes genótipos são os principais alvos das vacinas bivalentes (16/18) e quadrivalentes (6/11/16/18)<sup>13,31</sup>. Não foram encontradas diferenças significativas quanto ao estadiamento (tamanho tumoral, metástases linfonodais e metástases à

distância, diferenciação tumoral) e óbito, quando comparados os casos positivos para HPV 16 e aqueles positivos para o tipo 18.

Recentes pesquisas concluem que campanhas de vacinação sejam uma solução eficiente para o controle do número de casos dos carcinomas associados ao HPV<sup>12,13</sup>. Neste sentido e tendo em vista a alta prevalência do HPV em carcinomas de cavidade oral e orofaringe em indivíduos do sexo masculino, é extremamente importante que esta campanha se amplie também para o grupo masculino. Atualmente, no Brasil, a campanha de vacinação contra o HPV se restringe às mulheres, na faixa etária dos 11 aos 13 anos<sup>31</sup>.

Em nosso estudo a presença do HPV foi detectada em 25,6% dos casos, incluindo os tipos 16 e 18, o que permite concluir que, em nossa região, o HPV também está associado ao surgimento e desenvolvimento dos carcinomas orais e de orofaringe. Este estudo apresentou uma limitação importante com relação à coleta de dados clinicopatológicos e comportamentais dos pacientes. Na maioria dos prontuários tais informações eram escassas, incluindo comportamento sexual, higiene oral, histórico de doenças sexualmente transmissíveis (DSTs), sobrevida, dentre outros. Estas dificuldades são inerentes aos trabalhos retrospectivos, uma vez que os pesquisadores dependem de informações presentes em prontuários, muitas vezes extraviados, incompletos ou com preenchimento confuso<sup>38</sup>.

Sugere-se portanto um estudo prospectivo, com um acompanhamento que permita uma coleta de dados mais precisa e completa, com maior número de casos e em diferentes centros de atendimento em oncologia. Tal estudo representa uma aspiração da equipe deste estudo.

## 5. REFERÊNCIAS

1. CHATURVEDI, A. K. Epidemiology and clinical aspects of HPV in head and neck cancers. *Head and neck pathology*, jul. 2012. v. 6 Suppl 1, p. S16–24.
2. INCA – Instituto Nacional de Câncer; 2014. [www.inca.gov.br](http://www.inca.gov.br)
3. MOTTA, R. DA R. *et al.* Ki-67 and p53 correlation prognostic value in squamous cell carcinomas of the oral cavity and tongue. 2009.

4. MONTORO, J. R. DE M. C. *et al.* Prognostic factors in squamous cell carcinoma of the oral cavity. *Revista Brasileira de Otorrinolaringologia*, dez. 2008. v. 74, n. 6, p. 861–866.
5. OLIVEIRA, L. R. DE; RIBEIRO-SILVA, A.; ZUCOLOTO, S. Incidence and survival profile of patients with oral squamous cell carcinoma in a Brazilian population. *J. bras. patol. med. lab, out.* 2006. v. 42, n. 5, p. 385–392.
6. KLOZAR, J. *et al.* HPV status and regional metastasis in the prognosis of oral and oropharyngeal cancer. *European archives of oto-rhino-laryngology: official journal of the European Federation of Oto-Rhino-Laryngological Societies (EUFOS): affiliated with the German Society for Oto-Rhino-Laryngology - Head and Neck Surgery*, jul. 2008. v. 265 Suppl 1, p. S75–82.
7. PANNONE, G. *et al.* The role of human papillomavirus in the pathogenesis of head & neck squamous cell carcinoma: an overview. *Infectious agents and cancer*, 2011. v. 6, p. 4.
8. HONG, A. M. *et al.* Human papillomavirus predicts outcome in oropharyngeal cancer in patients treated primarily with surgery or radiation therapy. *British journal of cancer*, 9 nov. 2010. v. 103, n. 10, p. 1510–1517.
9. TERMINE, N. *et al.* HPV in oral squamous cell carcinoma vs head and neck squamous cell carcinoma biopsies: a meta-analysis (1988-2007). *Annals of oncology: official journal of the European Society for Medical Oncology / ESMO*, out. 2008. v. 19, n. 10, p. 1681–1690.
10. QUINTERO, K. *et al.* Human papillomavirus types in cases of squamous cell carcinoma of head and neck in Colombia. *Brazilian journal of otorhinolaryngology*, jun. 2013. v. 79, n. 3, p. 375–381.
11. CERDEIRA CR, CARARACH M, ALBA A. The Human Papillomavirus (HPV) in Human Pathology: Description, Pathogenesis, Oncogenic Role, Epidemiology and Detection Techniques. *The open Dermatology Journal* 3: 90-102, 2009.
12. SYRJÄNEN, S. The role of human papillomavirus infection in head and neck cancers. *Annals of oncology: official journal of the European Society for Medical Oncology / ESMO*, out. 2010. v. 21 Suppl 7, p. vii243–245.
13. D'SOUZA, G. *et al.* Differences in Oral Sexual Behaviors by Gender, Age, and Race Explain Observed Differences in Prevalence of Oral Human Papillomavirus Infection. *PLoS ONE*, 24 jan. 2014. v. 9, n. 1, p. e86023.
14. UPILE, T. *et al.* Oral sex, cancer and death: sexually transmitted cancers. *Head & neck oncology*, 2012. v. 4, p. 31.



15. OLIVEIRA, L. R. *et al.* HPV infection in Brazilian oral squamous cell carcinoma patients and its correlation with clinicopathological outcomes. *Molecular medicine reports*, fev. 2008. v. 1, n. 1, p. 123–129.
16. ZHAO, D. *et al.* Human papillomavirus as an independent predictor in oral squamous cell cancer. *International journal of oral science*, set. 2009. v. 1, n. 3, p. 119–125.
17. LIM, K. P. *et al.* HPV infection and the alterations of the pRB pathway in oral carcinogenesis. *Oncology Reports*, 1 jun. 2007. v. 17, n. 6, p. 1321–1326.
18. MONTALDO, C. *et al.* Distribution of human papillomavirus genotypes in sardinian patients with oral squamous cell carcinoma. *The open virology journal*, 2010. v. 4, p. 163–168.
19. GILLISON, M. L. *et al.* Evidence for a causal association between human papillomavirus and a subset of head and neck cancers. *Journal of the National Cancer Institute*, 3 maio. 2000. v. 92, n. 9, p. 709–720.
20. HUANG, S.-F. *et al.* Association of HPV infections with second primary tumors in early-staged oral cavity cancer. *Oral Diseases*, 2012. v. 18, n. 8, p. 809–815.
21. WESTRA, W. H. The Changing Face of Head and Neck Cancer in the 21st Century: The Impact of HPV on the Epidemiology and Pathology of Oral Cancer. *Head and Neck Pathology*, 24 fev. 2009. v. 3, n. 1, p. 78–81.
22. CASTRO, T. M. P. P. G. *et al.* HPV detection in the oral and genital mucosa of women with positive histopathological exam for genital HPV, by means of the PCR. *Revista Brasileira de Otorrinolaringologia*, abr. 2009. v. 75, n. 2, p. 167–171.
23. WITTEKINDT, C. *et al.* Basics of tumor development and importance of human papilloma virus (HPV) for head and neck cancer. *GMS Current Topics in Otorhinolaryngology, Head and Neck Surgery*, 20 dez. 2012. v. 11.
24. SAINI, R. *et al.* High-risk human papillomavirus in the oral cavity of women with cervical cancer, and their children. *Virology Journal*, 16 jun. 2010. v. 7, n. 1, p. 131.
25. CHATURVEDI, A. K. *et al.* Human Papillomavirus and Rising Oropharyngeal Cancer Incidence in the United States. *Journal of Clinical Oncology*, 10 nov. 2011. v. 29, n. 32, p. 4294–4301.
26. GONZÁLEZ, J. V. *et al.* Human papillomavirus in oral lesions. *Medicina*, 2007. v. 67, n. 4, p. 363–368.

27. ELANGO, K. J. *et al.* Role of human papilloma virus in oral tongue squamous cell carcinoma. *Asian Pacific journal of cancer prevention: APJCP*, 2011. v. 12, n. 4, p. 889–896.
28. KREIMER, A. R. *et al.* Human papillomavirus types in head and neck squamous cell carcinomas worldwide: a systematic review. *Cancer epidemiology, biomarkers & prevention*. fev. 2005. v. 14, n. 2, p. 467–475.
29. MUÑOZ, N. *et al.* Chapter 1: HPV in the etiology of human cancer. *Vaccine*, 31 ago. 2006. v. 24 Suppl 3, p. S3/1–10.
30. RINGSTRÖM, E. *et al.* Human papillomavirus type 16 and squamous cell carcinoma of the head and neck. *Clinical cancer research: an official journal of the American Association for Cancer Research*, out. 2002. v. 8, n. 10, p. 3187–3192.
31. Vacinação contra HPV supera meta de 80%. Portal da Saúde – Ministério da Saúde – [www.saude.gov.br](http://www.saude.gov.br), [S.l.], [S.d.]. Disponível em: <<http://portalsaude.saude.gov.br/index.php/cidadao/principal/agencia-saude/13086-vacinacao-contra-hpv-supera-meta-de-80>>. Acesso em: 9 jun. 2014.
32. SIMONATO, L. E. *et al.* Detection of HPV in mouth floor squamous cell carcinoma and its correlation with clinicopathologic variables, risk factors and survival. *Journal of Oral Pathology & Medicine*, 2008. v. 37, n. 10, p. 593–598.
33. SNIETURA, M. *et al.* Impact of HPV infection on the clinical outcome of p-CAIR trial in head and neck cancer. *Official journal of the European Federation of Oto-Rhino-Laryngological Societies (EUFOS): affiliated with the German Society for Oto-Rhino-Laryngology - Head and Neck Surgery*, maio. 2011. v. 268, n. 5, p. 721–726.
34. SLAUGHTER, D. P.; SOUTHWICK, H. W.; SMEJKAL, W. “Field cancerization” in oral stratified squamous epithelium. Clinical implications of multicentric origin. *Cancer*, 1 set. 1953. v. 6, n. 5, p. 963–968.
35. KLETER, B.; VAN, L. J.; TER, J. Novel short-fragment PCR assay for highly sensitive broad-spectrum detection of anogenital human papillomaviruses. *American Journal of Pathology*, v. 153, 6 dez 1998.
36. WALBOOMERS, J. M. *et al.* Human papillomavirus is a necessary cause of invasive cervical cancer worldwide. *The Journal of pathology* *The Journal of pathology*, v. 189, n. 1, p. 12-9, 3 set. 1999.
37. AGUIAR, M. T. M. *et al.* Clinicopathological aspects and prevalence of human papillomavirus in anal cancer. *Journal of Coloproctology*, abr. 2014. v. 34, n. 2, p. 76–82.

38. KRÜGER, M. *et al.* The prevalence of human papilloma virus (HPV) infections in oral squamous cell carcinomas: A retrospective analysis of 88 patients and literature overview. *Journal of Cranio-maxillo-facial Surgery*, [S.d.]. v. 0, n. 0.
39. PYTYNIA, K. B.; DAHLSTROM, K. R.; STURGIS, E. M. Epidemiology of HPV-associated oropharyngeal cancer. *Oral Oncology*, 1 maio. 2014. v. 50, n. 5, p. 380–386.

## **5. CONCLUSÕES**

---

Nosso estudo confirmou a maior prevalência de carcinomas de cavidade oral e orofaringe em indivíduos do sexo masculino (78%), com média de idade de 58 anos e uma alta frequência de indivíduos tabagistas e etilistas.

A prevalência do genoma do HPV nas amostras analisadas foi de 25,6% e dentre os casos positivos, 33,3% eram o HPV16 e 14,3% apresentaram o HPV18, reforçando a associação do vírus, especialmente dos HPV de alto risco na carcinogênese da cavidade oral e orofaringe.

Nenhuma associação estatisticamente significativa foi demonstrada entre a presença do genoma do HPV e as características clinicopatológicas e sociodemográficas dos carcinomas avaliados.

Diferenças significativas entre os carcinomas positivos para o HPV16 e HPV18 também não foram demonstradas neste estudo.

## 6. REFERÊNCIAS

---

AGUIAR, M. T. M. *et al.* Clinicopathological aspects and prevalence of human papillomavirus in anal cancer. **Journal of Coloproctology**, abr. 2014. v. 34, n. 2, p. 76–82.

BARNES, L. **Pathology and Genetics of Head and Neck Tumours**. [S.l.]: IARC, 2005.

BASU, P. *et al.* Human papillomavirus genotype distribution in cervical cancer in India: results from a multi-center study. **Asian Pacific journal of cancer prevention: APJCP**, mar. 2009. v. 10, n. 1, p. 27–34.

BERGONZINI, V. *et al.* View and review on viral oncology research. **Infectious Agents and Cancer**, 24 maio. 2010. v. 5, n. 1, p. 11.

BRAGAGNOLO, A.; ELI, D.; HAAS, P. Papiloma Vírus Humano (HPV). **Rev. bras. anal. clin**, 2010. v. 42, n. 2, p. 91–96.

CASTRO, T. M. P. P. G. *et al.* HPV detection in the oral and genital mucosa of women with positive histopathological exam for genital HPV, by means of the PCR. **Revista Brasileira de Otorrinolaringologia**, abr. 2009. v. 75, n. 2, p. 167–171.

CAO, L. *et al.* The ancient function of RB-E2F Pathway: insights from its evolutionary history. **Biology Direct**, 20 set. 2010. v. 5, n. 1, p. 55.

CHATURVEDI, A. K. *et al.* Human Papillomavirus and Rising Oropharyngeal Cancer Incidence in the United States. **Journal of Clinical Oncology**, 10 nov. 2011. v. 29, n. 32, p. 4294–4301.

CHATURVEDI, A. K. Epidemiology and clinical aspects of HPV in head and neck cancers. **Head and neck pathology**, jul. 2012. v. 6 Suppl 1, p. S16–24.

D'SOUZA, G. *et al.* Differences in Oral Sexual Behaviors by Gender, Age, and Race Explain Observed Differences in Prevalence of Oral Human Papillomavirus Infection. **PLoS ONE**, 24 jan. 2014. v. 9, n. 1, p. e86023.

DEDIVITIS, R. A. *et al.* Clinic and epidemiologic characteristics in the with squamous cell carcinoma of the mouth and oropharynx. **Revista Brasileira de Otorrinolaringologia**, jan. 2004. v. 70, n. 1, p. 35–40.

DOORBAR, J. *et al.* The biology and life-cycle of human papillomaviruses. **Vaccine**, 20 nov. 2012. v. 30 Suppl 5, p. F55–70.

ELANGO, K. J. *et al.* Role of human papilloma virus in oral tongue squamous cell carcinoma. **Asian Pacific journal of cancer prevention: APJCP**, 2011. v. 12, n. 4, p. 889–896.

FERRARI, R.; BERK, A. J.; KURDISTANI, S. K. Viral manipulation of the host epigenome for oncogenic transformation. **Nature reviews. Genetics**, maio. 2009. v. 10, n. 5, p. 290–294.

FERRAZ, L. DE C.; SANTOS, A. B. R.; DISCACCIATI, M. G. Ciclo celular, HPV e evolução da neoplasia intraepitelial cervical: seleção de marcadores biológicos. **J. Health Sci. Inst**, jun. 2012. v. 30, n. 2.

GILLISON, M. L. *et al.* Evidence for a causal association between human papillomavirus and a subset of head and neck cancers. **Journal of the National Cancer Institute**, 3 maio. 2000. v. 92, n. 9, p. 709–720.

GILLISON, M. L. *et al.* Prevalence of oral HPV infection in the United States, 2009-2010. **JAMA: the journal of the American Medical Association**, 15 fev. 2012. v. 307, n. 7, p. 693–703.

GONZÁLEZ, J. V. *et al.* Human papillomavirus in oral lesions. **Medicina**, 2007. v. 67, n. 4, p. 363–368.

GRAVITT, P. E. The known unknowns of HPV natural history. **The Journal of clinical investigation**, dez. 2011. v. 121, n. 12, p. 4593–4599.

HONG, A. M. *et al.* Human papillomavirus predicts outcome in oropharyngeal cancer in patients treated primarily with surgery or radiation therapy. **British journal of cancer**, 9 nov. 2010. v. 103, n. 10, p. 1510–1517.

HUANG, S.-F. *et al.* Association of HPV infections with second primary tumors in early-staged oral cavity cancer. **Oral Diseases**, 2012. v. 18, n. 8, p. 809–815.

IARC – International Agency for Research on Cancer, [www.iarc.fr](http://www.iarc.fr), 2012.

INCA – Instituto Nacional de Câncer, [www.inca.gov.br](http://www.inca.gov.br), 2014.

ISHIBASHI, M. *et al.* The prevalence of human papillomavirus in oral premalignant lesions and squamous cell carcinoma in comparison to cervical lesions used as a positive control. **International Journal of Clinical Oncology**, 1 dez. 2011. v. 16, n. 6, p. 646–653.

KLETER B, DOORN LJV, SCHRAUWEN L, KRIMPER KV, BURGER M, HARMSEL BT, QUINT W. Novel Short-Fragment PCR Assay for Highly Sensitive Broad-Spectrum Detection of Anogenital Human Papillomaviruses. **American Journal of Pathology** 153(6): 1731-9, dez.1998.

KREIMER, A. R. *et al.* Human papillomavirus types in head and neck squamous cell carcinomas worldwide: a systematic review. PMID: 15734974: **Cancer epidemiology, biomarkers & prevention: a publication of the American Association for Cancer Research, cosponsored by the American Society of Preventive Oncology**, fev. 2005. v. 14, n. 2, p. 467–475.

LIM, K. P. *et al.* HPV infection and the alterations of the pRB pathway in oral carcinogenesis. **Oncology Reports**, 1 jun. 2007. v. 17, n. 6, p. 1321–1326.

- MONTALDO, C. *et al.* Distribution of human papillomavirus genotypes in sardinian patients with oral squamous cell carcinoma. **The open virology journal**, 2010. v. 4, p. 163–168.
- MONTORO, J. R. DE M. C. *et al.* Prognostic factors in squamous cell carcinoma of the oral cavity. **Revista Brasileira de Otorrinolaringologia**, dez. 2008. v. 74, n. 6, p. 861–866. ..
- MOTTA, R. DA R. *et al.* Ki-67 and p53 correlation prognostic value in squamous cell carcinomas of the oral cavity and tongue. **Revista brasileira de otorrinolaringologia**. Rio de Janeiro. Vol. 75, n. 4 (2009), p. 544-549.
- NGUYEN, N. P. *et al.* Human papillomavirus-associated oropharyngeal cancer: a new clinical entity. **QJM**, 16 dez. 2009. p. hcp176.
- MUÑOZ, N. *et al.* Chapter 1: HPV in the etiology of human cancer. **Vaccine**, 31 ago. 2006. v. 24 Suppl 3, p. S3/1–10.
- OLIVEIRA, L. R. *et al.* HPV infection in Brazilian oral squamous cell carcinoma patients and its correlation with clinicopathological outcomes. **Molecular medicine reports**, fev. 2008. v. 1, n. 1, p. 123–129.
- OLIVEIRA, L. R. DE; RIBEIRO-SILVA, A.; ZUCOLOTO, S. Incidence and survival profile of patients with oral squamous cell carcinoma in a Brazilian population. **J. bras. patol. med. lab**, out. 2006. v. 42, n. 5, p. 385–392. .
- OLIVIERI, E. H. R. *et al.* CYP1A2\*1C, CYP2E1\*5B, and GSTM1 polymorphisms are predictors of risk and poor outcome in head and neck squamous cell carcinoma patients. **Oral oncology**, set. 2009. v. 45, n. 9, p. e73–79.
- PALEFSKY, J. M. Human Papillomavirus-Related Disease in Men: Not Just a Women’s Issue. **Journal of Adolescent Health**, Abril. 2010. v. 46, n. 4, Supplement, p. S12–S19.
- PANNONE, G. *et al.* The role of human papillomavirus in the pathogenesis of head & neck squamous cell carcinoma: an overview. **Infectious agents and cancer**, 2011. v. 6, p. 4.
- QUINTERO, K. *et al.* Human papillomavirus types in cases of squamous cell carcinoma of head and neck in Colombia. **Brazilian journal of otorhinolaryngology**, jun. 2013. v. 79, n. 3, p. 375–381.
- RINGSTRÖM, E. *et al.* Human papillomavirus type 16 and squamous cell carcinoma of the head and neck. **Clinical cancer research: an official journal of the American Association for Cancer Research**, out. 2002. v. 8, n. 10, p. 3187–3192.
- SAINI, R. *et al.* High-risk human papillomavirus in the oral cavity of women with cervical cancer, and their children. **Virology Journal**, 16 jun. 2010. v. 7, n. 1, p. 131.

SANCHES, E. B. Prevenção do HPV: A Utilização da Vacina nos Serviços de Saúde. **Saúde e Pesquisa**, 18 maio. 2010. v. 3, n. 2.

SHIRISH SHUKLA *et al.* Infection of human papillomaviruses in cancers of different human organ sites. **Indian Journal of Medical Research**, 2009. v. 130, n. 3, p. 222–233.

SEER, Surveillance, Epidemiology, and Results Program, <http://seer.cancer.gov/>, 2012.

SIMONATO, L. E. *et al.* Detection of HPV in mouth floor squamous cell carcinoma and its correlation with clinicopathologic variables, risk factors and survival. **Journal of Oral Pathology & Medicine**, 2008. v. 37, n. 10, p. 593–598.

SINGH, M. *et al.* Association of genetic polymorphisms in glutathione S-transferases and susceptibility to head and neck cancer. **Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis**, Fevereiro. 2008. v. 638, n. 1–2, p. 184–194. .

ŠKAMPERLE, M. *et al.* Human papillomavirus (HPV) prevalence and HPV type distribution in cervical, vulvar, and anal cancers in central and eastern Europe. PMID: 23674179: **Acta dermatovenerologica Alpina, Panonica, et Adriatica**, 2013. v. 22, n. 1, p. 1–5.

SNIETURA, M. *et al.* Impact of HPV infection on the clinical outcome of p-CAIR trial in head and neck cancer. **European archives of oto-rhino-laryngology: official journal of the European Federation of Oto-Rhino-Laryngological Societies (EUFOS)**, maio. 2011. v. 268, n. 5, p. 721–726.

SYRJÄNEN, S. The role of human papillomavirus infection in head and neck cancers. PMID: 20943622: **Annals of Oncology**, 1 out. 2010. v. 21, n. suppl 7, p. vii243–vii245.

TABY, R.; ISSA, J.-P. J. Cancer Epigenetics. **CA: A Cancer Journal for Clinicians**, 2010. v. 60, n. 6, p. 376–392.

TERMINE, N. *et al.* HPV in oral squamous cell carcinoma vs head and neck squamous cell carcinoma biopsies: a meta-analysis (1988-2007). **Annals of oncology: official journal of the European Society for Medical Oncology / ESMO**, out. 2008. v. 19, n. 10, p. 1681–1690.

UPILE, T. *et al.* Oral sex, cancer and death: sexually transmitted cancers. **Head & neck oncology**, 2012. v. 4, p. 31.

WESTRA, W. H. The Changing Face of Head and Neck Cancer in the 21st Century: The Impact of HPV on the Epidemiology and Pathology of Oral Cancer. **Head and Neck Pathology**, 24 fev. 2009. v. 3, n. 1, p. 78–81.

WITTEKINDT, C. *et al.* Basics of tumor development and importance of human papilloma virus (HPV) for head and neck cancer. **GMS Current Topics in Otorhinolaryngology, Head and Neck Surgery**, 20 dez. 2012. v. 11.

ZHAO, D. *et al.* Human papillomavirus as an independent predictor in oral squamous cell cancer. **International journal of oral science**, set. 2009. v. 1, n. 3, p. 119–125.



## 7. ANEXOS

### 7.1. Anexo 1 – Ficha de coleta de dados clinicopatológicos dos carcinomas de cavidade oral e orofaringe do HAJ.

Pontifícia Universidade Católica de Goiás e Associação de Combate ao Câncer em Goiás  
 Projeto: ANÁLISE DE MARCADORES MOLECULARES E DA DISTRIBUIÇÃO  
 GENOTÍPICA DO PAPILOMAVÍRUS HUMANO (HPV) EM TUMORES DE  
 CAVIDADE ORAL E OROFARINGE.

Prontuário: \_\_\_\_\_ Data do diagnóstico: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_  
 Nome: \_\_\_\_\_ Data de nascimento: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_  
 Endereço: \_\_\_\_\_ Telefone: \_\_\_\_\_  
 Naturalidade: \_\_\_\_\_ Proficiência: \_\_\_\_\_  
 Profissão: \_\_\_\_\_  
 Sexo: (1) Masculino (2) Feminino  
 Estado civil: (1) Solteiro (2) Casado (3) Outro (4) Não informado  
 Escolaridade: (1) Fundamental (2) Ens. Médio (3) superior (4) Não informado  
 Raça/cor: (1) branco (2) Pardo (3) Negro (4) Outro \_\_\_\_\_  
 Tabagismo: (1) Sim (2) Não (3) Não informado  
 Frequência: (1) Às vezes (2) Diariamente (3) Não informado  
 Quantidade: (1) < 1 maço (2) de 1 a 3 maços (3) > 3 maços  
 Etilismo: (1) Sim (2) Não (3) Não informado  
 Frequência: (1) Às vezes (2) Diariamente (3) Não informado  
 Tipo de bebida: (1) Destilados (2) Fermentado (3) Não informado  
 Uso de drogas ilícitas (1) Sim (2) Não (3) Não informado  
 Prática sexual: (1) Sim (2) Não (3) Não informado  
 Opção sexual: (1) Homossexual (2) Heterossexual (3) Não informado  
 Nº de parceiros (1) 1 a 4 (2) mais de 4 (3) Não informado  
 Prática de sexo oral: (1) Sim (2) Não (3) Não informado  
 Histórico de DST (1) Sim (2) Não (3) Não informado  
 Infecção por HPV (1) Sim (2) Não (3) Não informado  
 Histórico de lesão oral (1) Sim (2) Não (3) Não informado  
 Antecedente câncer (1) Sim (2) Não (3) Não informado  
 Histórico familiar (1) Sim (2) Não (3) Não informado  
 Higiene oral diário (1) Sim (2) Não (3) Não informado  
 Vista dentista regular (1) Sim (2) Não (3) Não informado  
 DIAGNÓSTICO  
 Exame: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_ Resultado: \_\_\_\_\_  
 Diagnóstico por biópsia: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_ Tipo de biópsia: \_\_\_\_\_  
 Resultado: \_\_\_\_\_  
 Diagnóstico por cirurgia: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_ Resultado: \_\_\_\_\_  
 Outras informações: \_\_\_\_\_

TRATAMENTO CIRÚRGICO: (1) Sim (2) Não

TRATAMENTO RADIOTERÁPICO: (1) Radioterapia externa (2) Braquiterapia

TRATAMENTO QUIMIOTERÁPICO: (1) Sim (2) Não

ESTADIAMENTO CLÍNICO: \_\_\_\_\_

Tamanho do tumor: \_\_\_\_\_ (1) Não específico

Extensão da lesão: (1) IA (2) IB (3) IIA (4) IIB (5) IIIA (6) IIIB  
 (7) IVA (8) IVB (9) Não especificado

Comprometimento linfonodal: (1) NX (2) NO (3) N1, LN comprometidos  
 Local: \_\_\_\_\_  
 Metástase: (1) MX (2) MO (3) M1, Local: \_\_\_\_\_

EVOLUÇÃO DO PACIENTE:

(1) Viva, sem evidência de doença, último seguimento \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_.

(2) Viva, com evidência de doença, último seguimento \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_.

(3) Óbito, data \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_.

Coletado por: \_\_\_\_\_ em \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_.

DADOS ANTAMO PATOLÓGICO

Grau tumoral \_\_\_\_\_

Índice mitótico \_\_\_\_\_

Tipos de lesão, após exames histopatológicos (aspectos histológicos)

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

Levantamento da quantidade de biópsias e características das peças:

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

## 7.2. Aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa da Associação de Combate ao Câncer em Goiás (CEPAACCG)

ASSOCIAÇÃO DE COMBATE  
AO CÂNCER EM GOIÁS -



### PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

#### DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

**Título da Pesquisa:** ANÁLISE DE MARCADORES MOLECULARES E DISTRIBUIÇÃO GENOTÍPICA DO HPV EM TUMORES ASSOCIADOS AO VÍRUS

**Pesquisador:** VERA APARECIDA SADDI

**Área Temática:**

**Versão:** 1

**CAAE:** 13580613.5.0000.0031

**Instituição Proponente:** ASSOCIAÇÃO DE COMBATE AO CANCER EM GOIAS

**Patrocinador Principal:** FUNDACAO DE AMPARO A PESQUISA DO ESTADO DE GOIAS

#### DADOS DO PARECER

**Número do Parecer:** 272.288

**Data da Relatoria:** 04/04/2013

#### Apresentação do Projeto:

Trata-se de pesquisa acadêmica, fomentada pela FAPEG, visando analisar (retrospectivamente) dados de cerca de 500 prontuários de pacientes portadores de CEC de vulva, cabeça e pescoço e anus. Também visa análise de blocos de parafina para identificação de presença e tipo de HPV.

O estudo proposto é retrospectivo, analítico e visa determinar a prevalência do genoma do HPV e a distribuição genotípica do vírus em grupos de pacientes com carcinomas cervicais (200 casos), de vulva e vagina (100 casos), carcinomas anais (100 casos) e carcinomas de cavidade oral e orofaringe (100 casos). Os casos incluídos deverão ser aqueles diagnosticados no Hospital Araújo Jorge, a partir de 2005, que apresentem dados clínicos e histopatológicos satisfatórios, blocos de parafina disponíveis no Serviço de Anatomia Patológica do Hospital Araújo Jorge e seguimento mínimo de cinco anos. A seleção será feita a partir de uma busca ativa nos livros de registros dos exames realizados no Setor de Anatomia Patológica do Hospital Araújo Jorge, com os diagnósticos histopatológicos já especificados. O período de inclusão deve se iniciar a partir de 2005, até atingir o número de casos estabelecidos para cada um dos grupos. As lâminas coradas pela hematoxilina-eosina de cada exame anátomo- patológico serão revisadas e os casos selecionados de acordo com o diagnóstico histológico confirmado. Os blocos de parafina, correspondentes às lâminas revisadas, serão selecionados para as análises moleculares. A detecção e a genotipagem

**Endereço:** 239

**Bairro:** SETOR LESTE UNIVERSITARIO

**CEP:** 74.605-070

**UF:** GO

**Município:** GOIANIA

**Telefone:** (62)3243-7050

**Fax:** (62)3243-7050

**E-mail:** cepaccg@accg.org.br

do HPV serão realizadas no Laboratório de Transplante de Medula Óssea/Laboratório de Radiobiologia e Oncogenética da Associação de Combate ao Câncer em Goiás e Laboratório de Genética e Biodiversidade da PUC-Goiás. Os tipos de HPV serão classificados em baixo e alto risco oncogênico com base no padrão filogenético, conforme a classificação proposta pela The International Committee on Taxonomy of Viruses (ICTV). As análises imuno-histoquímicas serão realizadas no Laboratório de Anatomia Patológica do Hospital Araújo Jorge.

**Objetivo da Pesquisa:**

Objetivo Primário: Determinar a distribuição genotípica do HPV e as possíveis associações entre características clínico-patológicas, prognósticas e moleculares dos tumores associados ao vírus (carcinomas cervicais, de vulva, vagina, anus, cavidade oral e orofaringe).

Objetivo Secundário: - Identificar os tipos específicos de HPV detectados nos diferentes tumores associados ao vírus (carcinomas cervicais, de vulva, vagina, anus, cavidade oral e orofaringe). - Descrever os principais aspectos clínico-patológicos e prognósticos nos tumores associados ao HPV. - Avaliar a expressão imuno-histoquímica de Ki-67 e p16 nos tumores associados ao HPV. - Avaliar as possíveis associações entre os achados de detecção e genotipagem do HPV com os fatores clínico-epidemiológicos e moleculares dos tumores avaliados. - Avaliar o impacto dos diferentes genótipos do HPV no prognóstico dos pacientes com dos tumores associados ao vírus. - Produzir dados de prevalência e distribuição genotípica do HPV capazes de prever o impacto das vacinas na epidemiologia dos cânceres associados ao vírus.

**Avaliação dos Riscos e Benefícios:**

Sem riscos relevantes.

Benefícios através do conhecimento de dados de prevalência de HPV entre portadores de CEC de vulva, anus, cabeça e pescoço, podendo implementar ou mudar o uso de vacinas contra HPV

**Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:**

Trata-se de um importante projeto com potencial de elucidar lacunas científicas relevantes sobre o papel do HPV em CEC de anus, vulva e cabeça e pescoço.

**Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:**

Adequados às exigências do CEP

Aparentemente, nada faltando

Pedem dispensa do TCLE (e estou de acordo)

**Endereço:** 239

**Bairro:** SETOR LESTE UNIVERSITARIO

**CEP:** 74.605-070

**UF:** GO

**Município:** GOIANIA

**Telefone:** (62)3243-7050

**Fax:** (62)3243-7050

**E-mail:** cepaccg@accg.org.br

**Recomendações:**

Sem recomendacoes

**Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:**

Sugiro aprovacao do projeto

**Situação do Parecer:**

Aprovado

**Necessita Apreciação da CONEP:**

Não

**Considerações Finais a critério do CEP:**

Parecer do relator acatado.

Estudo aprovado.

GOIANIA, 14 de Maio de 2013

---

**Assinador por:**  
**Adriano Augusto Peclat de Paula**  
**(Coordenador)**

**Endereço:** 239

**Bairro:** SETOR LESTE UNIVERSITARIO

**CEP:** 74.605-070

**UF:** GO

**Município:** GOIANIA

**Telefone:** (62)3243-7050

**Fax:** (62)3243-7050